

# Sistema factor de necrosis tumoral y leptina en la enfermedad celíaca

A. Blanco Quirós, E. Arranz Sanz, J.A. Garrote Adrados, P. Oyáguiez Ugidos, C. Calvo Romero y M. Alonso Franch

Área de Pediatría. Hospital Clínico. Universidad de Valladolid.

(*An Esp Pediatr* 2001; 55: 198-204)

## Objetivo

Los enfermos celíacos presentan malnutrición y una gran anorexia. La leptina es un importante factor anorexígeno estrechamente relacionado con el índice de masa corporal (IMC). El objetivo fue estudiar la leptina sérica en la enfermedad celíaca y su posible acción sobre el apetito, compararla y relacionarla con el factor de necrosis tumoral (TNF), que tiene funciones similares.

## Métodos

La leptina y el receptor I de TNF (TNF-R-I) se midieron mediante enzoinmunoanálisis (ELISA). Se analizaron 65 sueros de enfermos celíacos (28 varones y 37 mujeres). En todos los casos se practicó simultáneamente biopsia intestinal y se determinaron anticuerpos antiendomiso. Estaban en actividad 29 casos y 36 en remisión.

## Resultados

Los valores de leptina estaban disminuidos en la fase de actividad de la enfermedad celíaca ( $p = 0,002$ ), lo que no apoya su participación sobre la anorexia y la desnutrición del paciente celíaco. Durante la remisión de la enfermedad celíaca la leptina se relaciona con el IMC ( $p = 0,001$ ), pero en la fase activa se rompe esta relación habitual. En la fase aguda también se rompe la diferencia entre sexos, y son similares los valores en varones y mujeres. El TNF-R-I se detectó en todos los sueros y mostró una elevación significativa durante la fase aguda ( $p = 0,0003$ ) lo que parece indicar una activación del sistema TNF en la enfermedad celíaca.

## Conclusiones

La leptina está disminuida durante la fase activa de la enfermedad, y se pierde su habitual correlación con el IMC y el sexo femenino. Los resultados señalan que no participa en la anorexia y la desnutrición de la enfermedad celíaca y, sin embargo, sí podría hacerlo el sistema TNF.

## Palabras clave:

*Enfermedad celíaca. Índice de masa corporal. Leptina. Factor de necrosis tumoral. Anorexia.*

## THE TUMOR NECROSIS FACTOR SYSTEM AND LEPTIN IN COELIAC DISEASE

### Objective

Patients with coeliac disease (CD) present anorexia and malnutrition. Leptin is a significant anorexigenic factor, with a close relationship to the body mass index. The aims of this study were to assess serum leptin levels in CD and their possible influence on appetite, as well as to compare and relate leptin with tumor necrosis factor (TNF) activity, which has similar functions.

### Methods

Leptin and TNF receptor-1 (TNFr-1) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay. Sixty-five serum samples from patients with CD (28 boys and 37 girls) were analyzed. In all patients, small bowel biopsy and anti-endomysium determination were performed simultaneously. Twenty-nine patients presented active CD and 36 were in remission.

### Results

Leptin concentrations were reduced in active CD ( $p = 0.002$ ). In patients in remission, leptin was related to the body mass index ( $p = 0.001$ ), but this correlation was not found during the active phase of the disease. Contrary to normal differences between sexes, in active CD leptin levels were similar in boys and girls. TNFr-1 was found in all serum samples and levels were statistically higher in patients with active CD ( $p = 0.0003$ ), suggesting that the TNF system is activated in this disease.

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por Pharmacia Spain, S.A.

**Correspondencia:** Prof. A. Blanco Quirós.  
Facultad de Medicina. Pediatría.  
Ramón y Cajal, 7. 47005 Valladolid.  
Correo electrónico: ablanco@ped.uva.es

Recibido en marzo de 2001.  
Aceptado para su publicación en mayo de 2001.

## Conclusions

**Leptin concentrations were reduced in active CD, but we did not find the usual positive correlation with body mass index and higher concentrations in girls. These results suggest that leptin does not contribute to anorexia and failure to thrive in patients with CD; in contrast, the TNF system might be involved.**

## Key words:

**Coeliac disease. Body mass index. Leptin. Tumor necrosis factor. Anorexia.**

## INTRODUCCIÓN

En la enfermedad celíaca existe una detención en el crecimiento y una intensa anorexia que es una de las causas de la desnutrición que se produce en esta enfermedad<sup>1</sup>. La anorexia está presente con frecuencia en las formas oligosintomáticas de la enfermedad, y resulta llamativa su recuperación tras la retirada del gluten de la dieta. La enfermedad celíaca es una inflamación crónica en la que participan citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) que, además de la actividad inflamatoria, tiene otras funciones. Primitivamente se denominó caquectina por causar grave desnutrición al inhibir la lipoproteinlipasa<sup>2</sup>. Numerosas células tienen receptores para TNF (TNF-R) cuya molécula es liberada al suero cuando aquéllas son activadas<sup>3</sup>. Los valores séricos de TNF y TNF-R aumentan de forma paralela durante situaciones inflamatorias, pero el TNF desaparece rápidamente, por lo que algunos autores han propuesto la alternativa de medir TNF-R, molécula mucho más estable, para conocer el grado de activación del sistema TNF-TNF-R<sup>4</sup>.

La leptina es una proteína sintetizada en los adipocitos, y también en otros tejidos, que regula el apetito desde el hipotálamo provocando sensación de saciedad<sup>5</sup>. Además, de forma periférica contribuye al adelgazamiento frenando la síntesis de ácidos grasos y triglicéridos y aumentando la oxidación lipídica. En condiciones normales hay una relación directa entre las concentraciones séricas de leptina y el índice de masa corporal (IMC)<sup>6,7</sup>; sin embargo, ante una restricción alimentaria los valores de leptina se reducen con demasiada rapidez, antes de que se produzca el adelgazamiento<sup>8</sup>. Posteriormente, se descubrió que la leptina también se producía en células del *fundus* gástrico y que se sintetizaba a los pocos minutos de la ingesta alimentaria mediante un mecanismo en el que interviene la colecistocinina<sup>9-11</sup>.

El objetivo del estudio fue conocer la influencia de la activación del sistema TNF-TNF-R y de la leptina en la anorexia y en la desnutrición de los enfermos celíacos.

## Pacientes y métodos

Se incluyeron en el estudio 65 muestras de suero procedentes de 56 enfermos celíacos (28 varones y 37 mujeres) con un rango de edad entre 10 meses y 17 años. Los criterios de inclusión se basaron en las normas estableci-

das por la ESPGHAN para el diagnóstico de enfermedad celíaca y se hizo biopsia intestinal simultánea a la extracción sérica en todos los casos. Todos los pacientes con enfermedad activa incluidos en el estudio presentaron atrofia vellositaria. Además, se determinaron anticuerpos antiendomiso que fueron coincidentemente positivos en los casos en actividad y negativos en los remitidos.

Mientras recibían dieta normal se recogieron 29 muestras, la mayoría en el momento del diagnóstico, aunque alguno estaba en fase de provocación. Sólo en 4 pacientes pudieron llevarse a cabo determinaciones seriadas, antes y después de retirar el gluten; 36 muestras procedieron de niños en fase de remisión que estaban tratados con dieta exenta en gluten. Todos los pacientes tenían biopsia normal y anticuerpos antiendomiso negativos en el momento del estudio.

Coincidiendo con el estudio se midió el peso y la talla y se calculó el IMC (kg/m<sup>2</sup>). La desviación estándar (DE) de los valores somatométricos se calculó mediante tablas gráficas de somatometría (F. Orbegozo), adecuadas al sexo, o mediante un programa informatizado. Para evitar el sesgo debido a la influencia de la masa grasa sobre la leptina y supuestamente también sobre el TNF-R, los estudios se repitieron corrigiendo los valores según el IMC (valor/IMC\*100).

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Institución.

## TNF-R

El TNF-R se determinó por enzoinmunoanálisis (ELISA) (Bender, Viena, Austria) que utiliza placas fijadas con un anticuerpo monoclonal que reacciona con el TNF-R-I (60 kDa) presente en el suero. Después de 3 lavados consecutivos, se realizó una segunda incubación con otro anticuerpo anti-TNF-R-I conjugado con peroxidasa. La reacción continuó con la metodología habitual de la técnica de ELISA y la densidad óptica final se leyó a 450 nm. El límite de detección, modificando las diluciones, alcanzó hasta 0,08 ng/ml. El coeficiente de variación intraensayo con este sistema es del 1,8% y el interensayo oscila entre el 5 y el 10 %, dependiendo de la concentración. Está comprobado que la determinación de TNF-R-I con el sistema utilizado no se interfiere por la adición de cantidades crecientes de TNF- $\alpha$  o TNF- $\beta$ .

## Leptina

La leptina se determinó por ELISA (R&D, Minneapolis, Estados Unidos). Siguiendo las instrucciones del fabricante, se colocaron 100  $\mu$ l de patrones y muestras en microplacas conteniendo anticuerpo monoclonal contra leptina. Las moléculas que no reaccionaron se lavaron y a continuación se depositó un segundo anticuerpo antileptina, marcado con enzima. Tras nueva incubación y otros tres lavados, se colocó el sustrato enzimático y se detuvo la reacción con ácido. La lectura de la densidad óptica se

registró con un lector regulado a 540 nm. El límite de detección del sistema fue 0,5 pg/ml, usando 100 µl de las muestras, el coeficiente interensayo 5,4% y el coeficiente intraensayo 3,3%. El método identifica leptina humana natural y recombinante, carece de reacción cruzada frente a numerosas moléculas como interleucinas, factores de crecimiento celular, TNF, etc., y no presenta interferencias cuando se añaden hasta 50 ng/ml de cualquiera de dichos factores.

**Análisis estadístico**

Los valores no paramétricos se expresaron en forma de mediana (P<sub>50</sub>) y cuartiles (P<sub>25</sub>/P<sub>75</sub>) aunque también se presentaron en forma de media ± DE, por tener un uso muy extendido. La significación estadística de la diferencia de los valores se hizo mediante el test no paramétrico de Mann-Whitney una vez comprobado mediante el test de Kolmogorov-Smirnov que los valores no tenían una distribución normal. Por la misma razón, para determinar la significación de la correlación se utilizó el test de Spearman. Para el estudio de variantes no continuas, como número de varones y de mujeres, se utilizó la prueba de chi cuadrado (χ<sup>2</sup>). Los cálculos se realizaron con la ayuda del programa Stat-View (Abacus, Berkeley, Estados Unidos) para Macintosh.

**RESULTADOS**

**Características de los enfermos**

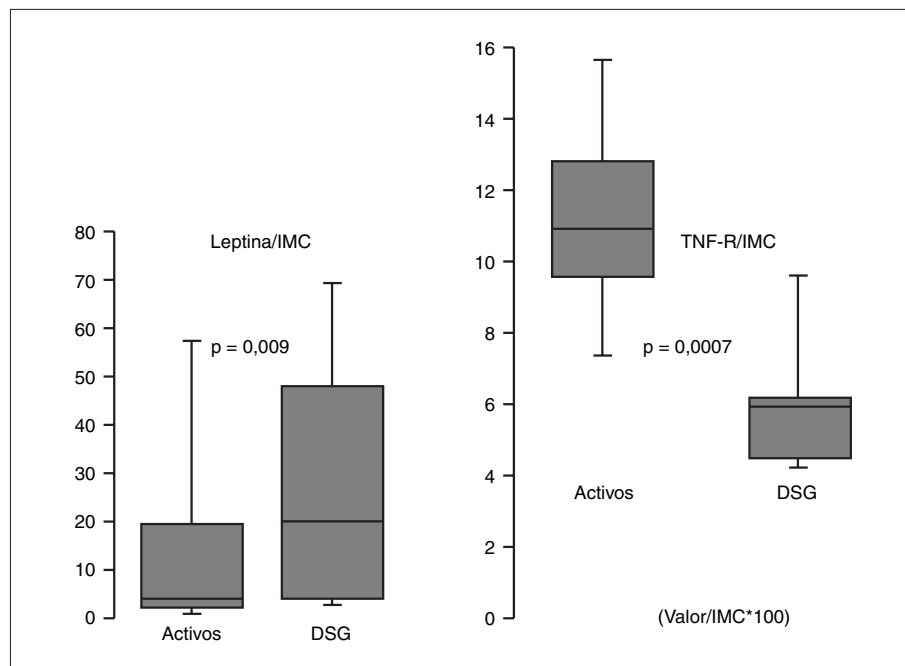
Se estudiaron 65 sueros pertenecientes a 56 pacientes. Usando la prueba de χ<sup>2</sup>, no hubo diferencia entre los casos incluidos por cada uno de los sexos ni en la fase de actividad (12 varones/17 mujeres) ni en la fase de remisión (16 varones/20 mujeres).

Lógicamente, la edad y el IMC (15,55 frente a 17,11; p = 0,0007) fueron más elevados en esta fase, constituyendo un sesgo inevitable que no influyó en las conclusiones obtenidas porque el estudio de leptina y de TNF-R se repitió con valores corregidos en relación al IMC. Con la remisión mejoró llamativamente el percentil del peso (DE, -0,72 frente a -0,13; p = 0,0002) y el IMC (15,55 frente a 17,11; p = 0,0007); por el contrario, no hubo cambios significativos en el percentil de la talla (DE, 0,15 frente a 0,04; p = NS). En la muestra estudiada por nosotros los varones tenían una edad ligeramente superior y su talla estaba más afectada que la de las mujeres, pero la diferencia no fue significativa; el peso fue similar y tampoco las pequeñas diferencias de IMC llegaron a ser estadísticamente significativas.

**Diferencias de leptina y TNF-R entre los grupos**

Los enfermos celíacos en fase de actividad presentaron una cifra de leptina muy inferior a la de los enfermos en remisión (0,92 ng/ml frente a 3,90 ng/ml; p = 0,002), mientras que por el contrario tenían unos valores medios de TNF-R significativamente superiores (1,67 ng/ml frente a 1,13 ng/ml; p = 0,0003). Estas diferencias todavía fueron más significativas cuando se calcularon con valores corregidos en virtud del IMC, p = 0,009 y p = 0,0007, respectivamente (fig. 1).

Los valores de leptina mostraron una clara diferencia sexual cuando se consideraron todos los casos en conjunto, siendo más bajos en los varones que en las mujeres (p = 0,008). Esta diferencia sexual todavía aumentó cuando se consideraron únicamente los enfermos en remisión (p = 0,005); sin embargo, no resultó significativa



**Figura 1.** En la fase activa de enfermedad celíaca la leptina estaba descendida y el receptor de factor de necrosis tumoral (TNF-R) elevado. Estas diferencias todavía eran más significativas (DSG) comparando valores corregidos de acuerdo con el índice de masa corporal (IMC) de los enfermos.

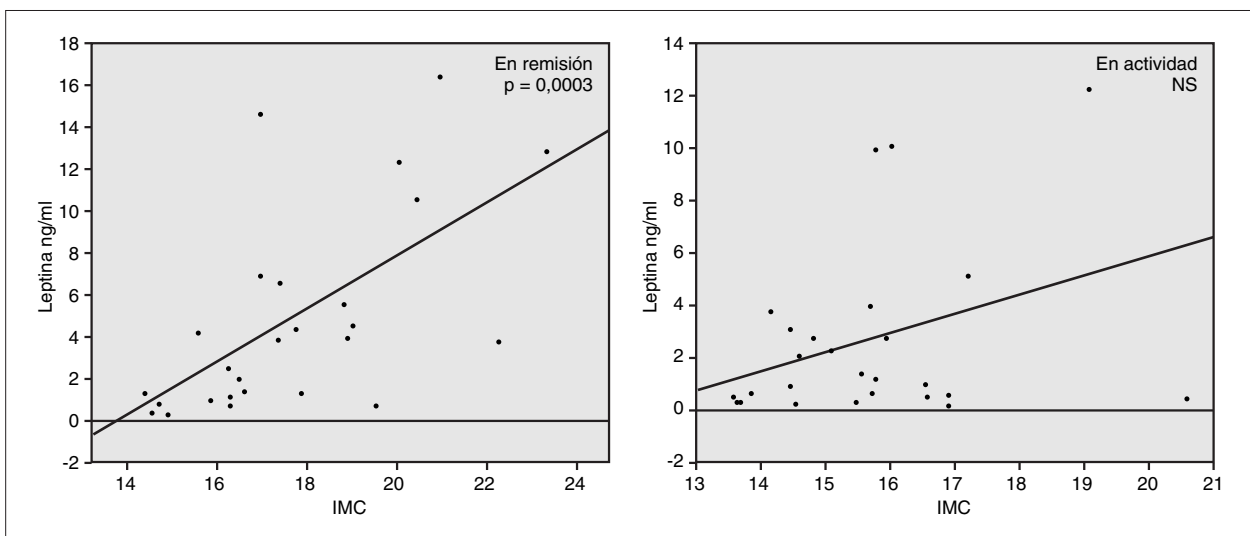
( $p = 0,13$ ) en los casos estudiados durante la fase activa de la enfermedad.

### Correlación entre leptina y otras variables

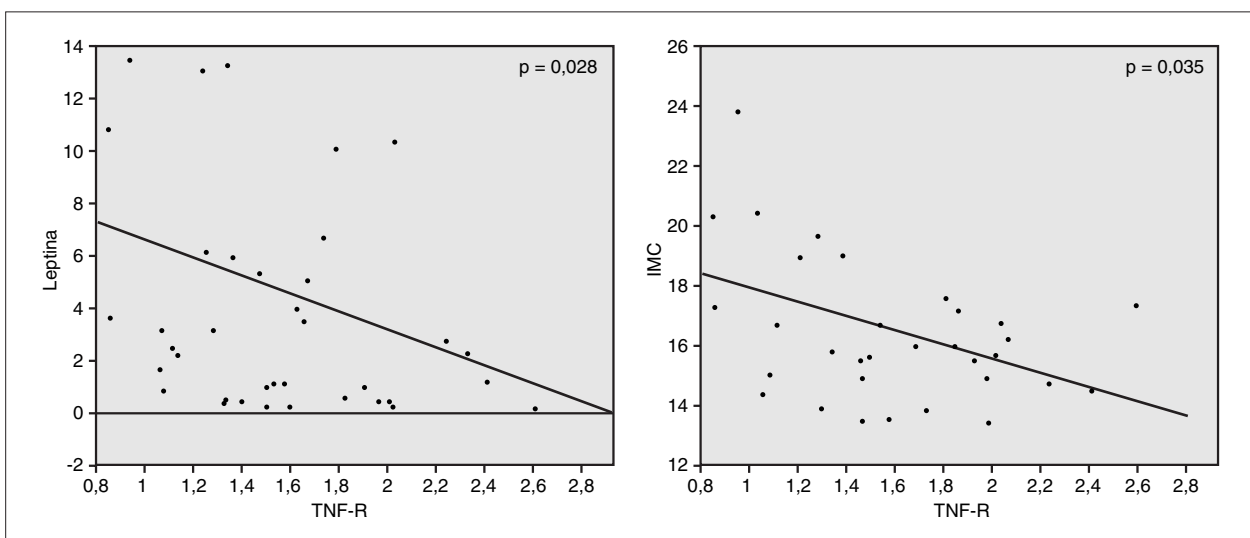
Se estudiaron todos los casos en conjunto, se comprobó una estrecha y positiva correlación entre las tasas de leptina sérica y el IMC ( $Z = 4,54$ ;  $p = 0,0001$ ) bastante similar a la obtenida con menor número de casos durante la fase de remisión ( $Z = 3,66$ ;  $p = 0,0003$ ). Así mismo, existió correlación con la edad ( $p = 0,0007$ ) y con la DE del peso ( $p = 0,0006$ ), pero no con la DE de la talla.

Fue llamativo comprobar que durante la actividad de la enfermedad celíaca dejó de existir correlación signifi-

cativa entre el IMC y la cifra de leptina ( $Z = 1,5$ ;  $p = 0,14$ ). En esta fase tampoco hubo correlación ni con la edad ( $p = 0,15$ ) ni con la talla ( $p = 0,3$ ). En un sentido opuesto, como es habitual en población normal, durante la fase de remisión de la enfermedad celíaca con dieta exenta en gluten la leptina sérica mostró correlación con la edad ( $Z = 2,90$ ;  $p = 0,003$ ), y especialmente con el IMC ( $Z = 3,66$ ;  $p = 0,0003$ ) (fig. 2). Los valores de TNF-R se correlacionaron de forma inversa con las cifras de leptina ( $p = 0,028$ ) y con las del IMC ( $p = 0,035$ ), de forma que los pacientes con tasas superiores de leptina y de IMC eran los que presentaban cifras más bajas de TNF-R (fig. 3).



**Figura 2.** Las tasas séricas de leptina se correlacionaron con el índice de masa corporal (IMC) en los enfermos celíacos en remisión, pero esto no ocurrió en pacientes con enfermedad celíaca en actividad.



**Figura 3.** Las tasas séricas de receptor de necrosis tumoral (TNF-R) se correlacionaron inversamente con las de leptina y con el índice de masa corporal (IMC). Aunque esta relación probablemente sea casual, son conocidas las interrelaciones mutuas entre leptina y TNF.

## DISCUSIÓN

En los pacientes celíacos con enfermedad activa existe una intensa anorexia que explica, junto con la malabsorción, la pérdida de peso<sup>1</sup>. Aunque se desconoce si su mecanismo exacto podría estar relacionado con las alteraciones digestivas y, en este sentido, siempre fue llamativa su comparación con la buena conservación del apetito en otro proceso digestivo, como la fibrosis quística. Tras la retirada del gluten hay una rápida mejora del apetito y del peso, mientras que la recuperación del crecimiento es más lenta.

No se observó aumento de la leptina sérica durante la fase activa de la enfermedad celíaca, al contrario, estaba más baja que en la remisión, lo que indica que no participa en la génesis de la anorexia.

Ciertas enfermedades, como el sida, la enfermedad inflamatoria intestinal o el cáncer, etc., se asocian con adelgazamiento y retraso del crecimiento. En ellas se produce una anorexia variable, y la ingesta calórica suele ser inferior a los requerimientos, lo cual indica que el control de la homeostasis del apetito y del metabolismo energético falla en algunas enfermedades crónicas<sup>12,13</sup>, aunque se desconoce la causa de la anorexia que las acompaña<sup>14</sup>. Diferentes citocinas son liberadas en estas enfermedades, pero sus valores no persisten altos y tampoco se correlacionan con el grado de anorexia<sup>5</sup>.

El TNF tiene acciones metabólicas similares a las de la leptina; su administración mantenida causa anorexia y pérdida del tejido graso hasta llegar a la caquexia. El mecanismo de acción del TNF sobre el apetito es complejo y se sabe que es capaz de liberar leptina<sup>15</sup>. Generalmente, la acción de la TNF- $\alpha$  es local y transitoria lo que dificulta su uso con objetivos clínicos, por ello se aconseja medir el TNF-R como indicador fiable de la actividad del TNF- $\alpha$ . Según diferentes autores, en procesos acompañados de aumento del TNF- $\alpha$ , hay buena correlación entre los valores séricos de TNF-R y TNF- $\alpha$ <sup>4,16</sup>. En determinaciones previas realizadas por nosotros, el TNF- $\alpha$  sérico fue indetectable en pacientes celíacos, por ello se decidió medir su receptor (TNF-R-I), el cual se mostró elevado en los pacientes en actividad. Los hallazgos sugieren una activación del sistema TNF y pensamos que éste contribuye a la anorexia que sufren estos enfermos.

Son numerosos los ejemplos de pérdida de correlación entre el IMC y la leptinemia. Se han comunicado súbitas elevaciones de la leptina en sepsis en relación con la endotoxemia y con independencia de la masa grasa<sup>17-20</sup>. Se han comprobado incrementos similares, no relacionados con el peso, en niños con insuficiencia renal terminal<sup>21</sup>. También en animales hay ejemplos de leptina sérica independiente de la masa grasa, cuando se les administra endotoxina, citocinas o glucocorticoides, todos ellos causantes de elevación de la leptina<sup>5</sup>. En indios Pima se concluyó que las cifras elevadas de leptina diferencian a los individuos que permanecerán delgados de

los que tendrán luego predisposición a la obesidad<sup>22</sup>. Según esto, los valores de leptina no reflejan simplemente el estado de la masa adiposa como se estableció en los estudios iniciales.

La expresión de la leptina está influenciada por la propia ingesta alimentaria. En roedores disminuye después del ayuno y aumenta tras la realimentación<sup>23</sup>, aunque esta dependencia dietética está menos clara en el varón, en el que una corta restricción de ingesta calórica no basta para modificar la expresión de la leptina<sup>24</sup>.

A igualdad de edad y de IMC, la leptina sérica es más elevada en la mujer que en el varón a lo largo de toda la edad pediátrica<sup>25-27</sup>, y esta diferencia entre sexos se constató también en sangre de cordón<sup>25,26,28</sup>. Al llegar la adolescencia, en el varón hay un brusco aumento prepuberal de leptina, mientras que en la mujer el incremento es progresivo<sup>26</sup>. Aunque las tasas de leptina se asocian estrechamente al IMC y al sexo, en la enfermedad celíaca se altera esta regulación y aparecen otras causas. Como se citó previamente, los ejemplos de disregulación de la leptina son numerosos, aunque por lo general todos son estímulos positivos que liberan leptina en mayor cantidad de la teóricamente precisada por el organismo. Por el contrario, en la enfermedad celíaca la disregulación es negativa y consiste en una exagerada inhibición de su síntesis, sugiriendo un mecanismo protector en un paciente que además de estar desnutrido tiene un apetito disminuido.

La leptina se relaciona con hormonas como la de crecimiento (GH) cuyos receptores, muy similares, se incluyen en la familia de clase I<sup>5</sup>, participa en el crecimiento, facilitando la secreción de GH y las deficiencias de leptina en roedores y en seres humanos asocian hipocrecimiento<sup>29,30</sup>. Aunque la relación entre leptina y crecimiento era posible, no encontramos una relación estadística que sustente esta hipótesis. La leptina no parece intervenir en la recuperación del crecimiento de los enfermos celíacos, pero su investigación exigiría un modelo experimental diferente, no contemplado en este trabajo.

En la colitis experimental se produce una súbita elevación de leptina<sup>31</sup>; sin embargo, no se encontraron tasas séricas elevadas en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal<sup>32</sup>, lo que también coincide con nuestros resultados.

Cada vez merece mayor relevancia el papel del tejido adiposo como órgano secretor. Además de leptina, produce numerosos factores con acciones metabólicas e inflamatorias, como el TNF, IL-6 o el propio TNF-R<sup>33</sup>. Por ello, las determinaciones de TNF-R se corrigieron en relación al IMC y comprobamos que su incremento en la fase activa de la enfermedad celíaca resultaba aún más significativo.

Valorados todos los datos, el TNF-R se correlacionó de manera negativa con el IMC, al contrario que la leptina, pero esta correlación no existió en los enfermos remitidos.



dos. Estos dos hallazgos hacen suponer que en la enfermedad celíaca el TNF-R varía más en función de la situación inflamatoria que de la situación nutritiva, justo al contrario que la leptina. Los valores de TNF-R y de leptina también ofrecieron una correlación negativa. Es posible suponer que se trata de una asociación casual debida a la coincidencia de mejoría inflamatoria (descenso de TNF-R) y mejoría nutritiva (elevación de leptina). Sin embargo, una relación causa-efecto entre ambos factores no debe descartarse y hay muchas publicaciones relacionando experimentalmente ambos factores<sup>15,34,35</sup>. La importancia clínica de la interacción leptina-TNF merece atención.

En conclusión, la leptina sérica disminuye en la fase de actividad de la enfermedad celíaca, respecto a la fase de remisión, lo cual no influye sobre la anorexia y sobre la desnutrición del enfermo celíaco. Como en situaciones normales, en los enfermos celíacos remitidos las concentraciones séricas de leptina se relacionan directamente con el IMC, pero en la fase de actividad la relación con el IMC y el sexo se rompe. Seguramente, se suman factores que no parecen ser ni nutritivos ni dietéticos, quizás inflamatorios. La actividad del sistema TNF, valorado a través de su receptor (TNF-R-I), está aumentada en la enfermedad celíaca, lo que probablemente influya en la anorexia y en el depósito de grasa.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Ulshen M. Enteropatía sensible al gluten. Enfermedad celíaca. En: Behrman RE, Kliegman RM, Arvin AM, eds. Tratado de Pediatría de Nelson, 15.ª ed. Madrid: Interamericana, 1997; 1377-1379.
2. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Inmunología celular y molecular, 3.ª ed. Madrid: Interamericana, 1999; 285-290.
3. Callard R, Gearing A. The cytokines. Facts Book. Londres: Academic Press, 1994; 241-246.
4. Furukawa S, Matsubara T, Umezawa Y, Okumura K, Yabuta K. Serum levels of p60 soluble tumor necrosis factor receptor during acute Kawasaki disease. *J Pediatr* 1994; 124: 721-725.
5. Auwerx J, Staels B. Leptin. *Lancet* 1998; 351: 737-742.
6. Hoppin AG, Kaplan LM. The leptin era: new insight into the mechanisms of body weight homeostasis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999; 29: 250-264.
7. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996; 334: 292-295.
8. Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell M, Maratos-Flier E et al. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature* 1996; 382: 250-252.
9. Bado A, Levasseur S, Attoub S, Kermorgant S, Laigneau JP, Borjoluzzi MN et al. The stomach is a source of leptin. *Nature* 1998; 394: 790-793.
10. Ballinger A. Gastric leptin. *Gut* 1999; 44: 153-154.
11. Sobhani I, Bado A, Vissuzaine C, Buyse M, Kermorgant S, Laigneau JP et al. Leptin secretion and leptin receptor in the human stomach. *Gut* 2000; 47: 178-183.
12. Borowitz D. The interrelationship of nutrition and pulmonary function in patients with cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med* 1996; 2: 457-461.
13. Winter H, Chang TL. Gastrointestinal and nutritional problems in children with immunodeficiency and AIDS. *Pediatr Clin North Am* 1996; 43: 573-590.
14. Hoppin AG, Kaplan LM. The leptin era: new insight into mechanisms of body weight homeostasis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999; 29: 250-264.
15. Kirchgessner TG, Uysal KT, Wiesbrock SM, Marino MW, Hotamisligil GS. Tumor necrosis factor-alpha contribute to obesity-related hyperleptinemia by regulating leptin release from adipocytes. *J Clin Invest* 1997; 100: 2777-2782.
16. Spinass GA, Keller U, Brockhaus M. Release of soluble receptors for tumor necrosis factor (TNF) in relation to circulating TNF during experimental endotoxemia. *J Clin Invest* 1992; 90: 533-536.
17. Arnalich F, Lopez J, Codoceo R, Jiménez M, Madero R, Montiel C. Relationship of plasma leptin to plasma cytokines and human survival in sepsis and septic shock. *J Infect Dis* 1999; 180: 908-911.
18. Torpy DJ, Bornstein SR, Chrousos GP. Leptin and interleukin-6 in sepsis. *Horm Metab Res* 1998; 30: 726-729.
19. Carlson GL, Saeed M, Little RA, Irving MH. Serum leptin concentrations and their relation to metabolic abnormalities in human sepsis. *Am J Physiol* 1999; 276: E658-E662.
20. Bornstein SR, Licinio J, Tauchnitz R, Engelmann L, Negrao AB, Gold P et al. Plasma leptin levels are increased in survivors of acute sepsis: associated loss of diurnal rhythm, in cortisol and leptin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 280-283.
21. Merabet E, Dagogo-Jack S, Coyne DW, Klein S, Santiago JV, Hmiel SP et al. Increased plasma leptin concentration in end-stage renal disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 847-850.
22. Ravussin E, Pratley RE, Maffei M, Wang H, Friedman JM, Bennett PH et al. Relatively low plasma leptin concentrations precede weight gain in Pima Indians. *Nat Med* 1997; 3: 238-240.
23. Trayhurn P, Thomas MEA, Duncan JS, Rayner VD. Effect of fasting and refeeding on ob gene expression in white adipose tissue of lean and (ob/ob) mice. *FEBS Lett* 1995; 368: 488-490.
24. Vidal H, Auboeuf D, De Vos P, Staels B, Riov JP, Auwerx J et al. The expression of ob gene is not acutely regulated by insulin and fasting in human abdominal subcutaneous adipose tissue. *J Clin Invest* 1996; 98: 251-255.
25. Ellis KJ, Nicolson M. Leptin levels and body fatness in children: effects of gender, ethnicity and sexual development. *Pediatr Res* 1997; 42: 484-488.
26. Puigdevall Gallego V, Laudo Pardos C, Ferrández Longas NA. Leptina y pubertad. *An Esp Pediatr* 1998; 49: 561-567.
27. Garcia Mayor RV, Andrade MA, Rios M, Lage M, Dieguez C, Casanueva FF. Serum leptin in normal children: relationship to age, gender, body mass index, pituitary-gonadal hormones and puberty. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 2849-2855.
28. Gomez L, Carrascosa A, Yeste D, Potau N, Rique S, Ruiz-Cuevas P et al. Leptin values in placental cord blood of human newborns with normal intrauterine growth after 30-42 weeks of gestation. *Horm Res* 1999; 51: 10-14.
29. Carro E, Senaris R, Considine RV, Casanueva FF, Dieguez C. Regulation of in vivo growth hormone secretion by leptin. *Endocrinology* 1997; 138: 2203-2206.
30. Clement K, Vaisse C, Lahlou N, Cabrol S, Pelloux J, Cassuto D et al. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature* 1998; 392: 398-401.

31. Barbier M, Cherbut C, Aube AC, Blottiere HM, Galmiche JP. Elevated plasma leptin concentrations in early stages of experimental intestinal inflammation in rats. *Gut* 1998; 43: 783-790.
32. Ballinger A. Divergency of leptin response in intestinal inflammation. *Gut* 1999; 44: 588-589.
33. Mohamed-Ali V, Goodrick S, Bulmer K, Holly JMP, Yudkin JS, Coppack SW. Production of soluble tumor necrosis factor receptors by human subcutaneous adipose tissue in vivo. *Am J Physiol* 1999; 277 (Endocrinol Metab 40): E971-E975.
34. Faggioni R, Jones Carson J, Reed DA, Dinarello CA, Feingold KR, Grunfeld C et al. Leptin-deficient (Ob/ob) mice are protected from T cell mediated hepatotoxicity: role of tumor necrosis factor alpha and IL-18. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 2367-2372.
35. Bullo Bonet M, García Lorda P, Argilés JM, Salas-Salvadó J. Papel del factor de necrosis tumoral en el control de las reservas grasas y la obesidad. *Med Clin* 2000; 114: 624-630.