

# Características endocrinas, moleculares y de parámetros de crecimiento asociados a la obesidad del cerdo Pelón Mexicano

## Endocrine, molecular and growth performance characteristics associated to the obesity of the Mexican Hairless pig

Carmen Camacho-Rea<sup>a</sup>, Carlos G. Gutiérrez<sup>b</sup>, Miguel E. Arechavaleta-Velasco<sup>c</sup>, Laura Díaz-Cueto<sup>d</sup>, Fabián J. Arechavaleta-Velasco<sup>d</sup>, Roberto Martínez Rodríguez<sup>a</sup>, Clemente Lemus-Flores<sup>e</sup>, Rogelio A. Alonso-Morales<sup>a</sup>

### RESUMEN

Para determinar el potencial del cerdo Pelón Mexicano (CPM) en el estudio de la obesidad, se realizó un estudio entre el CPM y cerdos Landrace-Yorkshire (CLY). Se midieron concentraciones séricas de leptina e insulina y se determinó su correlación con el espesor de grasa dorsal (EGD). Se evaluó el consumo de alimento (CA), el EGD, la ganancia diaria de peso y la expresión de genes que codifican para leptina, el receptor de leptina, adiponectina y el receptor activado por proliferadores de peroxisomas gama (PPAR- $\gamma$ ), mediante PCR de tiempo real. Los CLY tuvieron una ganancia de peso mayor ( $P < 0.05$ ). No existieron diferencias en el CA medido como proporción del peso corporal, sin embargo, los CPM tuvieron una mayor deposición de grasa dorsal ( $P < 0.01$ ). Las concentraciones de leptina tuvieron una correlación de 0.73 con el EGD en los CPM y de 0.75 en los CLY ( $P < 0.01$ ); sin embargo, sólo en los CPM las concentraciones de insulina tuvieron una correlación positiva de 0.43 con el EGD ( $P < 0.05$ ). Los CPM tuvieron un incremento en la expresión del RNAm de adiponectina, leptina y el receptor de leptina ( $P < 0.05$ ), pero no para el RNAm de PPAR- $\gamma$ . En conclusión, los cerdos Pelón Mexicano tienen una mayor capacidad para depositar grasa dorsal, presentan mayores concentraciones séricas tanto de insulina como de leptina, y tienen mayor expresión de genes que se relacionan con la obesidad. Por lo que estos resultados sugieren, que este tipo de cerdo puede ser un mejor modelo de estudio de la obesidad, que los cerdos Landrace-Yorkshire.

**PALABRAS CLAVE:** Modelo animal, Cerdo Pelón Mexicano, Obesidad, Diabetes.

### ABSTRACT

To establish the potential of the Mexican hairless pig as an animal model for the study of obesity, a comparative study between the Mexican hairless pigs (MHP) and Landrace-Yorkshire pigs (LYP) was performed. Leptin and insulin serum concentrations were measured and its correlation with backfat thickness was estimated. Feed intake, daily weight gain and backfat thickness was evaluated. Gene expression of leptin, leptin receptor, adiponectin and peroxisoma proliferator activated receptor gamma (PPAR- $\gamma$ ) in adipose tissue were also evaluated. The LYP had a higher weight gain ( $P < 0.05$ ). There were no differences for feed intake measured as a proportion in relation to the body weight between groups ( $P > 0.05$ ). However, the backfat thickness was higher in the MHP ( $P < 0.01$ ). A correlation of 0.73 between leptin concentrations and backfat thickness was found in the MHP ( $P < 0.01$ ) and a correlation of 0.75 in the LYP ( $P < 0.01$ ). However, the insulin concentrations only showed a positive correlation of 0.43 with backfat thickness in the MHP ( $P < 0.05$ ). The MHP showed higher gene expression for adiponectin, leptin and leptin receptor ( $P < 0.05$ ), but no differences were found for the gene expression of PPAR- $\gamma$  between groups. The Mexican hairless pigs showed a higher capacity for backfat deposition, higher leptin and insulin serum concentrations and higher expression of the genes associated with obesity. These results suggest that Mexican hairless pigs could be a better animal model for the study of obesity than Landrace-Yorkshire pigs.

**KEY WORDS:** Animal model, Mexican Hairless pig, Obesity, Diabetes.

Recibido el 30 de mayo de 2007. Aceptado para su publicación el 10 de agosto de 2007.

<sup>a</sup> Departamento de Genética y Bioestadística, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, 04510 México DF. Correspondencia al primer autor. camachorca@yahoo.com

<sup>b</sup> Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México.

<sup>c</sup> Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

<sup>d</sup> Unidad de Investigación Médica en Medicina Reproductiva de la UMAE en Ginecología y Obstetricia "Luis Castelazo Ayala", Instituto Mexicano del Seguro Social.

<sup>e</sup> Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma de Nayarit.

## INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, el empleo del cerdo en biomedicina se ha incrementado debido a sus similitudes anatómicas, fisiológicas y metabólicas con el ser humano<sup>(1,2)</sup>. Comercialmente, existen cerdos miniatura para investigación, los cuales en su mayoría fueron generados a partir de cerdos comerciales y cerdos Pelón Mexicano, el cual es una variedad local genéticamente distante a las razas porcinas comerciales<sup>(3)</sup>, y presenta una alta tendencia a depositar grandes cantidades de grasa corporal<sup>(4)</sup>, lo que lo coloca como un posible modelo de estudio para la obesidad. Esta patología es un problema de salud pública<sup>(5,6)</sup>, con un fuerte componente genético<sup>(7)</sup> influenciado por el incremento en el consumo de alimentos con alto contenido energético, así como por una disminución en la actividad física.

El número de marcadores genéticos y genes asociados con la obesidad son más de 200<sup>(8)</sup>; sin embargo, las bases moleculares de la obesidad y los mecanismos que regulan la ingesta de alimento han sido entendidas por el descubrimiento de la leptina, producto del gen *Ob*, el receptor de leptina (*Ob-R*)<sup>(9)</sup>, la adiponectina y el receptor activado por proliferadores de peroxisomas-gama (*PPAR-γ*), entre otras moléculas. Las concentraciones séricas de leptina son un indicador de las reservas energéticas en el organismo<sup>(10)</sup> y se correlacionan positivamente con la cantidad de tejido adiposo<sup>(11,12,13)</sup>; sin embargo, en el contexto de obesidad, bajas concentraciones de leptina indican una alteración en la expresión del gen *Ob*, resultando en obesidad<sup>(14,15)</sup>. La mayoría de los seres humanos obesos presentan altas concentraciones de leptina, y una relativa insensibilidad a ésta, como resultado de una alteración en el gen *Ob-R*, gen que codifica para el receptor de la leptina<sup>(16)</sup>. El *Ob-R* se expresa en diferentes regiones del hipotálamo y en otros tejidos periféricos, entre los que se incluye al tejido adiposo y en particular al adipocito<sup>(17,18)</sup>; en este último, la leptina está sujeta a regulación nerviosa, mediada por el sistema nervioso simpático<sup>(19)</sup>.

Otra hormona producida exclusivamente por el tejido adiposo es la adiponectina y a diferencia de la leptina, tanto su expresión genética como sus concentraciones séricas están disminuidas en seres

## INTRODUCTION

The use of pigs in biomedical research has increased in recent decades due the anatomical, physiological and metabolic similarities to humans<sup>(1,2)</sup>. Miniature pigs are available commercially for research, and are mostly generated from Mexican hairless and commercial breed pigs. The Mexican hairless pig is a local breed genetically distant from commercial breeds<sup>(3)</sup>, that has a high tendency to deposit large amounts of fat tissue<sup>(4)</sup>, making it a possible animal model for obesity research.

Obesity is a public health problem<sup>(5,6)</sup> with a conspicuous genetic component<sup>(7)</sup>, which is influenced by increased intake of high-energy food and decreased physical activity. Over 200 genetic markers and genes are associated with obesity<sup>(8)</sup>, however, the molecular bases of obesity and the mechanisms that regulate food intake were understood with the discovery of leptin (product of the *Ob* gene), leptin receptor (*Ob-R*)<sup>(9)</sup>, adiponectin and the peroxisome proliferator-activated receptor gamma (*PPAR-γ*), among others. Leptin serum levels are an indicator of the organism's energy reserves<sup>(10)</sup> and are positively correlated with the amount of adipose tissue<sup>(11,12,13)</sup>. However, in the case of obesity, low leptin concentrations indicate an altered expression of the *Ob* gene, which results in obesity<sup>(14,15)</sup>. Most obese humans exhibit high leptin levels and are relatively insensitive to it due to alterations in the *Ob-R* gene, gen that codifies for leptin receptor<sup>(16)</sup>. The *Ob-R* is expressed in different regions of the hypothalamus and other peripheral tissues, including adipose tissue, particularly in adipocytes<sup>(17,18)</sup> which are subject to nervous regulation mediated by the sympathetic nervous system<sup>(19)</sup>.

Adiponectin is another hormone produced exclusively by the adipose tissue, the genetic expression and serum levels are decreased in obese humans and mice with obesity or type-2 diabetes<sup>(20)</sup>. This hormone plays an important role in glucose homeostasis by improving the sensitivity of the cells to insulin<sup>(21)</sup>, which is an important body weight modulator, due to its antilipolytic action<sup>(22)</sup>, and its role in the development of obesity by inducing the expression of genes that participate in

humanos obesos y en ratones con obesidad o diabetes tipo 2<sup>(20)</sup>. La adiponectina tiene un papel importante en la homeostasis de la glucosa por mejorar la sensibilidad de las células a la insulina<sup>(21)</sup>, esta última un modulador importante del peso corporal por su acción antilipolítica<sup>(22)</sup>, y por su participación en el desarrollo de la obesidad al inducir la expresión de genes que participan en el proceso de lipogénesis<sup>(23)</sup>. Asimismo, el receptor activado por proliferadores de peroxisomas gamma (PPAR- $\gamma$ ) controla la diferenciación y el desarrollo del tejido adiposo, promueve el almacenamiento de lípidos en los adipocitos maduros<sup>(24)</sup> y su sola expresión genética es suficiente para iniciar el proceso de adipogénesis<sup>(24,25)</sup>.

Desde el punto de vista clínico, la obesidad está asociada con componentes del síndrome metabólico entre los que se encuentran, resistencia a la insulina, hiperinsulinemia, hipertensión, dislipidemias y enfermedades coronarias<sup>(26,27,28)</sup>.

Por lo que el objetivo de este estudio fue comparar rasgos endocrinos, de crecimiento y genéticos asociados con la obesidad en cerdos Pelón Mexicano y Landrace Yorkshire, como paso inicial para definir la utilidad del cerdo Pelón Mexicano como modelo de estudio de la obesidad humana.

## MATERIALES Y METODOS

El trabajo se llevó a cabo en las instalaciones del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Porcina (CEIEPP) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, El estudio consistió de dos experimentos: en el primero se compararon rasgos endocrinos y de crecimiento entre cerdos Pelón Mexicano y cerdos Landrace-Yorkshire, desde las 4 hasta las 40 semanas de edad; en el segundo, se cuantificó y comparó la expresión génica en tejido adiposo de genes que se relacionan con la obesidad, así como con sus complicaciones metabólicas, en ambos genotipos de dos años de edad.

### *Rasgos endocrinos y de crecimiento*

Se utilizaron lechones Pelón Mexicano (n=12) y Landrace-Yorkshire (n=14) que fueron destetados

lipogenesis process<sup>(23)</sup>. In addition, PPAR- $\gamma$  controls differentiation and development of adipose tissue, promotes lipids storage in mature adipocytes<sup>(24)</sup> and its genetic expression by itself is enough to start adipogenesis<sup>(24,25)</sup>.

Obesity is clinically associated with some of the metabolic syndrome components such as insulin resistance, hyperinsulinemia, hypertension, dyslipidemias and coronary diseases<sup>(26,27,28)</sup>.

The main objective of this study was to compare endocrine, growth and genetic characteristics associated to obesity in Mexican hairless pigs and Landrace-Yorkshire pigs as a first step to determine the possible use of the Mexican hairless pig as a model in human obesity research.

## MATERIALS AND METHODS

The study was carried out at the Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Porcina (-CEIEPP) of the Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia of the Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) at km 2 of the Jilotepec-Corrales road, Jilotepec, México. The study was divided in two experiments. In the first experiment endocrine and growth characteristics were compared between Mexican hairless pigs and Landrace-Yorkshire pigs from 4 and 40 wk of age. In the second experiment, gen expression of obesity-related genes in adipose tissue was quantified and compared between Mexican hairless pigs and Landrace-Yorkshire pigs of two years of age.

### *Endocrine and growth characteristics*

Mexican hairless (n = 12) and Landrace-Yorkshire (n = 14) suckling pigs were weaned at 21 d of age with an initial weight of  $5.60 \pm 1.03$  and  $7.67 \pm 0.95$  kg respectively and used in this experiment. The study period started at 28 d of age, one week after weaning, to allow time for the animals to adapt to the diet. The Mexican hairless pigs were placed in two elevated pens, six animals each, and the Landrace-Yorkshire pigs were placed in two pens, seven animals each. Until 12 wk of age, the pigs were kept in the weaning room after which they were

a los 21 días de edad con un peso promedio de  $5.60 \pm 1.03$  y  $7.67 \pm 0.95$  kg respectivamente. El estudio inició a los 28 días de edad, con el objeto de que los animales tuvieran una semana de adaptación a la dieta después del destete. Los cerdos Pelón Mexicano se alojaron en dos corraletas elevadas, con seis animales cada una, mientras que los cerdos Landrace–Yorkshire se alojaron de igual forma en donde cada corraleta contuvo siete animales. Los cerdos se mantuvieron en una sala de destete hasta las 12 semanas de edad, posteriormente se llevaron a una sala de crecimiento

transferred to a growth area with cement floor pens. In both installations, the pigs were provided with hopper feeders, nipple drinkers, natural ventilation and gas heaters (weaning room). The animals were fed ad libitum with a sorghum-soybean diet according to NRC recommendations<sup>(29)</sup> (Table 1).

Animal growth was divided into three phases: Phase 1 (4 to 12 wk of age); Phase 2 (13 to 26 wk of age); and Phase 3 (27 to 40 wk of age). Feed intake and backfat thickness were evaluated every 14 d. Feed intake was measured by pen using the

Cuadro 1. Ingredientes y composición química de las dietas empleadas durante el desarrollo de los cerdos

Table 1. Ingredients and chemical composition of the diet used during the study

Ingredients	Weight range (kg)			
	10-20	20-50	50-80	80-100
Sorghum 8 %	764.00	783.00	738.00	801.73
Soybean concentrate	88.66	—	20.86	—
Fish protein concentrate	50.00	49.45	—	—
Soybean meal 44 %	49.67	123.09	184.43	143.52
Powdered fat	24.00	25.00	35.00	35.00
Dicalcium phosphate 18/20	8.59	4.14	5.49	4.12
Calcium carbonate 36 %	7.81	7.76	8.35	8.24
Salt	2.50	2.50	2.50	2.50
C2 Vitamins	2.50	2.50	2.50	2.50
C1 Minerals	1.50	1.50	1.50	1.50
Choline 60 %	0.400	0.400	0.400	—
Lysine	—	—	—	0.469
<b>Nutrients</b>				
Metabolizable energy, kcal/kg	3400	3400	3400	3400
Total lysine	1.00	0.830	0.750	0.600
Total threonine	0.719	0.600	0.575	0.463
Total valine	0.987	0.840	0.793	0.661
Digestible methionine	0.305	0.274	0.207	0.175
Digestible tryptophan	0.190	0.158	0.162	0.129
Calcium	0.700	0.600	0.500	0.450
Crude fiber	2.20	2.50	2.77	2.62
Dry matter	88.71	88.64	88.73	88.59
Crude protein, %	16.00	15.29	15.36	12.79
Total methionine, %	0.340	0.328	0.248	0.214
Total tryptophan, %	0.190	0.189	0.194	0.157
Digestible lysine	0.856	0.692	0.635	0.497
Digestible threonine	0.597	0.482	0.462	0.362
Digestible valine	0.821	0.687	0.650	0.530
Total phosphorous	0.600	0.500	0.450	0.400
Ether extract	5.31	5.30	5.63	5.69

y se alojaron en corrales con piso de cemento. Ambas instalaciones, tuvieron comederos de tolva, bebederos de chupón, ventilación natural, y calentadores de gas, estos últimos sólo estuvieron presentes en la sala de destete. Los animales fueron alimentados a libre acceso con una dieta base sorgo-soya, tomando como referencia lo recomendado por el NRC<sup>(29)</sup> (Cuadro 1).

El crecimiento de los cerdos se dividió en tres fases: la fase I (4 a 12 semanas de edad), la 2 (13 a 26 semanas de edad) y la fase 3 (27 a 40 semanas de edad). Cada 14 días se evaluó el consumo de alimento y el espesor de la grasa dorsal. El consumo de alimento se midió por corral por medio de la diferencia entre la cantidad de alimento ofrecida y la cantidad rechazada, y se cuantificó tanto en kilogramos como en porcentaje en relación al peso corporal de los animales, esto último se hizo por la diferencia en talla que tuvieron los dos grupos de cerdos en estudio. El espesor de la grasa dorsal se midió a la altura de la última costilla del lado izquierdo de cada animal, a 5 a 7 cm a partir de la columna vertebral, utilizando un equipo de ultrasonido de tiempo real Aloka 500V (Corometrics, Medical Systems, Inc., CT, USA) con un transductor lineal de 3.5 Mhz.

Se midió la ganancia diaria de peso a partir de la diferencia entre el peso final y el peso inicial de los animales dividido entre el número de días correspondientes para cada fase de crecimiento.

Se midieron las concentraciones séricas de leptina e insulina a las 4, 12, 26 y 40 semanas de edad, para lo cual se tomaron muestras de sangre de la vena yugular externa de cada cerdo, con un ayuno previo de 12 a 14 h. El suero fue separado por centrifugación a 3000 xg a 4 °C durante 10 min y se transfirió a tubos eppendorf donde se mantuvo a -20 °C hasta su análisis. Las concentraciones séricas de leptina e insulina se determinaron por duplicado, mediante la técnica de radio inmunoanálisis utilizando los kits comerciales Leptin RIA Multi-species y Porcine Insulin RIA (Linco Research Inc., St. Louis, MO, USA), respectivamente.

#### *Expresión de genes asociados a la obesidad*

Tres cerdos Landrace-Yorkshire y cuatro cerdos

difference between the amount of feed offered and the amount rejected. It was quantified in kilograms and as a percentage of animal body because of differences in body size between genetic groups. Backfat thickness was measured at the last rib on the left side of each animal, about 5 to 7 cm from the spinal column, using a real time ultrasound device (Aloka 500V, Corometrics Medical Systems, Inc., CT, USA) with a 3.5 MHz linear transducer. Daily weight gain was measured by the difference between final and initial animal weight divided by the number of days in each growth phase.

Leptin and insulin serum levels were measured at 4, 12, 26 and 40 wk by taking blood samples from the jugular vein of each animal after a 12 to 14 h fast. The serum was separated by centrifugation at 3000 xg at 4 °C for 10 min, and then it was transferred to an Eppendorf tube for storage at -20°C until use. Serum leptin and insulin levels were determined in duplicate by radioimmunoanalysis using Leptin RIA Multi-species and Porcine Insulin RIA commercial kits (Linco Research Inc., St. Louis, MO, USA).

#### *Gen expression of obesity-related genes*

Three Landrace-Yorkshire pigs and four Mexican hairless pigs of two years of age were used to quantify the gen expression in adipose tissue of mRNA of leptin (Ob), leptin receptor (Ob-R), adiponectin and peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR- $\gamma$ ), by using real time PCR. Subcutaneous adipose tissue biopsies were taken from the base of the neck of each animal. These samples were immediately frozen in liquid nitrogen and transported to the laboratory, where they were stored at -80 °C until RNA extraction.

RNA was extracted according to Chomczynski and Sacchi<sup>(30)</sup>. After washing it with 70 % ethanol, the RNA was resuspended in diethylpyrocarbonated water (DEPC) and quantified by spectrophotometry at 260 nm absorbance. RNA purity was determined evaluating the 260/280 nm ratio.

Primers sequences for mRNA of the genes coding for the synthesis of leptin (Ob), leptin receptor (Ob-R), adiponectin and PPAR- $\gamma$  were designed with



Pelón Mexicano de dos años de edad se utilizaron para cuantificar la expresión de RNAm en tejido adiposo de genes que codifican para la síntesis de leptina (Ob), el receptor de la leptina (Ob-R), la adiponectina y el receptor activado por proliferadores de peroxisomas gama (PPAR- $\gamma$ ), utilizando la técnica de PCR de tiempo real.

Biopsias de tejido adiposo subcutáneo se obtuvieron de la base del cuello de cada uno de los animales. Las muestras fueron congeladas inmediatamente en nitrógeno líquido y se transportaron al laboratorio en donde se mantuvieron a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de la extracción del RNA.

La extracción del RNA se realizó empleando el método descrito por Chomczynski y Sacchi<sup>(30)</sup>. Después de un lavado con etanol al 70 %, el RNA fue resuspendido en agua dietilpicrocarbonatada (DEPC) y fue cuantificado por espectrofotometría, midiendo la absorbancia a 260 nm. La pureza del RNA se determinó evaluando la relación 260/280 nm.

Los oligo-nucleótidos de iniciación para el RNAm de los genes que codifican para la síntesis de leptina (Ob), el receptor de leptina (Ob-R), la adiponectina y el PPAR- $\gamma$  fueron diseñados usando el software Primer3 ([http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3\\_www.cgi](http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi)) (Cuadro 2). Posterior al diseño de los iniciadores, se realizó un alineamiento

the Primer3 program ([http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3\\_www.cgi](http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi)) (Table 2). After primer design, an alignment was done using the BLAST algorithm (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>) to confirm that these would not amplify homologous regions of other genes. Gene expression quantification was done with real time PCR, using an ABI Prism 7000 (Applied Biosystems, CA, USA). Syber green<sup>®</sup> was used as detection fluorochrome and  $\beta$ -actin as an internal control. Amplification conditions and the relative expression of each sample were done as described by García *et al*<sup>(31)</sup>.

#### Statistical analyses

Hormones concentration and growth characteristics data were analyzed to determine if they fit a normal distribution. The variables that do not fit a normal distribution were transformed. Backfat thickness, insulin concentration and leptin concentration were transformed using the natural logarithm. Feed intake in kilograms was transformed by the square root of the variable.

Hormones concentrations and growth characteristics data were analyzed using an analysis of variance under a repeated measurements design. The model included the effect of the genetic group, the effect of age and the effect of interactions between genetic

Cuadro 2. Oligo-nucleótidos de iniciación utilizados para evaluar la expresión genética de los genes que codifican para leptina (Ob), receptor de leptina (Ob-R), receptor activado por proliferadores de peroxisomas gama (PPAR- $\gamma$ ) y adiponectina (Adipo)

Table 2. Primers sequence used to evaluate the expression of genes coding for leptin (Ob), leptin receptor (Ob-R), peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR- $\gamma$ ) and adiponectin (Adipo)

Gene	GenBank access	Sequence	Position	Amplicon (bp)
Ob	NM_213840	F TCAGTCACATTTACACATGCAG	951	100
		R ATCTTGGACAACTCAGGACAGG	1050	-
Ob-R	NM_001024587	F TATGATGTTGTGGGTGACCATGT	1156	99
		R GCAGCAGTACACTGCATCATAGG	1254	-
PPAR- $\gamma$	AF_103946	F CGACCTGGCGATATTTATAGCTG	1242	100
		R TTGCAGCAAATTGTCTTGAATGT	1341	-
Adipo	NM_214370	F GGTCCAGCCTCTACAAGAAGGACA	602	103
		R CTCCAGATAGAGGAGCACAGAGC	704	-

utilizando el algoritmo BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>), para confirmar que estos no amplificaran regiones homólogas en otros genes. La cuantificación de la expresión génica se llevó a cabo por PCR de tiempo real, usando un equipo ABI Prism 7000 (Applied Biosystems, CA, USA). Se utilizó Syber green® como fluorocromo de detección y β-actina como control interno. Las condiciones de amplificación y la expresión relativa de cada muestra se realizaron en base a lo descrito por García *et al*(31).

*Análisis estadísticos*

Los datos obtenidos para las concentraciones de hormonas y los rasgos de crecimiento se analizaron para determinar si se distribuían en forma normal. Se realizaron transformaciones en las variables que no presentaron una distribución normal, por lo que el espesor de la grasa dorsal, las concentraciones de insulina y leptina se transformaron utilizando la función logaritmo natural, mientras que el consumo de alimento en kilogramos se transformó utilizando la raíz cuadrada de la variable.

Los datos de las concentraciones séricas de hormonas y de los rasgos de crecimiento se

groups and age. The experimental unit for leptin and insulin levels, daily weight gain and backfat thickness was the animal, and for feed intake it was the pen.

A correlation analysis was done to determine if a relation existed between insulin and leptin levels with backfat thickness.

Genetic expression of leptin, leptin receptor, adiponectin and PPAR-γ was analyzed with a Wilcoxon-Mann-Whitney test to detect differences between genetic groups. All statistical analyses were performed with the JMP 4.0 program(32).

**RESULTS**

*Endocrine and growth characteristics*

The feed intake in kilograms was higher ( $P < 0.05$ ) in the Landrace-Yorkshire pigs during the different growth phases (Table 3), however, when feed intake was evaluated as a percent of the body weight, there were no differences between the genetic groups. The Landrace-Yorkshire pigs had higher weight gain ( $P < 0.05$ ), however, the Mexican hairless pigs exhibited higher backfat deposition in

Cuadro 3. Medias de cuadrados mínimos ± error estándar\* para consumo de alimento (FI), consumo de alimento en proporción al peso corporal (FIW), ganancia diaria de peso (DWG) y espesor de grasa dorsal (BFT) de dos grupos genéticos

Table 3. Least square means ± standard error\* for feed intake (FI), feed intake as a proportion of body weight (FIW), daily weight gain (DWG) and backfat thickness (BFT) in Mexican Hairless pigs and Landrace-Yorkshire pigs

Variable	Genetic group	Phase 14 - 12 weeks	Phase 213 - 26 weeks	Phase 327 - 40 weeks
FI, kg	Mexican hairless	0.800 ± 0.127 <sup>a</sup>	1.808 ± 0.073 <sup>a</sup>	2.021 ± 0.118 <sup>a</sup>
	Landrace-Yorkshire	1.194 ± 0.142 <sup>b</sup>	2.533 ± 0.093 <sup>b</sup>	2.778 ± 0.110 <sup>b</sup>
FIW, %	Mexican hairless	5.90 ± 0.25 <sup>a</sup>	3.86 ± 0.23 <sup>a</sup>	2.28 ± 0.20 <sup>a</sup>
	Landrace-Yorkshire	5.46 ± 0.29 <sup>a</sup>	3.62 ± 0.20 <sup>a</sup>	1.90 ± 0.19 <sup>a</sup>
DWG, kg	Mexican hairless	0.322 ± 0.018 <sup>a</sup>	0.499 ± 0.021 <sup>a</sup>	0.316 ± 0.020 <sup>a</sup>
	Landrace-Yorkshire	0.616 ± 0.020 <sup>b</sup>	0.772 ± 0.028 <sup>b</sup>	0.573 ± 0.049 <sup>b</sup>
BFT, mm	Mexican hairless	8.23 ± 0.33 <sup>a</sup>	18.50 ± 0.67 <sup>a</sup>	33.59 ± 0.95 <sup>a</sup>
	Landrace-Yorkshire	6.98 ± 0.30 <sup>b</sup>	11.64 ± 0.62 <sup>b</sup>	19.21 ± 0.88 <sup>b</sup>

<sup>ab</sup> Different letter superscripts in the same phase and the same variable indicate statistical difference between genetic groups ( $P < 0.05$ ).

\*Correspond to non-transformed values.

Cuadro 4. Medias de cuadrados mínimos  $\pm$  error estándar\* de las concentraciones séricas de insulina y leptina en cerdos Pelón Mexicano (n=12) y cerdos Landrace-Yorkshire (n=14)Table 4. Least square means  $\pm$  standard error\* for leptin and insulin serum levels in Mexican Hairless pigs (n=12) and Landrace-Yorkshire pigs (n=14)

Variable	Genetic group	Week 8	Week 12	Week 26	Week 40
Leptin	Mexican hairless	1.65 $\pm$ 0.62 <sup>a</sup>	2.64 $\pm$ 0.43 <sup>a</sup>	4.82 $\pm$ 0.50 <sup>a</sup>	5.80 $\pm$ 0.46 <sup>a</sup>
	Landrace-Yorkshire	1.453 $\pm$ 0.48 <sup>a</sup>	1.98 $\pm$ 0.41 <sup>b</sup>	3.10 $\pm$ 0.40 <sup>b</sup>	5.37 $\pm$ 0.44 <sup>a</sup>
Insulin	Mexican hairless	5.23 $\pm$ 0.50 <sup>a</sup>	18.24 $\pm$ 3.51 <sup>a</sup>	20.01 $\pm$ 2.59 <sup>a</sup>	12.73 $\pm$ 1.71 <sup>a</sup>
	Landrace-Yorkshire	4.65 $\pm$ 0.67 <sup>a</sup>	4.80 $\pm$ 0.80 <sup>b</sup>	8.39 $\pm$ 2.01 <sup>b</sup>	7.47 $\pm$ 1.00 <sup>b</sup>

<sup>ab</sup> Different letter superscripts in the same week and the same variable indicate statistical difference between genetic groups ( $P < 0.05$ ).

\*Correspond to non-transformed values.

sometieron a un análisis de varianza con un modelo de mediciones repetidas a través del tiempo, en el que se consideró el efecto de grupo genético, el efecto de la edad y las interacciones entre grupos genéticos y edad. La unidad experimental para el análisis de las concentraciones de leptina, insulina, la ganancia diaria de peso y el espesor de grasa dorsal fue el animal, mientras que para el consumo de alimento la unidad experimental fue el corral.

Se realizó un análisis de correlación para determinar si existe relación entre las concentraciones séricas de insulina y leptina con el espesor de grasa dorsal. La expresión genética de leptina, el receptor de leptina, la adiponectina y el PPAR- $\gamma$  se analizaron mediante una prueba de rangos Wilcoxon-Mann-Whitney con la finalidad de detectar diferencias entre los grupos genéticos de cerdos. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa JMP 4.0<sup>(32)</sup>.

## RESULTADOS

### *Rasgos endocrinos y de crecimiento*

El consumo de alimento fue mayor en los cerdos Landrace-Yorkshire durante las diferentes fases de crecimiento ( $P < 0.05$ ) (Cuadro 3); sin embargo, cuando el consumo fue evaluado en relación al peso corporal de los cerdos, no existieron diferencias entre los grupos genéticos. Los cerdos Landrace-Yorkshire tuvieron una mayor ganancia diaria de

all three growth phases ( $P < 0.01$ ). The Mexican hairless pigs had higher leptin ( $P < 0.05$ ) and insulin ( $P < 0.01$ ) levels than the Landrace-Yorkshire pigs (Table 4).

The correlation between leptin levels and backfat thickness in the Mexican hairless pigs was 0.73 ( $P < 0.01$ ), while in the Landrace-Yorkshire pigs was 0.75 ( $P < 0.01$ ), however only in the Mexican hairless pigs a correlation of 0.43 between insulin levels and backfat thickness was found ( $P < 0.05$ ).

### *Expression of obesity related genes*

The Mexican hairless pigs had a higher number of mRNA copies coding for leptin, leptin receptor and adiponectin ( $P < 0.05$ ) (Table 5). There were no differences between genetic groups in PPAR- $\gamma$  gen expression.

## DISCUSSION

The Mexican hairless pigs exhibits a thrifty genotype, which has been defined as a predisposition for obesity<sup>(33)</sup>, this characteristic indicates that this kind of pig can be an appropriate model for the study of obesity. In this study, both genetic groups consumed similar amounts of feed in relation to body weight, suggesting that the tendency towards obesity in the Mexican hairless pigs is not due to hyperphagia, as occurs in murine models for obesity<sup>(34)</sup>. Backfat deposition was also higher in



peso ( $P < 0.05$ ); no obstante, los cerdos Pelón Mexicano tuvieron una mayor deposición de grasa dorsal en las tres fases de crecimiento ( $P < 0.01$ ). Los cerdos Pelón Mexicano mostraron mayores concentraciones de leptina ( $P < 0.05$ ) e insulina ( $P < 0.01$ ) en comparación con los cerdos Landrace-Yorkshire (Cuadro 4).

Se observó una correlación de 0.73 entre la concentración de leptina y el espesor de la grasa dorsal en los cerdos Pelón Mexicano ( $P < 0.01$ ) y de 0.75 en los cerdos Landrace-Yorkshire ( $P < 0.01$ ); sin embargo, sólo los cerdos Pelón Mexicano mostraron una correlación de 0.43 entre la concentración de insulina y el espesor de la grasa dorsal ( $P < 0.05$ ).

*Expresión de genes asociados a la obesidad*

Los resultados de expresión genética mostraron que los cerdos Pelón Mexicano tuvieron un mayor número de copias de los RNAm que codifican para la leptina, el receptor de la leptina y la adiponectina ( $P < 0.05$ ) (Cuadro 5); sin embargo, no existieron diferencias entre grupos genéticos en la expresión genética de PPAR- $\gamma$ .

**DISCUSIÓN**

El cerdo Pelón Mexicano presenta un genotipo ahorrativo “thrifty genotype”, el cual ha sido definido como la predisposición a desarrollar obesidad<sup>(33)</sup>; este genotipo lo coloca como un modelo apropiado para el estudio de la obesidad. En el presente estudio, los dos tipos de cerdos consumieron cantidades similares de alimento en relación a su peso corporal, lo que sugiere que la obesidad que presenta el cerdo Pelón Mexicano no es debida a hiperfagia como sucede en modelos murinos de obesidad<sup>(34)</sup>. Asimismo, los resultados muestran que los cerdos Pelón Mexicano tienen una mayor capacidad para depositar grasa dorsal en comparación con los cerdos Landrace-Yorkshire, sugiriendo que mientras estos transforman el alimento prioritariamente en proteína, los cerdos Pelón Mexicano lo destinan a la deposición de grasa. Estas diferencias podrían ser resultado de diferencias en los factores genéticos que regulan el

the Mexican hairless pigs than in the Landrace-Yorkshire pigs, suggesting that in the former a substantial percentage of feed intake is transformed into backfat while in the latter priority is given to protein synthesis. These differences may result from differences in genetic factors that regulate the intermediate metabolism between the two genetic groups.

Leptin concentrations were higher in the Mexican hairless pig, this result has been also reported in obese humans<sup>(11)</sup>. The positive correlation between leptin serum concentrations and backfat thickness confirms that this hormone is an indicator of the energy reserves accumulated as triglycerides<sup>(11)</sup>. These results suggest that obesity in the Mexican hairless pigs is not a consequence of a defect in leptin homeostasis, which has been reported in monogenic murine models of obesity, where obesity is caused by the absence of this hormone<sup>(35)</sup>.

The thrifty genotype of the Mexican hairless pigs is of interest given that the hypothesis of this genotype proposes, that obesity and its metabolic complications are produced by an evolutionary adaptation to confront unpredictable food intake periods; as the result of this, genes that favors

Cuadro 5. Media y error estándar del número de copias de RNAm de los genes que codifican para leptina (Ob), receptor de leptina (Ob-R), adiponectina y receptor activado por proliferador de peroxisomas gama (PPAR- $\gamma$ ) en tejido adiposo de cerdos

Table 5. Mean and standard error for number of mRNA copies of the genes coding for leptin (Ob), leptin receptor (Ob-R), adiponectin and peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR- $\gamma$ ) in adipose tissue of Mexican hairless pigs and Landrace-Yorkshire pigs

Gene	Mexican Hairless	Landrace-Yorkshire
Ob	26.81 ± 6.44 <sup>a</sup>	12.65 ± 4.10 <sup>b</sup>
Ob-R	30.06 ± 14.11 <sup>a</sup>	5.10 ± 0.12 <sup>b</sup>
Adiponectin	584.06 ± 86.27 <sup>a</sup>	162.31 ± 112.75 <sup>b</sup>
PPAR- $\gamma$	100.79 ± 26.21 <sup>a</sup>	62.04 ± 26.27 <sup>a</sup>

<sup>ab</sup> Different letter superscripts in the same row indicate statistical difference ( $P < 0.05$ ).

metabolismo intermedio entre estos grupos genéticos.

En el presente estudio, se observó que las concentraciones de leptina son mayores en los cerdos Pelón Mexicano, lo cual también ha sido reportado en seres humanos obesos<sup>(11)</sup>. Asimismo, se observó que las concentraciones séricas de leptina tuvieron una correlación positiva con el espesor de la grasa dorsal, lo que confirma que esta hormona es un indicador de las reservas energéticas acumuladas en forma de triglicéridos en el organismo, resultados que han sido observados previamente en seres humanos<sup>(11)</sup>. Estos resultados sugieren que la obesidad que se observa en el cerdo Pelón Mexicano no es consecuencia de un defecto en la homeostasis de leptina como ha sido observado en modelos murinos de obesidad monogénica, en los cuales la obesidad es resultado de la ausencia de esta hormona<sup>(35)</sup>.

El genotipo ahorrativo que presenta el cerdo Pelón Mexicano es de interés, si se considera que la hipótesis del genotipo ahorrativo propone que la obesidad, así como sus consecuencias metabólicas son producto de una adaptación evolutiva para enfrentar periodos impredecibles de alimentación, por lo que se fijaron genes que favorecen el almacenamiento de energía en forma de grasa, la cual es utilizada en periodos de escasez alimenticia<sup>(33,36)</sup>. Sin embargo, la reducción en los periodos de penuria alimenticia propicia que los genes que en un momento fueron benéficos para la sobrevivencia se vuelvan dañinos ante los modernos estilos de vida occidental<sup>(33)</sup>; lo cual podría ser aplicado también a otro tipo de mamífero diferente al ser humano, como el cerdo.

En el presente estudio se observó una correlación positiva entre las concentraciones séricas de insulina con el espesor de la grasa dorsal en los cerdos Pelón Mexicano, sugiriendo la posible presencia de una mayor actividad lipogénica. De igual modo, se observó que los cerdos Pelón Mexicano desarrollaron hiperinsulinemia temporal a una edad temprana, lo cual es sugestivo de que pueden desarrollar resistencia a la insulina. Una posible hipótesis que puede explicar este resultado está en

energy storage in form of fat, which is used in times of food scarcity, were fixed in the populations<sup>(33,36)</sup>. However, the lack of food shortages has caused genes that were once beneficial for survival to become detrimental under the modern occidental way of life<sup>(33)</sup>. The same response could also be applied to other mammals such as the pig.

The positive correlation between insulin serum levels and backfat thickness in the Mexican hairless pigs suggests they have higher lipogenic activity. In addition, this kind of pig showed a temporary hyperinsulinemia at an early age, which suggests they can develop insulin resistance. One possible hypothesis that can explain this result is that the thrifty genotype of the Mexican hairless pigs could favor the development of hyperinsulinemia as a metabolic response to its adiposity. However, when the Mexican hairless pigs reached young adult age the hyperinsulinemia disappeared; this is important, given that obesity is commonly associated with hyperinsulinemia states. These results suggest that the Mexican hairless pig could develop an endocrine protection mechanism in response to adiposity, which controls insulin levels to avoid the development of insulin resistance.

The Mexican hairless pigs had higher expression of leptin mRNA, which has been reported in obese pigs<sup>(37)</sup>. This result may complement the leptin serum levels observed in this genetic group, in this study. The fact that leptin receptor mRNA was also expressed in the Mexican hairless pigs demonstrates that the development of obesity in the Mexican hairless pigs is similar to those observed in humans. The obesity in humans is a polygenic trait, where different genes interact to establish a molecular network that determines the obese phenotype. In this study no differences were observed between genetic groups in the expression of PPAR- $\gamma$ .

Of particular note is that adiponectin mRNA expression in adipose tissue was higher in the Mexican hairless pigs, this does not agree with previous studies that report low adiponectin mRNA expression in obese individuals<sup>(38)</sup>. Adiponectin improves glucose homeostasis in cases of insulin

función del genotipo ahorrativo del cerdo Pelón Mexicano, que pudo haber favorecido el desarrollo de hiperinsulinemia, posiblemente como una respuesta metabólica a su adiposidad; sin embargo, al llegar a la edad adulta joven la hiperinsulinemia desapareció, lo cual es importante, si se considera que la obesidad está comúnmente asociada con estadios de hiperinsulinemia. Estos resultados, podrían sugerir que los cerdos Pelón Mexicano quizás desarrollan una protección endocrina en respuesta a su adiposidad que controla las concentraciones de insulina, evitando el desarrollo de resistencia a la insulina.

En el presente estudio, se observó que los cerdos Pelón Mexicano tienen una mayor expresión de RNAs mensajeros de diferentes genes que participan en el metabolismo de lípidos. Este tipo de cerdo presentó una mayor expresión de RNAm de leptina, lo cual también ha sido reportado en cerdos obesos, en comparación con cerdos magros<sup>(37)</sup>. La expresión de RNAm del gen que codifica para la leptina, podría complementar los resultados de las concentraciones séricas de leptina observadas en este estudio. Asimismo, la expresión de RNAm del receptor de la leptina en los cerdos Pelón Mexicano, muestra que el desarrollo de su obesidad es similar a la observada en seres humanos, la cual es de origen poligénico, en donde participan diversos genes relacionados con el metabolismo energético, los cuales interactúan entre sí, estableciendo una red molecular de comunicación que determina el fenotipo obeso.

En el presente estudio no se observaron diferencias en la expresión de RNAm de PPAR- $\gamma$  entre grupos genéticos, pero un hallazgo importante, fue el haber observado una mayor expresión genética de RNAm de adiponectina en el tejido adiposo del cerdo Pelón Mexicano, resultados no coincidentes con otros trabajos, en los cuales se han reportado bajos niveles de expresión de adiponectina en individuos obesos<sup>(38)</sup>. Partiendo del hecho de que la adiponectina mejora la homeostasis de la glucosa en situaciones de resistencia a la insulina por favorecer la sensibilidad de las células a esta hormona, podríamos especular que si la producción de adiponectina es proporcional a su expresión, la

resistencia a favor cell sensitivity to this hormone. If adiponectin production is proportional to its mRNA expression then it is possible that in the Mexican hairless pigs it could be the endocrine protector that controls hyperinsulinemia states, avoiding the development of insulin resistance, and consequently the appearance of type-2 diabetes.

## CONCLUSIONS AND IMPLICATIONS

Compared to Landrace-Yorkshire pigs, the Mexican hairless pigs have a greater capacity for backfat deposition; the increased adiposity of this pig is related to leptin and insulin serum levels. The Mexican hairless also exhibits higher expression of obesity-related genes such as leptin, leptin receptor and adiponectin. Therefore, this pig could be a more appropriate model for the study of human obesity than the Landrace-Yorkshire pigs.

## ACKNOWLEDGEMENTS

To Pablo Enrique Domínguez-López for assistance with the real time PCR technique, and Clara Murcia-Mejía for assistance with the RIA technique.

*End of english version*

---

adiponectina podría ser un protector endocrino en el cerdo Pelón Mexicano que controla los estadios de hiperinsulinemia, evitando el desarrollo de la resistencia a la insulina, y por ende el de diabetes tipo 2.

## CONCLUSIONES E IMPLICACIONES

Los cerdos Pelón Mexicano tienen una mayor capacidad para depositar grasa dorsal; en comparación con los cerdos Landrace-Yorkshire. Este aumento en la adiposidad está relacionado con las concentraciones séricas de leptina e insulina. Asimismo, presentan una mayor expresión génica de genes que se relacionan con la obesidad como: la leptina, el receptor de leptina y la adiponectina.

Por lo que el cerdo Pelón Mexicano, puede ser, un modelo de estudio más apropiado para la obesidad humana, de lo que serían los cerdos Landrace-Yorkshire.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece al M en B.E. Pablo Enrique Domínguez López por su apoyo técnico en la realización de la técnica PCR de tiempo real y a la MVZ Clara Murcia Mejía por su apoyo en la realización de la técnica de RIA.

## LITERATURA CITADA

- Bhathena SJ, Berlin E, Johnson WA. The minipig as a model for the study of aging in humans: selective responses of hormones involved in carbohydrate and lipid metabolism in different sexes. In: *Advances in swine in biomedical research*. Tumbleson ME, Schook LB editors. New York, USA: Plenum Press; 1996(2):571-580.
- Kues WA, Niemann H. The contribution of farm animals to human health. *Trends Biotech* 2004;(22)6:286-294.
- Lemus-Flores C, Ulloa-Arvizu R, Ramos-Kuri M, Estrada FJ, Alonso RA. Genetic analysis of Mexican hairless pig populations. *J Anim Sci* 2001;79:3021-3026.
- Flores JA. Síntesis histórica y breve análisis de la especie porcina en la República Mexicana. *El libro azul para el médico veterinario*. Química Hoechst de México. 1970.
- WHO. World Health Organization. *Life in the 21<sup>st</sup> Century: a vision for all*. The World Health Rep. Geneva Switzerland: WHO. 1998.
- Friedman JM. Obesity in the new millennium. *Nature* 2000;404:632-634.
- Arner P. Obesity a genetic disease of adipose tissue?. *Br J Nutr* 2000;83:9S-16S.
- Hirsch J, Hudgins LC, Leiber RL, Rosenbaum M. Diet composition and energy balance in humans. *Anim J Clin Nutr* 1998;67:551-555.
- Campfield LA, Smith JF, Burn P. Strategies and potential molecular targets for obesity treatment. *Science* 1998;280:1383-1387.
- Simón E, Del Barrio AS. Leptina y obesidad. *ANALES Sis Navarra* 2002;25 (Suppl 1):53-64.
- Considine RV, Shina MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Baue TL, Caro JF. Serum immunoreactive leptin concentrations in normal weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996;334:292-295.
- Spurlock ME, Frank GR, Cornelius SG, Ji S, Willis GM, Bidwell CA. Obese gene expression in porcine adipose tissue is reduced by food deprivation but not by maintenance or submaintenance intake. *J Nutr* 1998;128:677-128682.
- Robert C, Palin M-F, Coulombe N, Roberge C, Silversides FG, Benkel BF, McKay, RM, Pelletier G. Backfat thickness in pigs is positively associated with leptin mRNA levels. *Can J Anim Sci* 1998;78:473-482.
- Friedman JM, Halas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 1998;395:763-770.
- Clement K, Vaisse C, Lahlou N, Cabrol S, Pelloux V, Cassuto D, et al. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature* 1998;392:398-401.
- Palou A, Pico C. Obesidad y alimentación: nuevos genes de neuropéptidos orexígenos y anorexígenos en el SNC. *Nutr Clin* 1998;18:21-30.
- Tartaglia LA. The leptin receptor. *J Biol Chem* 1997;272(10):6093-6096.
- Finn PD, Cunningham MJ, Pau KY. The stimulatory effect of leptin on the neuroendocrine reproductive axis in the monkey. *Endocrinology* 1998;139:4652-4662.
- Lawrence VJ, Coppack SW. The endocrine function of the fat cell-regulation by the sympathetic nervous system. *Horm Metab Res* 2000;32:453-467.
- Berg AH, Combs TP, Du X, Brownlee M, Scherer PE. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med* 2001;7:947-953.
- Lord E, Ledoux S, Murphy BD, Beaudry D, Palin M.F. Expression of adiponectin and its receptors in swine. *J Anim Sci* 2005;83:565-578.
- Fontana E, Boucher J, Marti L, Lizcano JM, Testar X, Zorzano A, Carpe C. Amine oxidase substrates mimic several of the insulin effects on adipocyte differentiation in 3T3 F442A cells. *Biochem J* 2001;356:769-777.
- Foretz M, Guichard C, Ferré P, Foufelle F. Sterol regulatory binding element binding protein-1c is a major mediator of insulin action on the hepatic expression of glucokinase and lipogenesis-related genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:12737-12742.
- Rosen ED, Spiegelman BM. PPAR gamma: a nuclear regulator of metabolism, differentiation, and cell growth. *J Biol Chem* 2001;276:37731-37734.
- Tontonoz P, Hu E, Spiegelman BM. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPARγ2, a lipid-activated transcription factor. *Cell* 1994;79:1147-1156.
- Kopelman PG. Obesity as a medical problem. *Nature* 2000;404:635-643.
- Wolk A, Gridley G, Svensson M, Nyren O, McLaughlin JK, Fraumeni JF, Adam HO. A prospective study of obesity and cancer risk (Sweden). *Cancer Causes Control* 2001;12(1):13-21.
- Bray GA. Medical consequences of obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:2583-2589.
- NRC. *Nutrient requirements of swine*. 10th ed. Washington DC: National Academy Press; 1998.
- Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidine thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 1987;162:156-159.
- Garcia JR, Krause A, Schulz S, Rodriguez-Jimenez FJ, Kluver E, Adermann K, et al. Human beta-defensin 4: a novel inducible peptide with a specific salt-sensitive spectrum of antimicrobial activity. *The Faseb J* 2001;15:1819-1821.
- JMP. *Statistic Guide, Version 4.0.4*. SAS Institute, Inc, Cary, NC. 2002.
- Neel JV. The "thrifty genotype" in 1998. *Nutr Rev* 1999;57:S2-S9.

## CARACTERÍSTICAS ASOCIADAS A LA OBESIDAD DEL CERDO PELÓN MEXICANO

34. Campfield LA. Central mechanisms responsible for the actions of OB protein (leptin) on food intake, metabolism and body energy storage. *Front Horm Res* 2000;26:12-20.
35. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopole L, Friedman F. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994;372:425-432.
36. Neel JV. Diabetes mellitus: a thrifty genotype rendered detrimental by 'progress'? *Am J Hum Genet* 1962;14:353-362.
37. McNeel RL, Ding ST, Smith EO, Mersmann HJ. Effect of feed restriction on adipose tissue transcript concentrations in genetically lean and obese pigs. *J Anim Sci* 2000;78:934-942.
38. Yang WS, Lee WJ, Funahashi T, Tanaka S, Matsuzawa Y, Chao CL, Chen CL, Tai TY, Chuang LM. Weight reduction increases plasma levels of an adipose-derived anti-inflammatory protein, adiponectin. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:385-389.



