

Discurso de entrada á RAGC do

Prof. Dr. D. Carlos Diéguez González

## **“Máis aló do hipotálamo: unha viaxe compartida”**

Sr. Presidente da Real Academia Galega de Ciencias

Sras. y Sres. Académicos

Autoridades

Queridos Colegas,

Señoras y Señores

En primer lugar, quiero expresar mi más profundo agradecimiento a la Academia Gallega de Ciencias y a su Presidente, Profesor Juan Lema Rodicio, por proponer mi incorporación a una institución tan prestigiosa como esta. Agradecer especialmente al Profesor Manuel Freire Rama por haber aceptado hacer el "laudatio" de mi persona. Teniendo en cuenta el gran número de investigadores de prestigio que tenemos en la actualidad en Galicia, incluido el ámbito biomédico, es sin duda un acto de generosidad hacia la labor desempeñada a lo largo de muchos años por un grupo de científicos en la USC en el ámbito de la Neuroendocrinología visualizada en mi persona. Creo que todos somos conscientes de que la labor investigadora hoy en día difícilmente puede hacerse a nivel individual. Una investigación eficaz hace necesario el compartir capacidades, actitudes y una intensa dedicación de técnicos, personal en formación e investigadores senior; tanto a nivel local como a través de colaboraciones en distintos países. Es por ello, que en esta breve introducción quisiera hacer un breve resumen biográfico que me permita resaltar y agradecer distintos

hechos y personas que de alguna forma han marcado mi trayectoria profesional.

## **ASPECTOS BIOGRAFICOS.**

. Los primeros estadios de mi vida tuvieron lugar en lo que llamamos la Galicia “profunda” y más concretamente en uno de los municipios más pequeños de Galicia sito en la provincia de Ourense: San Xoán de Río. Además de ser un municipio que destaca por una de las mejores fragas de Galicia, destacó en la parte final del siglo XX por ser el municipio con más universitarios/habitante de toda Galicia. Conociendo la realidad socioeconómica del lugar y la escasez de becas y facilidades para estudiar en aquella época, el hacer bachillerato implicada la necesidad de traslado como interno a ciudades como Ourense, esto nos indica la excepcional visión y capacidad de sacrificio de la generación de padres y madres a la hora de buscar oportunidades de desarrollo para sus hijos. Sin duda esa actitud es la que a algunos nos ha permitido cumplir nuestros sueños.

**-Estudios de Medicina.** En mi caso, inicié los estudios de Medicina en el año 1973, el año del calendario “Juliano” que nos obligó a concentrar la docencia de primer curso en un único semestre de Enero a Junio. Destacar que en primer y segundo curso tuve la fortuna de tener como Profesor de las asignaturas de Biofísica, Bioquímica y Fisiología a ¡¡D. Ramón Domínguez!! Sin ánimo de desmerecer a muchos otros que tuve a lo largo de la licenciatura, mi agradecimiento a todos ellos, tales como los Profesores Andrés Beiras, Angel Concheiro, Jorge Echeverri, Camilo Gallego, Manuel Noya, Benito Regueiro, José Peña, José Luis Puente, Joaquín Potel,

Manuel Sanchez-Salorio, David Suárez etc; sin duda eso marcó en buena medida mi apego por la Fisiología

**Formación Predoctoral y Postdoctoral.** El inicio de esta fue durante los últimos dos años de la carrera en los que empecé hacer la tesina y razón por la cual me integré en el departamento de Fisiología dirigido en aquel momento por el Profesor Ramón Domínguez. Además de ser un excelente docente, el Profesor Ramón Domínguez tenía una visión innovadora a largo plazo, para lo habitual en aquella época, acerca de como debía desarrollarse el departamento. Su premisa básica era que no había nada que pueda sustituir a un investigador bien formado y bien entrenado. Por ello era un gran impulsor de enviar a todo el personal en formación, que deseara hacer carrera académica, a completar su formación en los mejores centros del mundo. Ese entorno, no muy frecuente en la universidad española en ese momento, haber disfrutado con la docencia que recibí de Fisiología en Medicina y mi deseo de hacer investigación fue el que me impulsó a unirme al departamento de Fisiología.

Tras un año de formación en el Laboratorio de hormonas del Departamento de Fisiología dirigido por Prof Jesús Devesa, surgió la posibilidad de poder hacer la tesis en Cardiff, lo cual fue posible debido al apoyo del Dr Antonio Gómez-Pan que habiendo trabajado durante varios años como endocrinólogo con el Profesor Reginal Hall facilitó mi adscripción para hacer la tesis en el que en aquel momento era posiblemente el mejor centro de investigación en Endocrinología a nivel europeo.

Esta época 1981-1987 me permitió hacer la tesis, sobre la regulación de la secreción de la tirotrópina, y la formación postdoctoral, sobre la regulación de la secreción de la Hormona

de Crecimiento. Estas dos etapas me permitieron el alcanzar una formación del más alto nivel en Neuroendocrinología que ha sido el principal tópico de investigación desde entonces. Destacar que durante estos años tuve como mentor al Prof. Maurice Scanlon el cual fue sin duda la referencia más relevante en mi formación como investigador con el que además sigo manteniendo una amistad que perdura hasta el día de hoy. Durante esos años de formación tuve un acceso prácticamente diario a su persona con invitaciones frecuentes a ir a su domicilio a discutir resultados cuando no había sido factible el encontrar un hueco para hacerlo en el laboratorio. Su labor fué además inspiradora acerca de cómo formar un Grupo de investigación y el proceso, siempre complicado, de elección en las que focalizar los esfuerzos de todos los implicados.

**Investigador Independiente.** Tras mi vuelta como Profesor Colaborador y posteriormente Profesor Titular en la USC se inició el reto de desarrollar una nueva línea de investigación básica en Neuroendocrinología. Ese inicio tuvo menos dificultades de las previstas a priori por el hecho de que mi vuelta coincidió con la llegada de otros jóvenes investigadores, como Fernando Domínguez, con el cuál compartí despacho y laboratorios durante más de 20 años y el reto de desarrollar y dotar unos laboratorios que nos permitiesen desarrollar nuestras respectivas líneas de investigación. Destacar que su formación en biología molecular permitió que nuestro Grupo, y muchos otros en la Facultad, pudiesen afrontar con ciertas garantías el reto que implicaba la incorporación de las técnicas moleculares más novedosas. Resaltar además, y especialmente, que me encontré en la USC con un investigador, Felipe Casanueva, recién incorporado al Departamento de Medicina tras varios años de formación en Italia y Canadá también en el ámbito de la Neuroendocrinología y con una trayectoria internacional consolidada. Esta colaboración fue

excepcionalmente fructífera y una demostración de la importancia de generar sinergias y sumar capacidades que permitan afrontar retos mayores que los que se pueden hacer de forma individual. Sin duda el haber coincidido ambos en el mismo lugar, y en un momento vital similar, hizo factible el sueño compartido por ambos de generar una línea de investigación en Neuroendocrinología sólida y reconocida en el entorno internacional.

A esta complementariedad y estrecha colaboración con el Grupo de Endocrinología de F.Casanueva se sumó posteriormente la de un Grupo referente en la Endocrinología pediátrica dirigido por el Prof Manuel Pombo. Esta colaboración trilateral cubriendo aspectos desde la Endocrinología básica a la Clínica tanto a nivel pediátrico como de adultos nos permitieron el generar un nodo de investigación en Endocrinología casi único en el sentido de aglutinar aspectos muy diversos, pero mutuamente enriquecedores. La generosidad y amistad de ambos hacia mi persona es algo de lo que estoy tremendamente agradecido. El hecho además de que distintos Grupos en la Facultad de Medicina/Hospital Clínico (Profesores Andrés Beiras, Tomás Garcia-Caballero y Tosalía Gallego en Histología, Angela Peñalva en Medicina, José Luis Labandeira en Ciencias Morfológicas; José Ramón Gonzalez-Juanatey y Francisca Lago en Cardiología, Juan Gómez-Reino y Oreste Gualillo en Reumatología etc) hubiesen alcanzado un desarrollo asimismo muy relevante hizo posible el generar sinergias importantes en forma de proyectos y publicaciones conjuntos. Estos hechos nos permitieron el generar unas infraestructuras de experimentación y una masa crítica que

sorprendentemente permitió que el Grupo alcanzase rápidamente un ritmo de trabajo y producción científica de forma mucho más inmediata a la esperada.

**Título del discurso: ““Más allá do hipotálamo: unha viaxe compartida”**

El título del discurso trata de llamar la atención sobre una región del sistema nervioso central, habitualmente poco conocida, pero de gran relevancia a nivel biológico y que trataré de ilustrar en este acto.

En las últimas décadas hemos asistido a un crecimiento exponencial de nuestros conocimientos sobre el hipotálamo. Estos conocimientos fueron adquiridos gracias a la labor de un gran número de investigadores trabajando en centros de investigación y Universidades de todo el mundo. Algunos de estos conocimientos han sido aportados por investigaciones llevadas a cabo en la USC por un buen número de investigadores con los que tuve la fortuna de colaborar y compartir este viaje de búsqueda de respuestas a hipótesis que fuimos planteando a lo largo del tiempo. Por problemas de tiempo y espacio es obvio que no voy a poder entrar en detalle, o incluso mencionar muchas de ellas. Simplemente las aquí serán destacadas tienen como único objetivo el trasladar ejemplos de las investigaciones llevadas a cabo en la USC en el ámbito de la Neuroendocrinología.

El hipotálamo. Es la región del encéfalo situada en la base cerebral, unida a la hipófisis por un tallo nervioso y por unos vasos porta-hipotálamo-hipofisarios además de poseer relaciones anatómicas con distintas partes del SNC. Destacar que es una región compleja estructuralmente, con distintas “regiones” que podrían generar más de 150 poblaciones neuronales diferentes.

¿Es importante el hipotálamo?. Rotundamente SI, teniendo en cuenta que trata de explicar y dar respuesta a preguntas como: ¿que procesos regulan la función gonadal y nuestra capacidad de reproducción? ¿Como se regula el proceso de crecimiento postnatal? ¿como responde nuestro organismo a situaciones de estrés?¿a que se debe que tengamos sensación de sed o de hambre y sintamos necesidad de beber o comer? ¿Como podemos adaptarnos a cambios bruscos en la temperatura ambiental?. ¿Como se regulan los ciclos sueños-vigilia y que nuestro organismo se adapte de forma adecuada al nivel de actividad que cada uno de ellos requiere?....

En la respuesta a estas preguntas siempre nos vamos a encontrar una palabra. EL HIPOTALAMO. Las razones de ello son múltiples pero hay un elemento de especial relevancia. El mantenimiento de la homeostasis corporal depende fundamentalmente de elementos de comunicación fiables y rápidos. Para ello contamos con dos grandes sistemas clásicos de comunicación : el sistema nervioso y el sistema endocrino. Ambos han de actuar obviamente de forma muy coordinada. ¿Como se consigue eso? Muy sencillo, hay un órgano formado por neuronas y que forma parte del sistema nervioso central y que además también forma parte del sistema endocrino regulando la gran mayoría de lo que llamamos ejes endocrinos. ¿Cuál es este órgano? : EL HIPOTALAMO. En otras

palabras podemos considerarlo como un hub que recibe información de todo lo que está ocurriendo en nuestro organismo y emite las órdenes oportunas para anticipar o corregir cualquier alteración, tal como se ilustra en la siguiente figura.

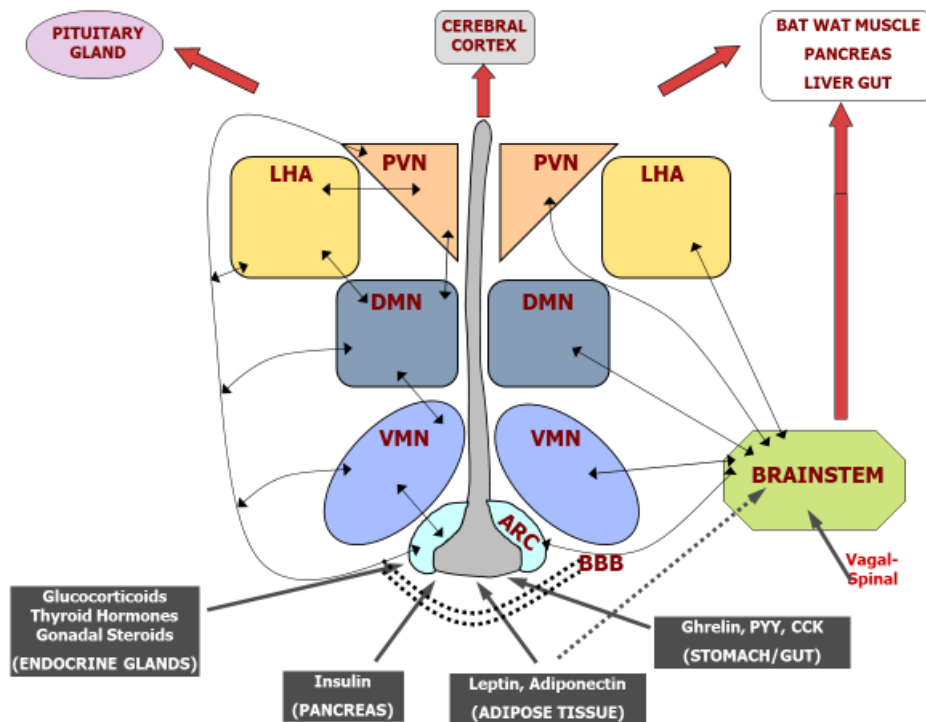


Figura 1. Se muestran distintos grupos neuronales, los llamados núcleos hipotálámicos. Se indican asimismo las interconexiones entre estos núcleos, así como la información procedente de distintas glándulas endocrinas (gonadales, tracto gastrointestinal, tejido adiposo, páncreas) así como señales eferentes que permiten al hipotálamo ejercer distintas acciones biológicas en diversos órganos y tejidos bien a través de la hipófisis o del sistema nervioso autónomo.

El trabajo llevado a cabo por multitud de laboratorios en los últimos 50 años ha permitido el encontrar respuesta a muchas de las preguntas arriba enunciadas y el diseñar diagnósticos más precisos y nuevas terapias para un sinfín de patologías. Permitanme que les muestra algunos ejemplos al respecto, que



han permitido dar respuesta a algunas de las preguntas antes enumeradas y además tener un claro componente traslacional en relación al desarrollo de nuevas terapias para una patología de excepcional relevancia como es la obesidad. En particular me foaclizaré en aquellos aspectos en los que he colaborado y/o implicado distintos miembros de la comunidad universitaria gallega. Para una mejor comprensión estos hallazgos son estructurados en distintos epígrafes.

## **CONTROL NEUROENDOCRINO DE LA SECRECION HORMONAL ADENOHIPOFISARIA.**

La existencia de un control hipotalámico de diferentes ejes neuroendocrinos es algo ampliamente conocido y conllevó la concesión, entre otros otorgados con anterioridad, del Premio Nobel a Roger Guillemin y Andrew Schally en 1977 por el descubrimiento de una serie de neuropéptidos hipotalámicos (TRH, GnRH, CRH, GHRH) que regulaban la síntesis y secreción hormonal adenohipofisaria. Una de las características del hipotálamo es que desempeña un papel clave en la regulación de distintos ejes endocrinos como son el eje hipotálamo-hipófiso-tiroideo, el eje hipotálamo-hipófiso-gonadal, el eje hipotálamo-hipófiso adrenal, el eje hormona de crecimiento (GH)-IGF-1 y la secreción de Prolactina a partir de una serie de neuronas que vierten neuropéptidos, o dopamina en el caso de la prolactina, a los vasos porta hipotálamo-hipofisarios que conectan el hipotálamo con la hipófisis . En otras palabras regula a través de estos ejes procesos biológicos tan relevantes como son el mantenimiento de la temperatura corporal (eje tiroideo), la

reproducción (eje gonadal), la respuesta al stress (eje adrenal), el crecimiento (GH), o la lactancia materna (Prolactina).

Sin embargo los mecanismos neurales que regulaban la síntesis y secreción de esos neuropéptidos aún es hoy el día en el hay aspectos muy relevantes que desconocemos. Durante las décadas de los 80-90 nuestro grupo, y muchos otros, se centraron en el papel desempeñado por diversos neurotransmisores, señales periféricas y péptidos de diverso tipo. Entre estos últimos nosotros nos interesamos por una serie de péptidos sintéticos, el más conocido el GHRP-6, que tenían la capacidad de estimular la secreción de GH en animales de experimentación (Bowers et al 1991).

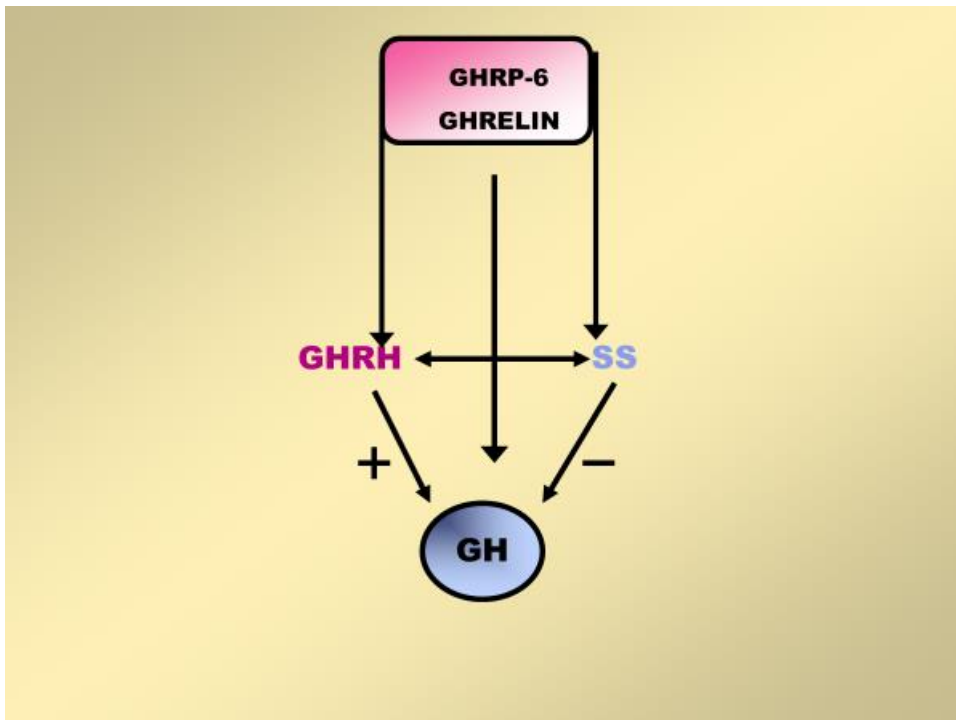


Figura 2. Mecanismo de acción del péptido sintético GHRP-6 y su homólogo endógeno ghrelina sobre la secreción de GH.

A través de estudios *in vitro* e *in vivo*, en trabajos en su mayoría co-dirigidos con el Grupo de F.Casanueva, logramos demostrar que su principal efecto *in vivo* era ejercido a nivel hipotalámico, inhibiendo la secreción de somatostatina (Mallo et al 1993), independientemente de otros efectos, ya conocidos, directamente a nivel hipofisario o hipotalámico sobre las neuronas que sintetizan y liberan el péptido liberador de hormona de crecimiento (GHRH) (ver Figura 2 y Al-Massadi et al 2017). Destacar que el efecto estimulador de estos péptidos, así como los efectos inhibidores ejercidos por somatostatina y dopamina sobre la secreción de hormona de crecimiento y prolactina respectivamente, lo observamos en distintas especies incluida la humana (Cordido et al 1993). En línea con el mecanismo postulado de inhibición de somatostatina (la cuál a su vez inhibe la GH) cuando administramos de forma combinada GHRH y GHRP-6 se observó una liberación de GH masiva, como se ve en la siguiente diapositiva.

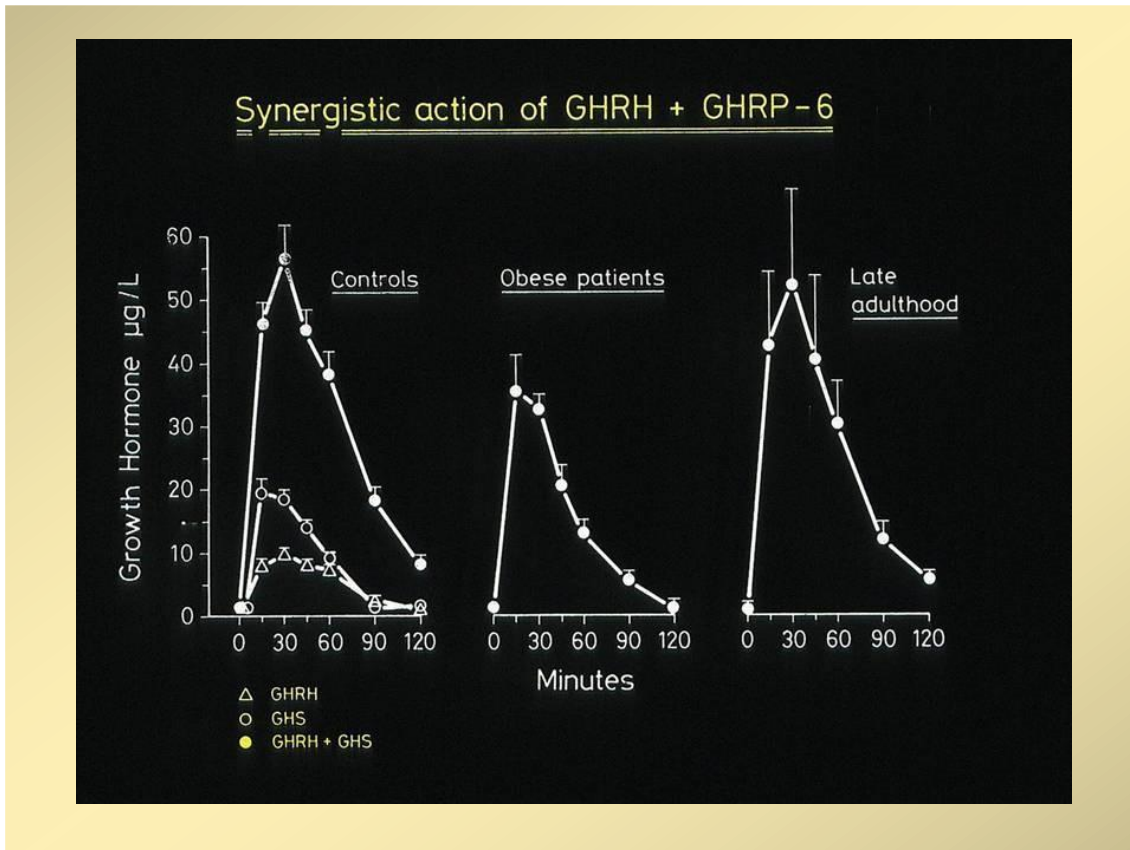


Figura 3. Se muestra el potente efecto estimulador del péptido sintético GHRP-6 (también llamado secretagogo de GH (GHS)) en combinación con el péptido GHRH sobre la secreción hormonal de GH.

Dado el potente efecto de este test sobre la secreción de GH y que incluso se pudiese observar en sujetos obesos y en envejecimiento, dos patologías que pueden dar falsos positivos de déficit de GH, decidimos llevar a cabo toda una serie de estudios en pacientes con diversas patologías, que permitieron el conocer mejor la fisiopatología de distintas enfermedades y sobre todo el generar un nuevo test de secreción de GH (basado en la administración de GHRH+GHRP-6) para el diagnóstico preciso del déficit de GH en sujetos adultos (Popovic et al 2000). Destacar que estos estudios fueron posibles gracias a la colaboración de diferentes (Virgen del Rocío-Leal Cerro; CHUAC-F.Cordido, UVigo -

F.Mallo; Torino-E.Ghigo, Belgrade-V.Popovic-D.Micic; Utrecht-H.Kopeschaar, Kaysieri-Kelestimur,Lisboa-Mota).

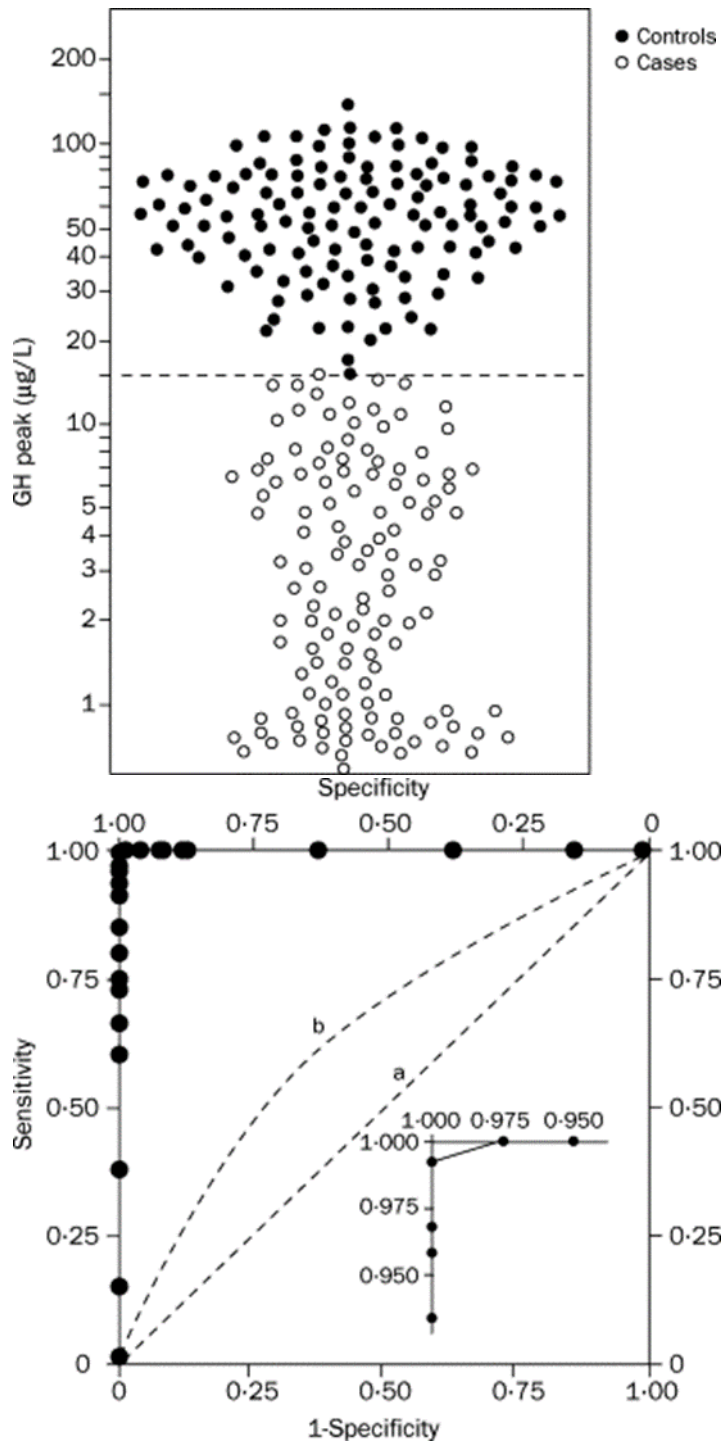


Figura 4. Utilidad diagnóstica del test de GHRH+GHRP-6 en el diagnóstico del déficit de GH en adultos. Véase como es capaz de segregar con gran especificidad y sensibilidad los sujetos normales (controles) de los pacientes (cases). (Popovic et al 2000).

Durante el desarrollo de estos estudios hubo dos hallazgos que le dieron especial relevancia a nuestros estudios. Por una parte en 1996, el Grupo dirigido por R.Smith en los laboratorios de la compañía farmacéutica Merck consiguió identificar el receptor a través del cuál estos péptidos ejercían su efecto biológico (Howard et al 1996). Este receptor GHSR1a tiene siete dominios transmembrana y está acoplado a proteínas G. Una vez conocido este receptor, en colaboración con R.Smith describimos los efectos del GHRP-6 mediados a través del este receptor sobre la expresión del gen de GH en las células somatotropas tal como se ve en la siguiente diapositiva (García et al 2001).

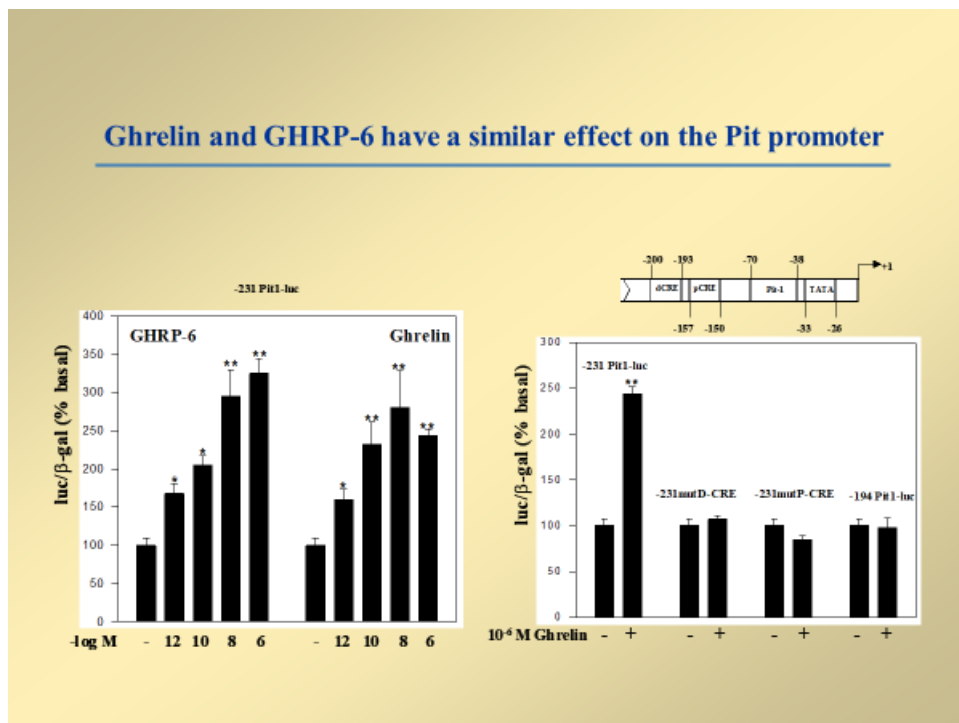


Figura 5. Efecto in vitro, en células somatotropas en cultivo, de ghrelin y GHRP-6 sobre el promotor del factor de transcripción Pit-

1 el cuál juega un papel esencial sobre la expresión del gen de GH y por tanto de su síntesis. (García et al 2001)

El otro hallazgo de gran interés vino dado por la identificación del péptido endógeno que se unía al receptor GHR1a identificado por R.Smith. Este péptido se le bautizó como ghrelina (Kojima et al 1999). Esta hormona está formada por 28 aminoácidos y presenta un grupo n-octanoil en la serina número 3 que es imprescindible para su actividad. Estudios llevados a cabo por distintos grupos, incluido el nuestro, demostraron que tanto la Ghrelina como su receptor están altamente expresados en múltiples regiones del cerebro como el hipotálamo y la hipófisis, además de en tejidos periféricos como el estómago, intestino delgado, glándulas adrenales, riñones, pulmones, corazón, placenta, ovarios y testículos e islotes pancreáticos (ver revisión Gualillo et al 2003, Muller et al 2015, Al-Massadi et al 2017) .

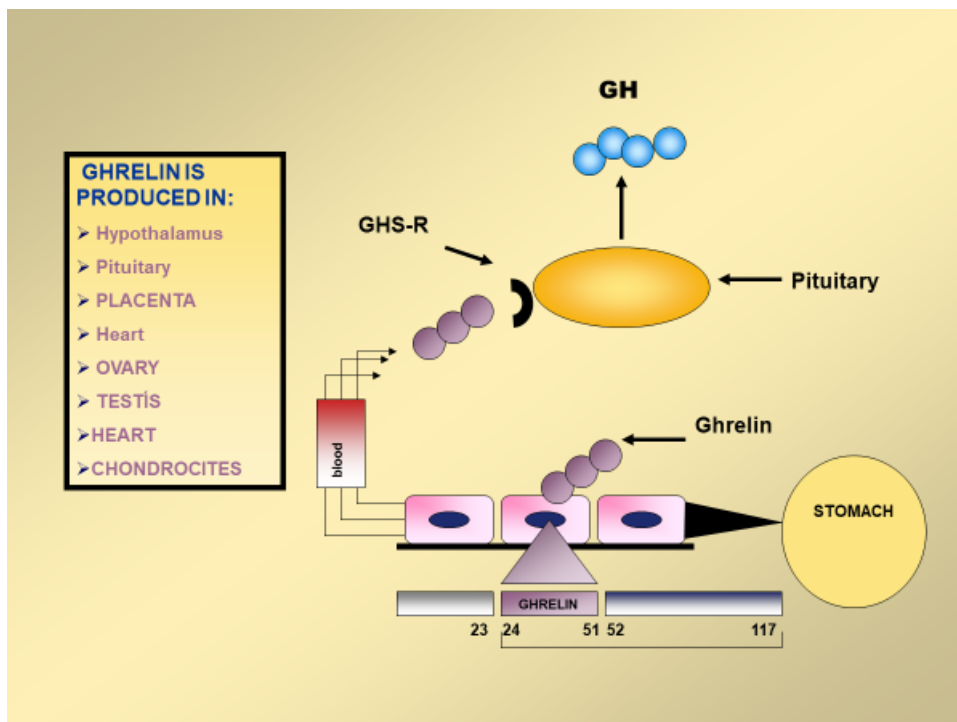


Figura 6. Principales tejidos de síntesis de ghrelina. Se destaca entre todos ellos el estómago del que procede la gran mayoría del ghrelina circulante. (ver revisión en Gualillo et al 2003).

Esta hormona, ghrelina, fue descubierta en base a su efecto estimulador de la secreción de GH tanto in vivo como in vitro. Su efecto in vivo es mediado a través de distintos mecanismos que incluyen el efecto estimulador sobre las neuronas productoras de GHRH, inhibición de las de somatostatina y un efecto directo sobre la célula somatotropa de forma similar a la descrita previamente por nosotros con GHRP-6 (ver Figura 5).

Posteriormente se demostró que además de favorecer la secreción de GH, Ghrelina también regula el metabolismo energético al aumentar la ingesta de alimento y adiposidad. Este hallazgo fue de gran relevancia dado que su efecto orexigénico era el mayor de todos los descritos hasta la fecha. Ello unido al descubrimiento de la leptina como hormona anorexigénica hizo que se desarrollase el concepto de que la sensación de hambre-saciedad estaba ligada al cociente ghrelina/leptina (Muller et al 2015). En cualquier caso, uno de los muchos retos que se planteó con el descubrimiento de la ghrelina fue el caracterizar el mecanismo a través del cuál ejerce su efecto orexigénico. Nuestros primeros hallazgos, junto con los de otros grupos, pusieron de manifiesto que era mediado a nivel de neuronas del núcleo arcuato incrementando la expresión de AgRP y NPY (Seoane et al 2003). Este efecto estaba mediado por diversos factores de transcripción como FOXO1, CREB o BSX. Sin embargo la caracterización de todas las vías de señalización demostró que es mucha más compleja tal como se muestra en la Figura 7.



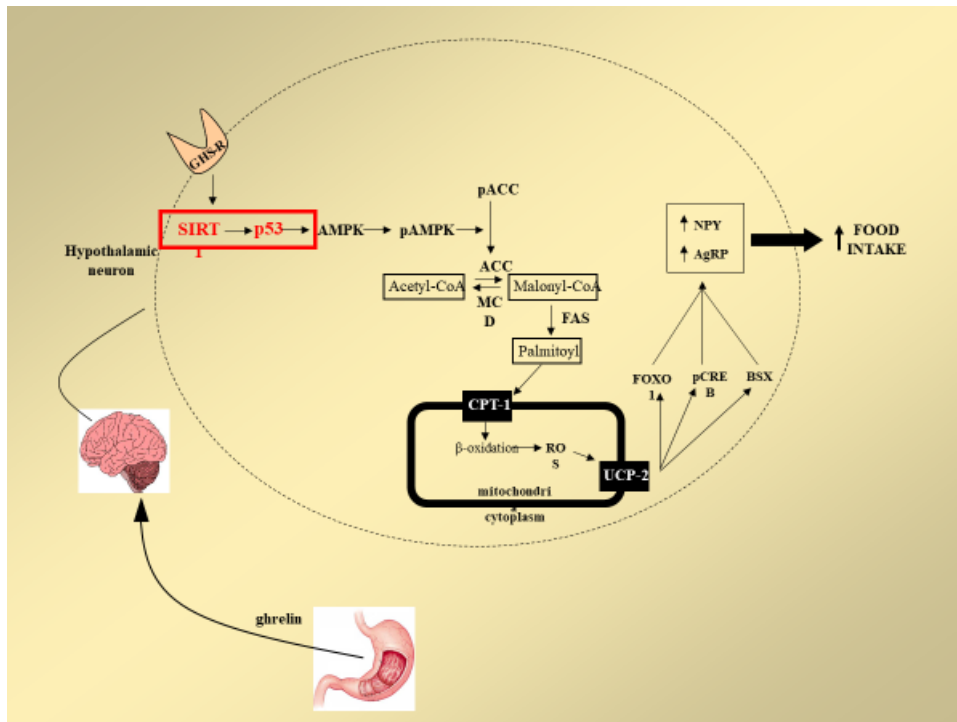
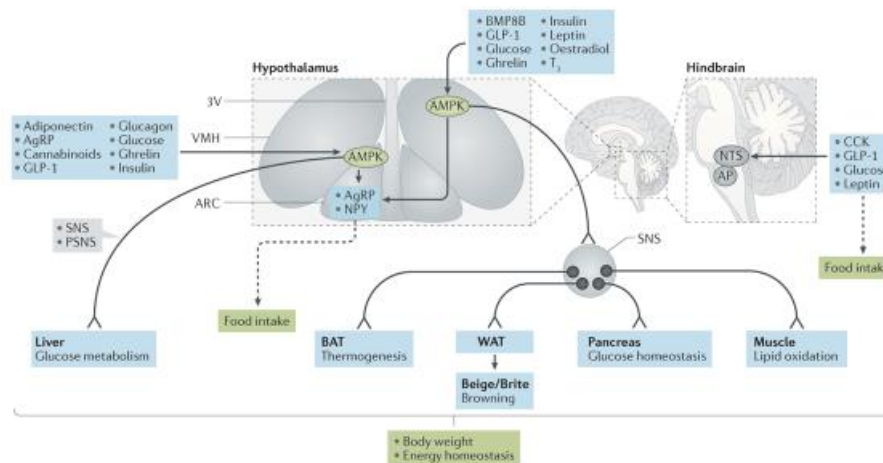


Figura 7. Vía de señalización a través de la cuál ghrelina ejerce su efecto orexigénico. (ver López et al 2008, Velasquez et al 2011, Al-Massadi et al 2017).

El papel arriba descrito para AMPK como mediador de los efectos de ghrelina (López et al 2008) fue de gran interés ya que estudios posteriores liderados por M.López, con financiación de una ERC-StG, pusieron de manifiesto que este sensor energético media los efectos de multitud de señales centrales y periféricas ( hormonas tiroideas, estrógenos, BMP8b etc) sobre la homeostasis energética (ver Figura 8, Martínez-Sanchez et al 2010, López et al 2016). Estudios posteriores han puesto de manifiesto que AMPK expresada en neuronas SF-1 del hipotálamo influyen el peso corporal a través de un incremento en el gasto energético. Este hecho tiene además implicaciones traslacionales relevantes al haber desarrollado una estrategia para poder silenciar AMPK en estas neuronas y con ello prevenir/revertir el desarrollo de obesidad en ratones como se mostrará posteriormente. Esta línea de investigación ha consolidado al Grupo de Neurobesity como un

referente internacional en sensores energéticos y en homeostasis energética.

### AMPK (VMH)-SNS-BAT axis: a canonical pathway



López M et al (2016). Nat Rev Endocrinol

Figura 8. Papel de la AMPK en el hipotálamo sobre la homeostasis energética y metabólica. (ver revisión en López et al 2016).

De forma paralela, en una serie de trabajos liderados por R.Nogueiras, asimismo financiado por un proyecto del ERC-StG, su grupo caracterizó el papel de p53, una proteína clásicamente considerada un supresor tumoral, como mecanismo de señalización neuronal implicado en la homeostasis energética y metabólica. El silenciamiento de p53 en grupos neuronales específicos provocaba el desarrollo de obesidad mientras que su activación hacía el efecto contrario (Quiñones et al 2018). En estudios posteriores demostró que p53 juega un papel clave en la homeostasis de la glucosa al ser imprescindible para una adecuada respuesta contrarreguladora (González-Rellán et al 2021). Además, se encontró que la deficiencia de p53 incrementa los depósitos de lípidos en el hígado; mientras que la activación de

p53 y la inhibición de p63, y más concretamente una isoforma específica llamada TAp63, reducen la acumulación de grasa en el hígado de modelos animales con esteatosis, dado que disminuye la síntesis de los lípidos (Porteiro et al 2017, González-Rellán et al 2023). Además, estos estudios demostraron que el metabolismo lipídico a nivel adipocitario y a nivel hepático depende en gran manera de mecanismos hipotalámicos. Un ejemplo especialmente relevante a este respecto fueron los estudios llevados a cabo en relación con el control hipotalámico ejercido por la MCH (Imbernon et al 2013) , ver figura, así como por otras señales como, ghrelin, o GLP-1 (Velasques et al 2011,Beiroa et al 2014) .

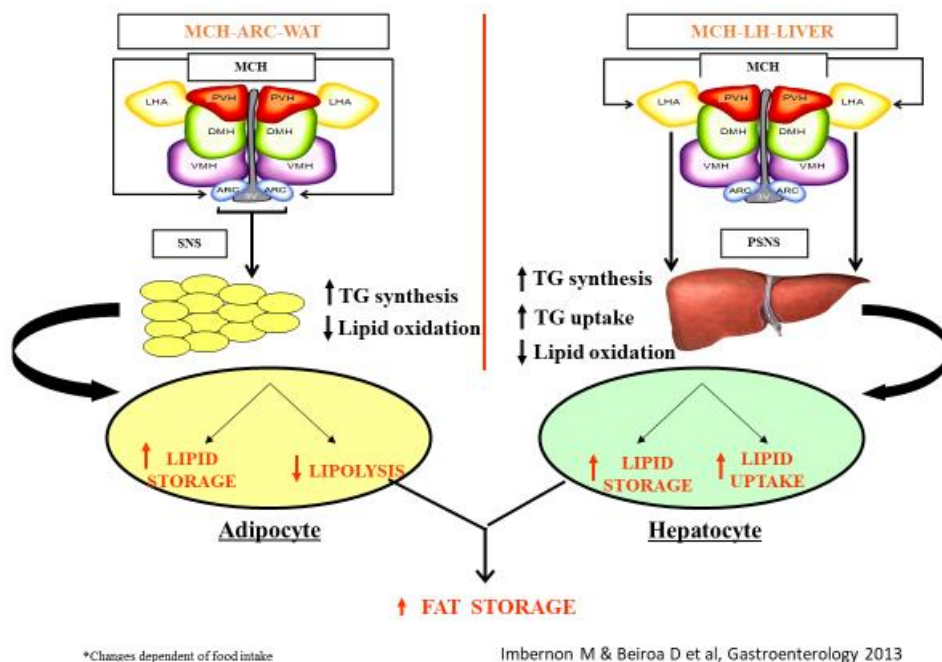


Figura 9. Control hipotalámico ejercido por la MCH (melanin-concentrating hormone) sobre el metabolismo lipídico en adipocitos por el sistema nervioso simpático (SNS) y sobre el hígado por el parasimpático (PSNS). Ver detalles en Imbernon et al 2013.

Esta serie de hallazgos han permitido consolidar una línea de investigación, relacionados con obesidad y enfermedad hepática de gran interés traslacional y reconocida asimismo nivel internacional por el Grupo de Molecular Metabolism liderado por R.Nogueiras.

#### LEPTINA Y CONTROL NEUROENDOCRINO.

En paralelo a los estudios de GHP-6 y ghrelina, nuestro grupo estuvo focalizado asimismo en el estudio de las acciones neuroendocrinas de leptina. El descubrimiento de esta hormona adipocitaria en 1994 permitió el conocer la base genética responsable de la obesidad del ratón ob/ob ( Zhang et al 2004). El gen ob/ob, mutado en estos ratones, codifica una proteína de 167 aminoácidos, que se sintetiza principalmente en el tejido adiposo y cuyo papel principal es informar al hipotálamo de las reservas energéticas almacenadas en forma de lípidos en el tejido adiposo. De hecho la forma más activa del receptor de leptina, Ob-Rb, se expresa de forma muy intensa en el hipotálamo (Tartaglia et al 1995). Con su descubrimiento se pensó que teníamos la cura para la obesidad, pero esto solo ocurre en porcentaje muy pequeño de pacientes obesos cuya obesidad es debida precisamente a alteraciones genéticas en el gen que codifica esta proteína (Clement et al 1998, Coll et al 2007). Nuestro principal foco de interés en relación al leptina fue el estudiar sus efectos neuroendocrinos sobre los distintos ejes adenohipofisarios. La razón de este interés era que conocíamos que la función hormonal adenohipofisaria es muy dependiente del estado nutricional. Esto quiere decir que en situaciones de ayuno trataremos de ahorrar energía y para ello “bloquearemos” aquellas actividades biológicas que consumen más energía como pueden ser la reproducción, el desarrollo de un feto viable implica unas necesidades energéticas muy altas, el crecimiento, el

mantenimiento de la temperatura corporal etc. Como estas acciones biológicas están ligadas a la actividad de distintos ejes neuroendocrinos (Licinio et al 1997, Carro et al 1997), quisimos conocer si su adaptación funcional estaba mediada por leptina .

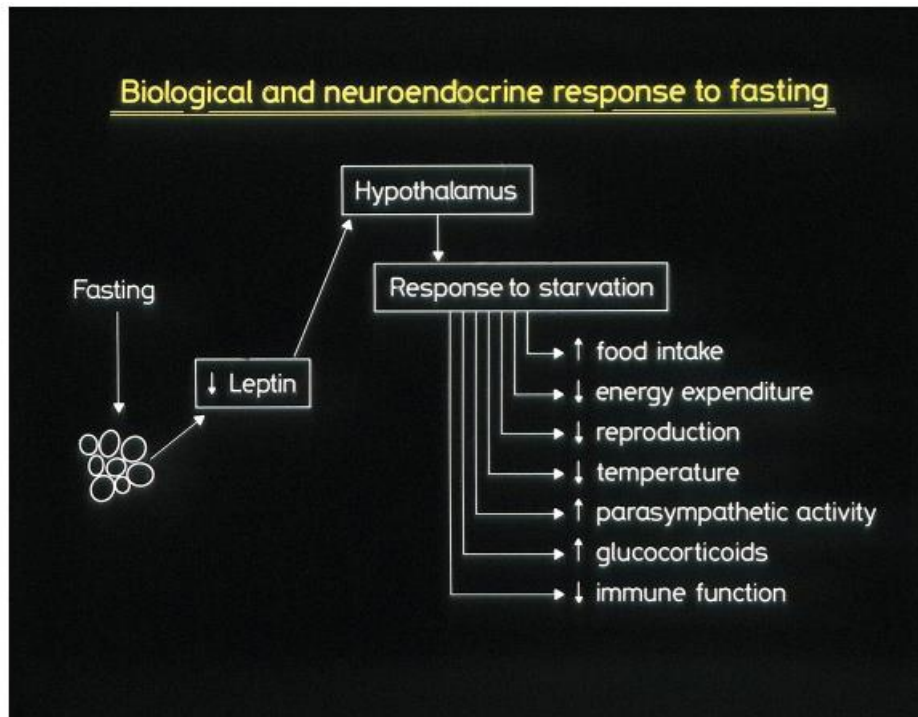


Figura 10. Se muestra como la leptina secretada por los adipocitos actúa a nivel hipotalámico para modular el nivel de actividad de distintos mecanismos homeostáticos.(ver revisión en Casanueva & Dieguez 1999).

Nuestros datos mostraron que la actividad del eje hipotálamo-hipófiso ovárico es muy sensible a leptina. Como se ve en la Figura 11 el silenciamiento de la acción de la leptina a nivel hipotalámico, mediante anticuerpos antileptina, es capaz de bloquear completamente la secreción de la hormona adenohipofisaria LH (hormona luteinizante) el ciclo estral en ratas (Carro et al 1997). Estos estudios, así como otros posteriores, llevados a cabo en colaboración con el Grupo de Enrique Aguilar y Manuel Tena-Sempere en la Universidad de Córdoba, demostraron que los

efectos hipotalámicos de la leptina son cruciales en el desarrollo de la pubertad (Manfredi-Lozano et al 2016).

## Leptin, LH, Estrous cycle

Bloqueo de la leptina a nivel hipotalámico conlleva silenciamiento del eje hipotálamo - gonadal y falta de ciclo estral en roedores.

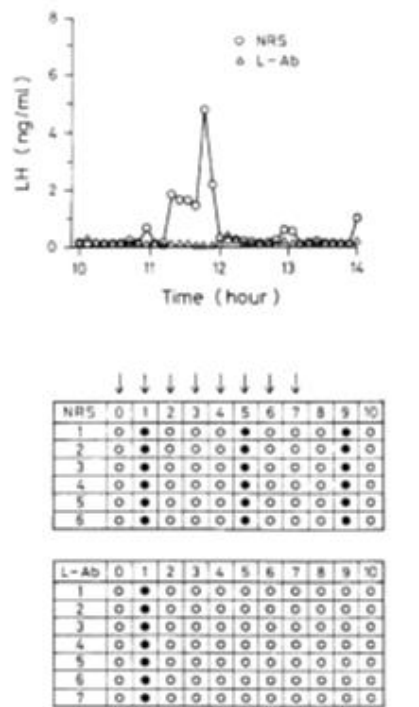


Figura 11. Efectos de la leptina sobre niveles circulantes de LH (parte superior) y el ciclo estral en ratas (parte inferior). Ver detalles en Carro et al 1997.

Datos similares a los anteriores los obtuvimos en relación a la secreción de TSH. Así observamos que la disminución en la secreción de TSH en el ayuno, con el objetivo de disminuir secreción de hormonas tiroideas las cuáles son calorigénicas y por tanto estimulan gasto energético, es revertida tras administración de leptina. En otras palabras, la leptina es la responsable de informar al hipotálamo de la necesidad de ahorrar energía. (Seoane et al 2000)

## Leptina y secreción de TSH

En animales normales (euthyroid) la secreción de TSH disminuye de forma drástica con el ayuno (fast). Sin embargo si a estos animales en ayuno le administramos leptina (leptin fast) vuelven a secretar TSH

Esta regulación, estimulación por leptina en animales en ayuno no se ve en animales hipotiroideos .

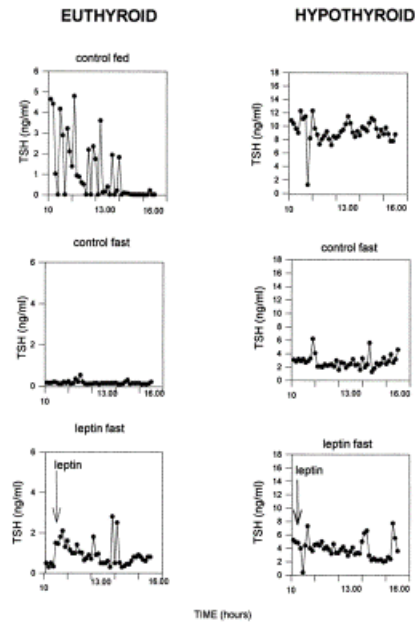


Figura 12. Efecto de la leptina sobre los niveles de TSH en animales eutiroides (panel izquierdo) e hipotiroideos (panel derecho). (Seoane et al 2000)

De forma similar, vimos que la leptina desempeña un papel clave sobre la hormona de crecimiento (GH) en relación a los cambios en su secreción en función del estado nutricional (Carro et al 1997). Tal como se ve en la Figura 13, mientras que el ayuno frena la secreción de GH esta falta de secreción puede ser revertida completamente tras administración hipotalámica de leptina. En estudios posteriores caracterizamos los mecanismos implicados (Carro et 1999) así como los niveles de leptina en relación a distintas patologías endocrinas (Casanueva et al 1999, Pombo et al 1997).

### Leptina y secreción de Hormona de Crecimiento (GH)

La secreción espontánea de GH en condiciones nutricionales normales (dieta ad libitum) desaparece tras el silenciamiento (mediante anticuerpos anti-leptina; Leptin-Ab) de la señalización de leptina a nivel hipotalámico.

En situaciones de ayuno en roedores la secreción espontánea de GH se inhibe de forma casi total.

Sin embargo, aún en presencia de ayuno, si a los animales les inyectamos leptina se revierte el silenciamiento de la secreción de GH.

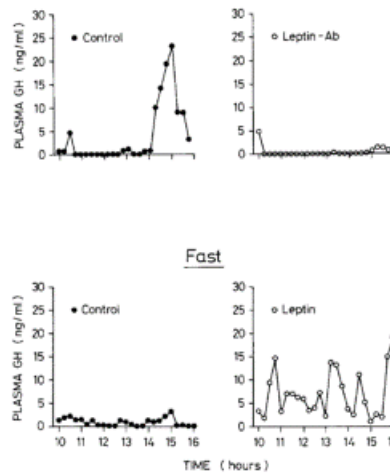


Figura 13. Secreción de GH en animales alimentados ad libitum (panel superior) y ayuno (panel inferior).

### IMPLICACIONES TRASLACIONALES SOBRE EL HIPOTALAMO COMO DIANA FARMACOLOGICA EN LA OBESIDAD.

Es bien conocido que el mantenimiento del peso corporal es debido a grandes rasgos, una vez descartadas alteraciones a nivel de absorción de nutrientes o exceso de pérdida de sustratos metabólicos por distintas patologías, a un equilibrio entre ingesta y gasto energético. La ingesta está basada un componente homeostático y un componente hedónico ligado al efecto de recompensa ejercido por distintos nutrientes. Ambos procesos están regulados por distintos grupos neuronales en el sistema nervioso central. El componente de gasto energético tiene varios aspectos que incluyen desde el metabolismo basal hasta mantenimiento de la temperatura o el relacionado con el ejercicio tanto voluntario como no voluntario.



Durante las últimas décadas hemos asistido a un gran incremento en el desarrollo de sobrepeso y obesidad a nivel mundial. Aunque hay cierto componente genético en su desarrollo, en gran medida es debido a un exceso de ingesta, de alimentos de gran contenido energético, y al sedentarismo; por causas muy variadas incluidos factores socioeconómicos. Debido al impacto negativo que la obesidad provoca sobre la salud del individuo, ha habido un gran esfuerzo en encontrar terapias eficaces. Sin embargo hasta muy reciente el único tratamiento realmente eficaz para un buen número de pacientes era la cirugía bariátrica, algo que llama la atención en pleno siglo XXI que se supone es la era de la Medicina Molecular.

Basados en la investigación llevada a cabo en investigación básica y modelos preclínicos en los últimos años estamos asistiendo al desarrollo de gran número de fármacos, algunos todavía no disponibles en la clínica, con eficacias en algunos casos similares a la de la cirugía bariátrica (Nogueiras et al 2023). La gran mayoría están basados en una molécula el GLP-1 desarrollada para el tratamiento de la diabetes dado su efecto insulínico pero que además es capaz de disminuir el peso corporal. ¿Cómo y dónde actúan los agonistas del receptor de GLP-1? . La respuesta a esta pregunta es sencilla: **en el hipotálamo**

## Brain GLP-1 increases energy expenditure

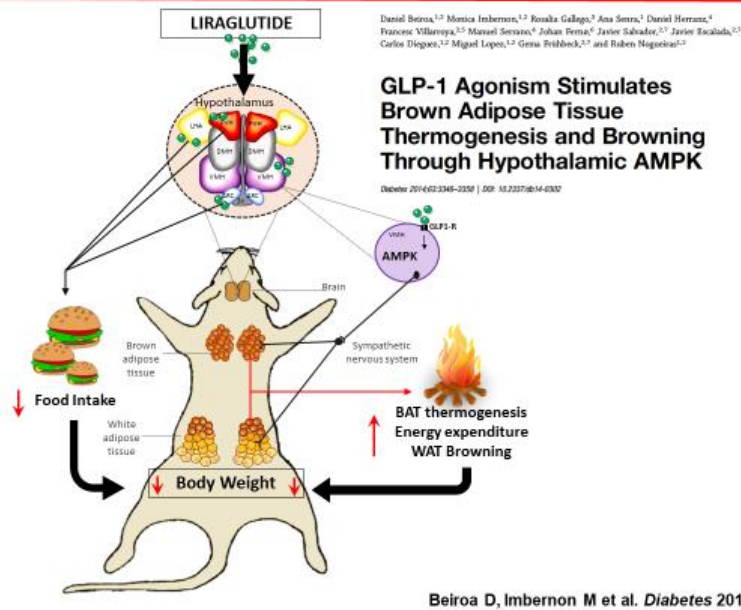


Figura 14. En base a estudios en modelos preclínicos se observó que la administración de un agonista de GLP-1, la liraglutide, actuando en receptores hipotalámicos, disminuye la ingesta e incrementa el gasto energético (ver Beiroa et al 2014)

Tal como se muestra en la figura 14, los agonistas de GLP-1, en modelos preclínicos, ejercen un efecto dual: ingesta y gasto energético. Este último tiene varios componentes: un aumento de la actividad del tejido adiposo marrón (BAT en la figura) y un aumento del “amarronamiento” (browning en la figura) del tejido adiposo blanco.

El éxito de estos tratamientos basados en análogos de GLP-1, así como inhibidores de la degradación de GLP-1 endógeno, está siendo rápidamente sobrepasado por la mayor eficacia de los llamados agonistas duales o de los triagonistas. Estos nuevos fármacos se desarrollaron como moléculas únicas capaces de actuar con alta afinidad sobre distintos receptores (nogueiras et al 2023). Esto incluye moléculas basadas en actuar simultáneamente sobre los receptores de GLP-1 y de GIP, o bien de GLP-1 y glucagón. Entre los triagonistas es de destacar uno que se une a los tres receptores antes citados GLP-1, GIP y glucagón. Algunos de ellos

son tan potentes que no sólo son capaces de revertir la obesidad sino que además los datos preliminares existentes indican que son capaces de mejorar co-morbilidades ligadas a alteraciones hepáticas, cardiovasculares etc, tal como se puede ver en la figura 15.

## Unimolecular Co-agonist Drugs (Nogueiras et al. Nat Metabol 2023)

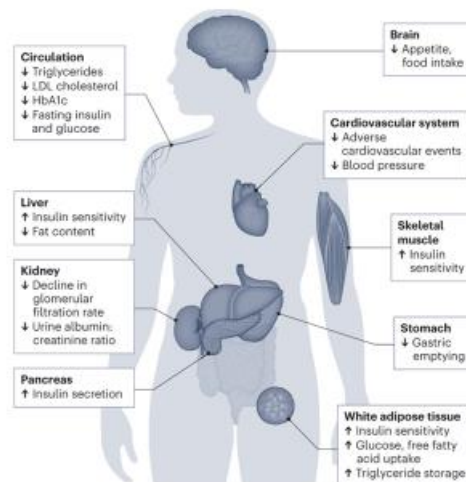


Figura 15. Mecanismo de acción y efectos de los nuevos fármacos antiobesidad (Nogueiras et al 2023).

Por último, dentro de las nuevas estrategias que se están llevando a cabo me gustaría destacar una muy reciente desarrollada en la USC por el Grupo de Neuroobesidad de M.López y centrada en la utilización de AMPK en neuronas SF-1 del hipotálamo como dianas farmacológicas. Ello implicó el desarrollo de una estrategia altamente sofisticada basada en la utilización de exosomas como portadores de un dominante negativo de una de las isoformas de AMPK y que sólo actuaba sobre las neuronas SF-1. Esta estrategia se demostró que posibilitaba incluso el tratamiento de la obesidad de ratones con mutación del gen del receptor de leptina que no

sólo desarrollan una obesidad muy pronunciada y que además suele ser insensible a otras estrategias terapéuticas. (Millbank et al 2021 y 2023). Destacar además que su efecto beneficioso se alcanza exclusivamente por aumentar gasto energético sin necesidad de disminuir ingesta.

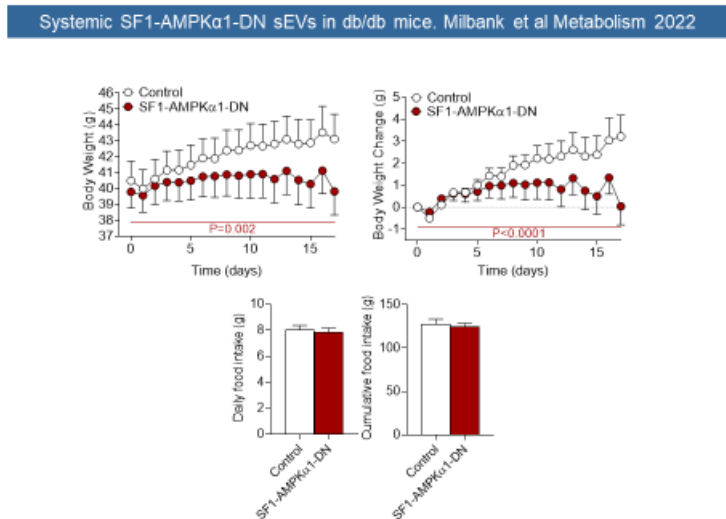


Figura 16. Efecto del silenciamiento génico de AMPK en neuronas SF1 del hipotálamo ventromedial sobre el peso corporal en ratones db/db que tienen obesidad genética debido a una alteración en el gen del receptor de leptina. (Millbank et al 2023).

## CONCLUSIONES.

La investigación básica llevada a cabo a lo largo de los años y centrada en el hipotálamo ha generado un salto gigantesco en nuestro conocimiento de los mecanismos homeostáticos relacionados con la regulación de los procesos biológicos más relevantes. Aunque durante muchos años se consideró escasamente atractivo el desarrollo de nuevas terapias que tuviesen como blanco el hipotálamo esta visión esta cambiando de forma muy veloz. Los estudios llevados a cabo por un gran

número de laboratorios en el campo de la homeostasis energética y metabólica se han traducido recientemente en nuevas terapias que han dado esperanza a los cientos de millones de pacientes que sufren obesidad. Esta patología se considera la responsable de la muerte de unos tres millones de personas al año y hasta muy recientemente no había terapias farmacológicas eficaces. Afortunadamente ya tenemos algunas bastante eficaces en la clínica y varias con eficacias a la cirugía gástrica están llegando a la clínica. ¿La característica común de todas ellas? Que actúan en el HIPOTALAMO

## **REFERENCIAS.**

Al Massadi, O., Lopez, M., Tschop, M., Dieguez, C., Nogueiras, R.. Current Understanding of the Hypothalamic Ghrelin Pathways Inducing Appetite and Adiposity. Trends Neurosci, 2017, 40, 167-180

Beiroa D, Imbernon M, Gallego R, Senra A, Herranz D, Villarroya F, Serrano M, Fernø J, Salvador J, Escalada J, Dieguez C, Lopez M, Frühbeck G, Nogueiras R. . GLP-1 agonism stimulates brown adipose tissue thermogenesis and browning through hypothalamic AMPK. Diabetes. 2014;63(10):3346-58

Bowers CY, Sartor AO, Reynolds GA, Badger TM. On the actions of the growth hormone-releasing hexapeptide GHRP. Enocrinology 1991, 128:2027-2035.

Carro E, Pinilla L, Seoane LM, Considine RV, Aguilar E, Casanueva FF, Dieguez C. Influence of endogenous leptin tone on the estrous cycle and luteinizing hormone pulsatility in female rats. Neuroendocrinology 1997; 66: 375–377.

Carro E, Senaris R, Considine RV, Casanueva FF, Dieguez C. Regulation of in vivo growth hormone secretion by leptin. *Endocrinology* 1997; 138: 2203–2206.

Carro E, Senaris RM, Seoane LM, Frohman LA, Arimura A, Casanueva FF, Dieguez C. Role of growth hormone (GH)-releasing hormone and somatostatin on leptin-induced GH secretion. *Neuroendocrinology* 1999; 69: 13–10.

Carro E, Seoane LM, Senaris R, Considine RV, Casanueva FF, Dieguez C. Interaction between leptin and neuropeptide Y on in vivo growth hormone secretion. *Neuroendocrinology* 1998; 68:187-191.

Casanueva FF, Dieguez C. Neuroendocrine regulation and actions of leptin. *Front Neuroendocrinol.* 1999 Oct;20(4):317-63.

Clement K, Vaisse C, Lahlou N, Cabrol S, Pelloux V, Cassuto D, Gourmelen M, Dina C, Chambaz J, Lacorte JM, Basdevant A, Bougneres P, Lebouc Y, Froguel P, Guy Grand B. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature* 1998; 392: 398–401.

Coll AP, Farooqi IS, O'Rahilly S. The hormonal control of food intake. *Cell.* 2007;129(2):251-62.

Cordido F, Peñalva A, Dieguez C, Casanueva FF. Massive growth hormone discharge in obese subjects after the combined administration of growth hormone releasing hormone and GHRP-6: evidence for a marked somatotroph secretory capability in obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76:819-825

García A, Alvarez CV, Smith RG, Diéguez C. Regulation of Pit-1 expression by ghrelin and GHRP-6 through the GH secretagogue receptor. *Mol Endocrinol.* 2001 Sep;15(9):1484-95

Gonzalez-Rellan MJ, Novoa E, da Silva Lima N, Rodriguez A, Veyrat-Durebex C, Seoane S, Porteiro B, Fondevila MF, Fernandez U,

Varela-Rey M, Senra A, Iglesias C, Escudero A, Fidalgo M, Guallar D, Perez-Fernandez R, Prevot V, Schwaninger M, López M, Dieguez C, Coppari R, Frühbeck G, Nogueiras R. Hepatic p63 regulates glucose metabolism by repressing SIRT1. *Gut*. 2023 Mar;72(3):472-483. doi: 10.1136/gutjnl-2021-326620. Epub 2022 May 17.

Gonzalez-Rellan MJ, Fondevila MF, Fernandez U, Rodríguez A, Varela-Rey M, Veyrat-Durebex C, Seoane S, Bernardo G, Lopitz-Otsoa F, Fernández-Ramos D, Bilbao J, Iglesias C, Novoa E, Ameneiro C, Senra A, Beiroa D, Cuñarro J, Dp Chantada-Vazquez M, Garcia-Vence M, Bravo SB, Da Silva Lima N, Porteiro B, Carneiro C, Vidal A, Tovar S, Müller TD, Ferno J, Guallar D, Fidalgo M, Sabio G, Herzig S, Yang WH, Cho JW, Martinez-Chantar ML, Perez-Fernandez R, López M, Dieguez C, Mato JM, Millet O, Coppari R, Woodhoo A, Fruhbeck G, Nogueiras R. O-GlcNAcylated p53 in the liver modulates hepatic glucose production. *Nat Commun*. 2021 Aug 20;12(1):5068

Gualillo O, Lago F, Gómez-Reino J, Casanueva FF, Dieguez C. Ghrelin, a widespread hormone: insights into molecular and cellular regulation of its expression and mechanism of action. *FEBS Lett*. 2003 Sep 25;552(2-3):105-9.

A D Howard 1, S D Feighner, D F Cully, J P Arena, P A Liberator, C I Rosenblum, M Hamelin, D L Hreniuk, O C Palyha, J Anderson, P S Paress, C Diaz, M Chou, K K Liu, K K McKee, S S Pong, L Y Chaung, A Elbrecht, M Dashkevich, R Heavens, M Rigby, D J Sirinathsinghji, D C Dean, D G Melillo, A A Patchett, R Nargund, P R Griffin, J A DeMartino, S K Gupta, J M Schaeffer, R G Smith, L H Van der Ploeg. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* . 1996 Aug 16;273(5277):974-7

Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*. 1999 Dec 9;402(6762):656-60.

Licinio J, Mantzoros C, Negrao AB, Cizza G, Wong ML, Bongiorno PB, Chrousos GP, Karp B, Allen C, Flier JS, Gold PW. Human leptin levels are pulsatile and inversely related to pituitary-adrenal function. *Nat Med* 1997; 3: 575–579

López M, Lage R, Saha AK, Pérez-Tilve D, Vázquez MJ, Varela L, Sangiao-Alvarellos S, Tovar S, Raghay K, Rodríguez-Cuenca S, Deoliveira RM, Castañeda T, Datta R, Dong JZ, Culler M, Sleeman MW, Alvarez CV, Gallego R, Lelliott CJ, Carling D, Tschöp MH, Diéguez C, Vidal-Puig A. Hypothalamic fatty acid metabolism mediates the orexigenic action of ghrelin. *Cell Metab*. 2008 , 7(5):389-99.

López M, Varela L, Vázquez MJ, Rodríguez-Cuenca S, González CR, Velagapudi VR, Morgan DA, Schoenmakers E, Agassandian K, Lage R, Martínez de Morentin PB, Tovar S, Nogueiras R, Carling D, Lelliott C, Gallego R, Oresic M, Chatterjee K, Saha AK, Rahmouni K, Diéguez C, Vidal-Puig A. Hypothalamic AMPK and fatty acid metabolism mediate thyroid regulation of energy balance. *Nat Med*. 2010 :1001-85):389-99

López M, Nogueiras R, Tena-Sempere M, Diéguez C. Hypothalamic AMPK: a canonical regulator of whole-body energy balance. *Nat Rev Endocrinol*. 2016 Jul;12(7):421-32.

Mallo F, Alvarez CV, Benitez L, Burguera B, Coya R, Casanueva FF, Dieguez C. Regulation of His-dTrp-Ala-Trp-dPhe-Lys-NH<sub>2</sub> (GHRP-6)-induced GH secretion in the rat. *Neuroendocrinology*. 1993;57(2):247-5

Manfredi-Lozano M, Roa J, Ruiz-Pino F, Piet R, Garcia-Galiano D, Pineda R, Zamora A, Leon S, Sanchez-Garrido MA, Romero-Ruiz A, Dieguez C, Vazquez MJ, Herbison AE, Pinilla L, Tena-Sempere M.



Defining a novel leptin-melanocortin-kisspeptin pathway involved in the metabolic control of puberty. *Mol Metab.* 2016 Aug 11;5(10):844-857

Martínez-Sánchez N, Seoane-Collazo P, Contreras C, Varela L, Villarroya J, Rial-Pensado E, Buqué X, Aurrekoetxea I, Delgado TC, Vázquez-Martínez R, González-García I, Roa J, Whittle AJ, Gomez-Santos B, Velagapudi V, Tung YCL, Morgan DA, Voshol PJ, Martínez de Morentin PB, López-González T, Liñares-Pose L, Gonzalez F, Chatterjee K, Sobrino T, Medina-Gómez G, Davis RJ, Casals N, Orešič M, Coll AP, Vidal-Puig A, Mittag J, Tena-Sempere M, Malagón MM, Diéguez C, Martínez-Chantar ML, Aspichueta P, Rahmouni K, Nogueiras R, Sabio G, Villarroya F, López M. Hypothalamic AMPK-ER Stress-JNK1 Axis Mediates the Central Actions of Thyroid Hormones on Energy Balance. *Cell Metab.* 2017 Jul 5;26(1):212-229

Milbank E, Dragano NRV, González-García I, Garcia MR, Rivas-Limeres V, Perdomo L, Hilairet G, Ruiz-Pino F, Mallegol P, Morgan DA, Iglesias-Rey R, Contreras C, Vergori L, Cuñarro J, Porteiro B, Gavaldà-Navarro A, Oelkrug R, Vidal A, Roa J, Sobrino T, Villarroya F, Diéguez C, Nogueiras R, García-Cáceres C, Tena-Sempere M, Mittag J, Carmen Martínez M, Rahmouni K, Andriantsitohaina R, López M. Small extracellular vesicle-mediated targeting of hypothalamic AMPK $\alpha$ 1 corrects obesity through BAT activation. *Nat Metab.* 2021 (10):1415-1431.

Milbank E, Dragano N, Vidal-Gómez X, Rivas-Limeres V, Garrido-Gil P, Wertheimer M, Recoquillon S, Pata MP, Labandeira-Garcia JL, Diéguez C, Nogueiras R, Martínez MC, Andriantsitohaina R, López M. Small extracellular vesicle targeting of hypothalamic AMPK $\alpha$ 1 promotes weight loss in leptin receptor deficient mice. *Metabolism.* 2023;139:155350.

Muller, T. D., Nogueiras, R., Andermann, M. L., Andrews, Z. B., Anker, S. D., Argente, J., Batterham, R. L., Benoit, S. C., Bowers, C. Y., Broglio, F., Casanueva, F. F., D'Alessio, D., Depoortere, I., Geliebter, A., Ghigo, E., Cole, P. A., Cowley, M., Cummings, D. E., Dagher, A., Diano, S., Dickson, S. L., Dieguez, C., Granata, R., Grill, H. J., Grove, K., Habegger, K. M., Heppner, K., Heiman, M. L., Holsen, L., Holst, B., Inui, A., Jansson, J. O., Kirchner, H., Korbonits, M., Laferrere, B., LeRoux, C. W., Lopez, M., Morin, S., Nakazato, M., Nass, R., Perez-Tilve, D., Pfluger, P. T., Schwartz, T. W., Seeley, R. J., Sleeman, M., Sun, Y., Sussel, L., Tong, J., Thorner, van der Lely AJ, van der Ploeg LH, Zigman JM, Kojima M, Kangawa K, Smith RG, Horvath T, Tschöp MH. *Mol Metab.* 2015 Mar 21;4(6):437-60

Nogueiras R, Nauck MA, Tschöp MH. Gut hormone co-agonists for the treatment of obesity: from bench to bedside. *Nat Metab.* 2023 Jun;5(6):933-944.

Pombo M, Herrera Justiniano E, Considine RV, Hermida RC, Galvez MJ, Martin T, Barreiro J, Casanueva FF, Dieguez C. Nocturnal rise of leptin in normal prepubertal and pubertal children and in patients with perinatal stalk-transection syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 2751–2754

Popovic V, Leal A, Micic D, Koppeschaar HP, Torres E, Paramo C, Obradovic S, Dieguez C, Casanueva FF. GH-releasing hormone and GH-releasing peptide-6 for diagnostic testing in GH-deficient adults. *Lancet.* 2000 Sep 30;356(9236):1137-42

Porteiro B, Fondevila MF, Delgado TC, Iglesias C, Imbernon M, Iruzubieta P, Crespo J, Zabala-Letona A, Fernø J, González-Terán B, Matesanz N, Hernández-Cosido L, Marcos M, Tovar S, Vidal A, Sánchez-Ceinos J, Malagon MM, Pombo C, Zalvide J, Carracedo A, Buque X, Dieguez C, Sabio G, López M, Aspichueta P, Martínez-Chantar ML, Nogueiras R. Hepatic p63 regulates steatosis via IKK $\beta$ /ER stress. *Nat Commun.* 2017 May 8;8:15111

Quiñones M, Al-Massadi O, Folgueira C, Bremser S, Gallego R, Torres-Leal L, Haddad-Tóvolli R, García-Caceres C, Hernandez-Bautista R, Lam BYH, Beiroa D, Sanchez-Rebordelo E, Senra A, Malagon JA, Valerio P, Fondevila MF, Fernø J, Malagon MM, Contreras R, Pfluger P, Brüning JC, Yeo G, Tschöp M, Diéguez C, López M, Claret M, Kloppenburg P, Sabio G, Nogueiras R. p53 in AgRP neurons is required for protection against diet-induced obesity via JNK1. *Nat Commun.* 2018 Aug 24;9(1):3432

Seoane LM, Carro E, Tovar S, Casanueva FF, Dieguez C. Regulation of in vivo TSH secretion by leptin. *Regul Pept.* 2000 Aug 25;92(1-3):25-9.

Seoane LM, López M, Tovar S, Casanueva FF, Señarís R, Diéguez C. Agouti-related peptide, neuropeptide Y, and somatostatin-producing neurons are targets for ghrelin actions in the rat hypothalamus. *Endocrinology.* 2003 Feb;144(2):544-51

Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, Richards GJ, Campfield LA, Clark FT, Deeds J, Muir C, Sanker S, Moriarty A, Moore KJ, Smutko JS, Mays GG, Wool EA, Monroe CA, Tepper RI. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell.* 1995 ;83(7):1263-71

Velásquez DA, Martínez G, Romero A, Vázquez MJ, Boit KD, Dopeso-Reyes IG, López M, Vidal A, Nogueiras R, Diéguez C. The central Sirtuin 1/p53 pathway is essential for the orexigenic action of ghrelin. *Diabetes.* 2011 Apr;60(4):1177-85

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: 425–432