

Original

Estudio *in vivo* de la oxidación mitocondrial en pacientes obesos tratados mediante restricción calórica

M.^a D. Parra, B. E. Martínez de Morentín, S. Pérez, M.^a C. Rodríguez y J. Alfredo Martínez

Departamento de Fisiología y Nutrición. Universidad de Navarra. Pamplona. España.

Resumen

La restricción calórica es la terapia nutricional más frecuente en el tratamiento de la obesidad, cuya eficacia depende de la respuesta oxidativa del organismo para evitar la modificación del peso corporal. En este contexto, el objetivo del presente trabajo fue examinar *in vivo* la oxidación mitocondrial de voluntarios obesos, antes y después de adelgazar, utilizando el test en aliento con 2-ceto[1-¹³C]isocaproato. El estudio se realizó en 32 voluntarios de ambos sexos: 16 controles (índice de masa corporal: 19,0-27,0 kg/m²), y 16 obesos (índice de masa corporal: 30,0-41,6 kg/m²) que siguieron un período de restricción calórica (-500 kcal) durante 10 semanas. El test con 2-ceto[1-¹³C]isocaproato se realizó antes y después del tratamiento, a partir de la ingestión de 1 mg/kg de trazador y 20 mg/kg de L-leucina, disueltos en 200 mL de zumo de naranja. Antes y después de la ingestión (cada 10 minutos durante 2 horas), se tomaron muestras de aliento en las que se midió el enriquecimiento en ¹³C mediante espectrometría de masas de relación isotópica. A partir de estas determinaciones se calculó el porcentaje de trazador oxidado en las mitocondrias (%¹³C). Los obesos tendieron a oxidar un porcentaje menor de trazador que los controles (25,1 ± 5,5% vs 27,5 ± 4,0% p = 0,175). Tras el período de intervención, la pérdida de peso medio fue -7,8 ± 3% (p < 0,001), y se acompañó de un aumento significativo en la oxidación del trazador (25,1 ± 5,5% vs 34,3 ± 5,2% p < 0,001). De hecho, el peso corporal y el porcentaje de 2-ceto[1-¹³C]isocaproato oxidado fueron inversamente proporcionales (r = -0,34, p = 0,018). Por tanto, el test en aliento con 2-ceto[1-¹³C]isocaproato detectó *in vivo* la adaptación de la oxidación mitocondrial en obesos tratados mediante restricción calórica, ofreciendo una información complementaria sobre la pérdida de peso.

(Nutr Hosp 2004, 19:269-277)

Palabras clave: Obesidad. Mitocondria. Oxidación. Adelgazar. Isótopos estables. Aliento.

Correspondencia: Prof. J. Alfredo Martínez Hernández
Edificio de Investigación
Irunlarrea, 1
31008 Pamplona
E-mail: jalfmtz@unav.es

Recibido: 22-I-2004.
Aceptado: 22-II-2004.

IN VIVO STUDY OF MITOCHONDRIAL OXIDATION IN OBESE PATIENTS TREATED BY MEANS OF CALORIE RESTRICTION

Abstract

The energy restriction is the most common nutritional approach to treat obesity, whose efficiency depends on oxidative response against changes in body weight. In that context, the aim of the present work was to *in vivo* examine the mitochondrial oxidation of obese volunteers by the 2-keto[1-¹³C]isocaproate breath test, before and after weight loss.

Thirty-two volunteers (men and women) participated: 16 controls (body mass index: 19.0-27.0 kg/m²), and 16 obese (body mass index: 30.0-41.6 kg/m²) who followed a caloric restriction program for 10 weeks (-500 kcal). Before and after dieting, the 2-keto[1-¹³C]isocaproate breath test was performed by ingestion of 1 mg/kg tracer and 20 mg/kg L-leucine, dissolved in 200 ml orange juice. Breath samples were recovered at baseline and at 10 min intervals for 2 h after ingestion. The ¹³C-enrichment in breath was measured by isotope ratio mass spectrometry and the percentage of mitochondrial oxidation of tracer (%¹³C) was calculated.

The percentage of oxidized tracer marginally tended to be lower in obese than in controls (25.1 ± 5.5%, vs 27.5 ± 4.0%, p = 0.175). After the intervention, the mean of weight loss was -7.8% ± 3% p < 0.001, and the mitochondrial oxidation of the tracer statistically increased (25.1 ± 5.5% vs 34.3 ± 5.2%, p < 0.001). In fact, the body weight and the percentage of oxidized 2-ceto[1-¹³C]isocaproate were inversely related (r = -0.34, p = 0.018).

Thus, the 2-keto[1-¹³C]isocaproate *in vivo* showed the mitochondrial adaptation of obese volunteers treated by caloric-restriction intake and provided new information about the weight loss process induced by an hypocaloric diet.

(Nutr Hosp 2004, 19:269-277)

Key words: Obesity. Mitocondria. Oxidation. Weight-loss. Stable isotopes. Breath test.

Introducción

La obesidad es un importante problema de salud pública¹ cuya prevalencia sigue una tendencia ascendente² tanto en la población adulta³ como en la infantil⁴. Además de tratarse de una enfermedad crónica, la obesidad constituye un factor de riesgo asociado a otras patologías, a su vez de prevalencia relevante, como son la hipertensión⁵, la enfermedad cardiovascular⁶, la diabetes mellitus tipo 2⁷ o el cáncer⁸. De hecho, se ha estimado que los pacientes obesos suponen un coste en cuidados médicos superiores en un 36% a los pacientes con un índice de masa corporal entre 20 kg/m² y 25 kg/m². Estos datos justifican la importancia de investigar nuevas pautas terapéuticas, tanto nutricionales¹⁰ como farmacológicas¹¹, y quirúrgicas¹², así como el desarrollo de estrategias de educación y promoción para la salud¹³, que fomenten un estilo de vida saludable con el fin de dificultar el aumento de la prevalencia¹⁴.

Estudios previos han demostrado que la disminución del peso corporal en un 5% implica una reducción significativa del riesgo de desarrollar las complicaciones asociadas a la obesidad¹⁵. Aunque esta pérdida de peso es relativamente pequeña, la restricción energética en la dieta se acompaña de una respuesta del organismo que se opone a la modificación del peso corporal¹⁶. En esta adaptación metabólica existe una asociación entre la pérdida de masa grasa y mecanismos compensatorios que operarían sobre la ingesta y la termogénesis¹⁷, con la implicación de factores neuroendocrinos, como los receptores $\beta 3$ adrenérgicos, la insulina y las hormonas tiroideas¹⁸, y la participación de proteínas mitocondriales^{19,20}, entre otros factores. Por tanto, la elección óptima del tratamiento a utilizar en cada caso, y el diseño de la dieta hipocalórica a emplear²¹, requiere pruebas diagnósticas que aporten la máxima información sobre el metabolismo energético de los pacientes obesos²². El desarrollo de técnicas de marcaje con isótopos estables ha permitido realizar estudios metabólicos *in vivo* de manera inocua, y el elevado número de procesos metabólicos en los que se produce CO₂ ha potenciado el diseño de métodos que utilizan ¹³C como trazador²². Entre éstos, el test en aliento con 2-ceto[1-¹³C]isocaproato se ha propuesto como una prueba que podría ser de utilidad en la exploración de la oxidación mitocondrial, a partir de la medida del enriquecimiento en ¹³C del aliento tras la ingestión del trazador²³.

Dado que la obesidad es el resultado de un desequilibrio del balance energético, y que el test en aliento con 2-ceto[1-¹³C]isocaproato estima un proceso de oxidación mitocondrial, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la aplicación de esta prueba para estudiar *in vivo* el metabolismo oxidativo mitocondrial de pacientes obesos tras adelgazar mediante dos dietas hipocalóricas con distinto contenido en macronutrientes.

Material y métodos

Sujetos

El estudio se llevó a cabo en 32 voluntarios de edad entre 21 y 57 años. Entre éstos, se encontraron ocho hombres obesos con un índice de masa corporal entre 30,2 y 41,6 kg/m², y ocho mujeres obesas con un índice de masa corporal entre 30,0 y 41,6 kg/m². Además, ocho hombres con un índice de masa corporal entre 19,5 y 27,0 kg/m², y ocho mujeres con un índice de masa corporal entre 19,0 y 26,9 kg/m², constituyeron el grupo control.

La inclusión de los voluntarios fue realizada por un facultativo del Departamento de Fisiología y Nutrición, a partir de los datos obtenidos mediante historia clínica, historia dietética, exploración física y análisis hematológicos y bioquímicos de rutina.

Todos los voluntarios dieron por escrito su consentimiento informado para ser incluidos en el presente proyecto de investigación, de acuerdo con la Declaración de Helsinki, el cuál fue previamente aprobado por el Comité Ético de la Universidad de Navarra.

Diseño experimental

Los voluntarios incluidos en el estudio fueron citados en el Departamento de Fisiología y Nutrición de la Universidad de Navarra a primera hora de la mañana (8:00 a.m.), en estado postabsortivo de 12 horas (día 0), y se les realizó una calorimetría indirecta durante 30 minutos para estimar el gasto energético en reposo. Una vez finalizadas estas determinaciones, se llevó a cabo el test en aliento con 2-ceto[1-¹³C]isocaproato, según el protocolo establecido^{25,26}. La prueba duró dos horas durante las cuales una nutricionista del Departamento diseñó la dieta hipocalórica a seguir según los datos de gasto energético de los voluntarios.

Los sujetos incluidos en el grupo control no siguieron dieta alguna, finalizando aquí su participación, mientras que el test en aliento con 2-ceto[1-¹³C]isocaproato se repitió en los voluntarios obesos una vez finalizado el período de intervención nutricional (día 70).

Intervención dietética

Los dos grupos de voluntarios obesos siguieron una intervención nutricional de reducción de peso mediante una dieta hipocalórica equilibrada (ocho voluntarios) o mediante una dieta hipocalórica hiperproteica moderada (ocho voluntarios). Los voluntarios fueron controlados para que no realizaran ejercicio extra durante el período de intervención.

La dieta hipocalórica equilibrada presentó una distribución energética de macronutrientes de 55% para carbohidratos, 15% para proteínas y 30% para lípidos, y la dieta hiperproteica moderada, 40% para carbohidratos, 30% para proteínas y 30% para lípidos, respectivamente. El tratamiento dietético fue individualizado para cada voluntario, de manera que la restricción calórica fue de 500 kcal respecto al gasto energético en reposo de-

terminado para cada individuo mediante calorimetría indirecta y que se mantuvo durante las 10 semanas que duró la intervención dietética. La pérdida de peso y la adherencia a la dieta se controlaron semanalmente.

Estimación del gasto energético en reposo mediante calorimetría indirecta

Los voluntarios llegaron al Departamento de Fisiología y Nutrición de la Universidad de Navarra sin haber ingerido alimento alguno ni bebidas alcohólicas desde las 22:00 horas del día anterior, y sin que realizaran ningún tipo de ejercicio intenso en las 24 horas anteriores a la prueba. El día de la exploración limitaron al máximo tanto la ingesta de agua como su actividad física, acudiendo a la Universidad de Navarra en un medio de transporte motorizado, evitando caminar y utilizando ascensor para acceder al Departamento de Fisiología y Nutrición. El intercambio gaseoso se midió de manera continua durante 30 minutos mediante un calorímetro de circuito abierto automatizado (Deltatrac, Datex-Ohmeda, Finlandia), utilizando un sistema de canopia ventilada y tras una calibración realizada mediante la detección de la composición del aire de la estancia frente a una mezcla gaseosa estándar de oxígeno (95%) y dióxido de carbono (5%) en nitrógeno (Datex-Ohmeda, Finlandia). El gasto energético en reposo se calculó mediante ecuaciones validadas²⁷, a partir del volumen de oxígeno y de dióxido de carbono medidos.

Protocolo y parámetros del test en aliento con 2-ceto[1-¹³C]isocaproato

Los voluntarios realizaron el test en aliento con 2-ceto[1-¹³C]isocaproato de acuerdo con el protocolo descrito por otros autores^{25,26}. Tras una noche de ayuno, los voluntarios, que estuvieron en estado de reposo durante 15 minutos previos y durante todo el desarrollo de la prueba, recibieron 1 mg/kg de trazador 2-ceto[1-¹³C]isocaproate sodium salt, Cambridge Isotopes Lab., EE.UU.) y 20 mg/kg de peso de L-leucina USP (Sigma-Aldrich Chemical, España) disueltos en 200 mL de zumo de naranja comercial. Las muestras de aliento se recogieron en tubos Exetainer (Labco, GB) mediante exhalación antes y cada 10 minutos después de la ingestión del zumo prueba durante un período de tiempo de dos horas.

El enriquecimiento en ¹³C de las muestras de aliento se determinó mediante espectrometría de masas de relación isotópica (BreathMAT plus, Finnigan, Alemania). Los resultados obtenidos mediante esta técnica se expresan mediante el valor $\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}} (\%)$ ^{28,29}. Este valor se convierte en el porcentaje de ¹³C administrado que se recoge en el aliento en la unidad de tiempo ($\%^{13}\text{C}/\text{h}$)^{28,29}. La curva que representa la evolución temporal de estos datos transformados se analizó con el fin de obtener los parámetros característicos que describen el proceso de oxidación (fig. 1): porcentaje de trazador oxidado o área bajo la curva (AUC, $\%^{13}\text{C}$), velocidad máxima de oxidación (D_{max} , $\%^{13}\text{C}/\text{h}$) y

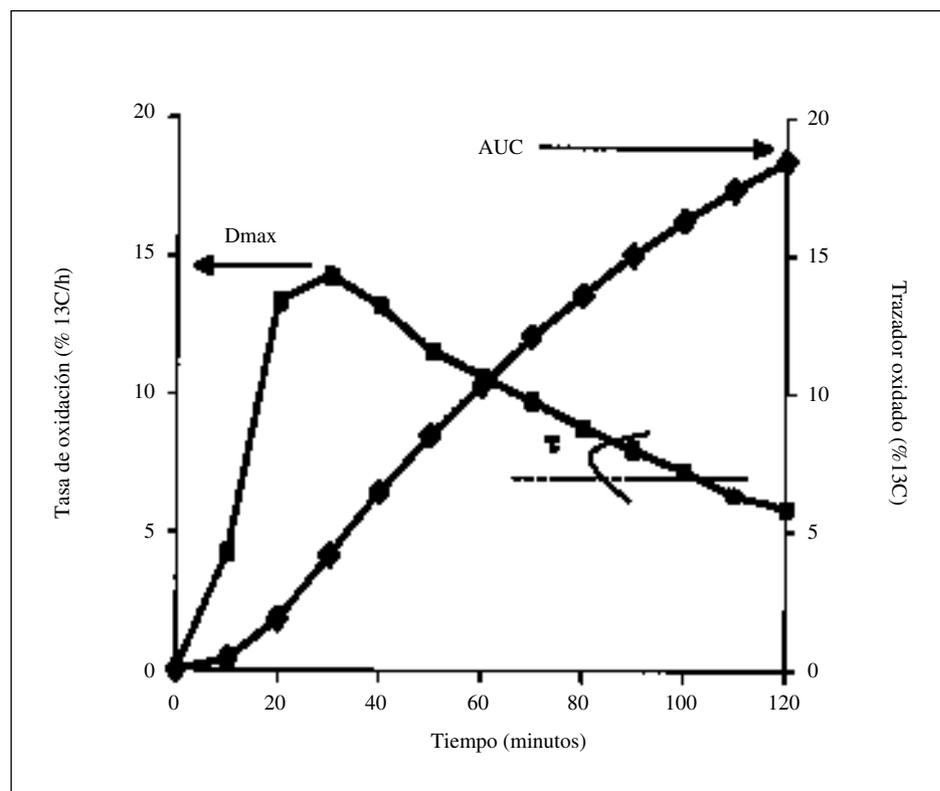


Fig. 1.—Parámetros que describen el proceso de oxidación obtenidos a partir del test en aliento con 2-ceto[1-¹³C]isocaproato: porcentaje de trazador oxidado o área bajo la curva de oxidación (AUC), tasa máxima de oxidación (D_{max}) y constante de velocidad (τ).

constante de velocidad (τ , minutos⁻¹). El porcentaje de 2-ceto[1-¹³C]isocaproato oxidado se calculó mediante el método trapezoidal y la constante de velocidad mediante cálculos farmacocinéticos habituales³⁰, como la pendiente de la última porción lineal de la curva que describe la evolución temporal de la tasa de oxidación.

Tratamiento estadístico de los datos

El estudio comparativo de los datos se realizó mediante estadística no paramétrica teniendo en cuenta la expresión en porcentaje de los parámetros de oxidación (%¹³C). Las correlaciones entre variables se analizaron mediante el test de Spearman. El ajuste del parámetro gasto energético en reposo por el índice de masa corporal se realizó mediante análisis de regresión. El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS 11.0 para Windows 98 (Microsoft, EE.UU.).

Resultados

Los parámetros obtenidos mediante calorimetría indirecta tendieron a ser mayores en el grupo de voluntarios con obesidad respecto a los control (tabla I). De hecho, la producción de CO₂ (tabla I), fue significativamente mayor en los obesos tanto en el grupo de mujeres (p = 0,001), como en el de los hombres (p = 0,002). El gasto energético en reposo también alcanzó

significación estadística (p = 0,015) en cuanto a las diferencias asociadas al estado de obesidad en el grupo de los hombres (tabla I).

Los parámetros de oxidación obtenidos a partir del test en aliento con 2-ceto[1-¹³C]isocaproato no presentaron diferencias significativas (p > 0,05) entre los hombres y las mujeres incluidos en el grupo control, ni tampoco en el grupo de los voluntarios obesos. Sin embargo, el estado de obesidad implicó una tendencia estadística (p < 0,10) hacia una menor capacidad de oxidación mitocondrial del trazador (tabla I).

Teniendo en cuenta globalmente los voluntarios del grupo control y los obesos antes de la intervención nutricional, el porcentaje de trazador oxidado se correlacionó significativamente a través de una asociación de signo negativo con el peso (r = -0,48, p = 0,005) y con el índice de masa corporal (r = -0,43, p = 0,014). Este modelo de correlación negativa respecto a la oxidación mitocondrial del cetoadido, también se observó con el consumo de oxígeno (r = -0,41, p = 0,031), con la eliminación de dióxido de carbono (r = -0,38, p = 0,048), y con el gasto energético en reposo (r = -0,37, p = 0,037), y resultó marginalmente significativo cuando el gasto energético en reposo se ajustó por el índice de masa corporal (r = -0,32, p = 0,078).

El peso corporal inicial también se asoció inversamente con la velocidad máxima de oxidación de 2-ceto[1-¹³C]isocaproato (r = -0,48, p = 0,006) y con la constante de velocidad (r = -0,353, p = 0,048). Ade-

Tabla I
Estudio in vivo del metabolismo energético mediante calorimetría indirecta y de la oxidación mitocondrial mediante el test en aliento con 2-ceto[1-¹³C]isocaproato

Parámetros	Controles		Obesos	
	Mujeres (n = 8)	Hombres (n = 8)	Mujeres (n = 8)	Hombres (n = 8)
Peso (kg)	61 (56-64)	72 (63-83)	85 (82-93)*	102 (99-121)
Índice de masa corporal (kg/m ²)	20,9 (19,6-22,9)	23,0 (20,3-25,8)	34,1 (30,7-39,3)*	34,9 (32,2-39,9)*
Volumen de O ₂ (mL/min)	0,205 (0,195-0,207)	0,190 (0,170-0,197)	0,259 (0,244-0,285)	0,285* (0,271-0,316)
Volumen de CO ₂ (mL/min)	0,168 (0,161-0,183)	0,213 (0,189-0,235)	0,206* (0,192-0,230)	0,237* (0,235-0,267)
Cociente respiratorio (VO ₂ /VCO ₂)	0,87 (0,80-0,94)	0,88 (0,85-0,92)	0,81 (0,77-0,82)	0,84 (0,81-0,87)
Gasto energético en reposo (kcal/d)	1.413 (1.378-1.461)	1.475 (1.347-1.590)	1.807 (1.686-1.978)	1.990* (1.900-2.200)
Porcentaje de trazador oxidado (% ¹³ C)	28,1 (24,8-33,0)	25,5 (19,3-31,2)	25,3 (24,0-27,4)	21,8 (21,6-29,9)
Velocidad máxima de oxidación (% ¹³ C/h)	22,1 (20,5-30,5)	21,7 (15,8-28,4)	21,7 (14,4-26,8)	17,9 (15,3-25,9)
Constante de velocidad (min ⁻¹)	0,323 (0,255-0,401)	0,321 (0,236-0,534)	0,243 (0,215-0,304)	0,235 (0,166-0,278)

Los datos se expresan con la mediana junto con los percentiles 25 y 75. El asterisco indica diferencias significativas (p < 0,05) entre el grupo de obesos y el grupo control del mismo sexo.

más, el índice de masa corporal se correlacionó negativamente con la velocidad máxima de oxidación ($r = -0.42$, $p = 0,017$), mientras que la constante presentó asociaciones significativas con el consumo de oxígeno ($r = -0,50$, $p = 0,007$) y con el gasto energético en reposo ($r = -0,49$, $p = 0,004$).

La pérdida de peso (mediana: $-8,0\%$; percentil 25: $10,5\%$; percentil 75: $-4,7\%$, $p < 0,001$) fue evidente tras el período de restricción calórica mediante las dos dietas hipocalóricas empleadas: equilibrada e hiperproteica moderada (fig. 2). El porcentaje de pérdida de peso mediante la dieta equilibrada fue de $8,1\%$ (percentil 25: $4,7\%$; percentil 75: $10,9\%$), mientras que el porcentaje de pérdida de peso mediante la dieta hiperproteica moderada fue de $8,0\%$ (percentil 25: $5,2\%$; percentil 75: $9,1\%$). De hecho, la eficacia de ambas dietas sobre la situación ponderal fue similar ($p = 0,798$), estimada como el porcentaje de pérdida de peso.

Tras el adelgazamiento de los voluntarios, el test en aliento con 2-ceto[1- ^{13}C]isocaproato evidenció una

mayor oxidación mitocondrial (fig. 2). El incremento registrado en los índices de oxidación fue similar en ambos grupos de intervención ($p = 0,645$ para el porcentaje de trazador oxidado; $p = 0,349$ para la tasa máxima de oxidación; $p = 0,773$ para la constante de velocidad). Teniendo en cuenta a todos los sujetos intervenidos ($n = 16$), el porcentaje de 2-ceto[1- ^{13}C]isocaproato aumentó ($p < 0,001$) un $5,4\%$ (percentil 25: $2,9\%$; percentil 75: $6,8\%$), y la velocidad máxima de oxidación, aumentó ($p < 0,001$) un $5,9\%$ (percentil 25: $2,7\%$; percentil 75: $10,3\%$). La constante de velocidad no se modificó significativamente ($p = 0,139$).

Considerando los resultados obtenidos en los voluntarios obesos ($n = 16$), el porcentaje de trazador oxidado se correlacionó negativamente con el peso corporal antes ($r = -0,51$; $p = 0,043$) y después ($r = -0,50$; $p = 0,046$) de la pérdida de peso. Esta asociación se mantuvo estadísticamente significativa ($r = -0,34$, $p = 0,018$) cuando se analizaron todos los voluntarios estudiados ($n = 48$), tanto los delgados, como los obesos antes y después de la pérdida de peso (fig. 3).

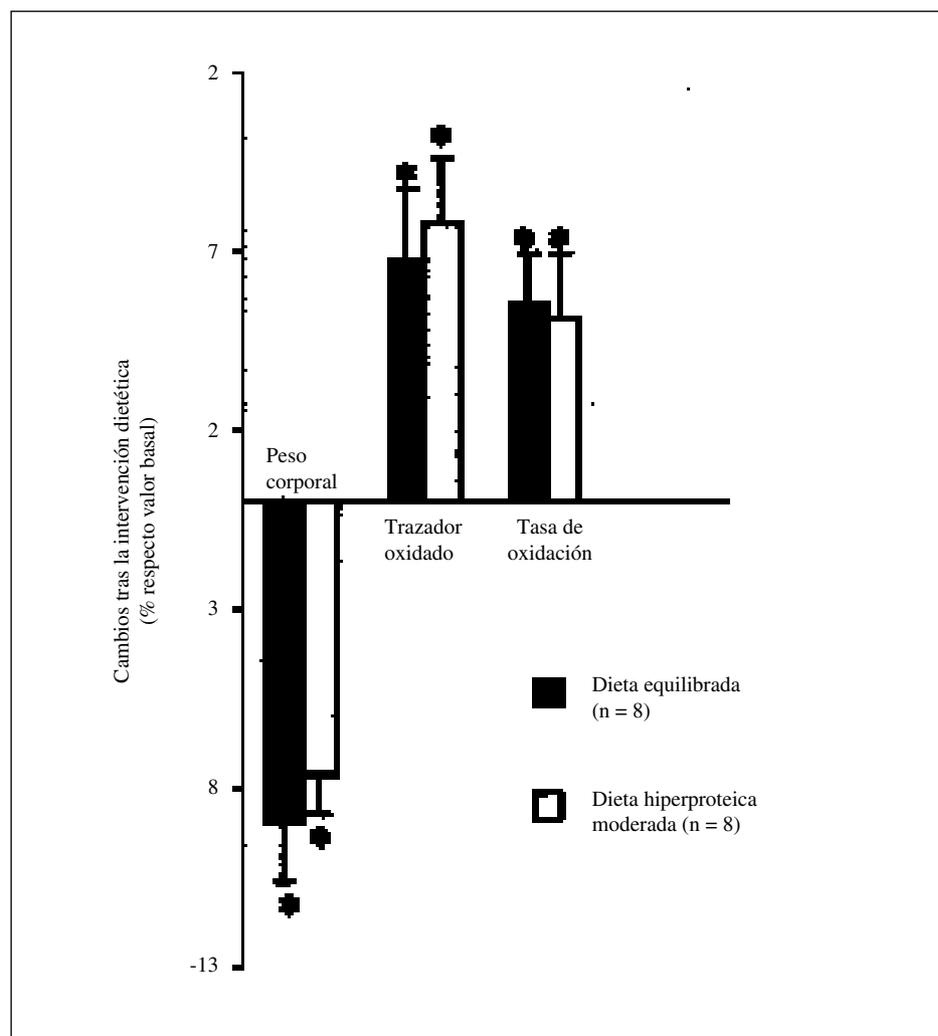


Fig. 2.—Cambios en la oxidación mitocondrial detectados in vivo mediante el test de aliento con 2-ceto[1- ^{13}C]isocaproato en el grupo de voluntarios obesos que perdieron peso tras un período de restricción calórica mediante una dieta equilibrada o hiperproteica moderada. El asterisco indica cambios estadísticamente significativos ($p < 0,05$) tras la intervención dietética.

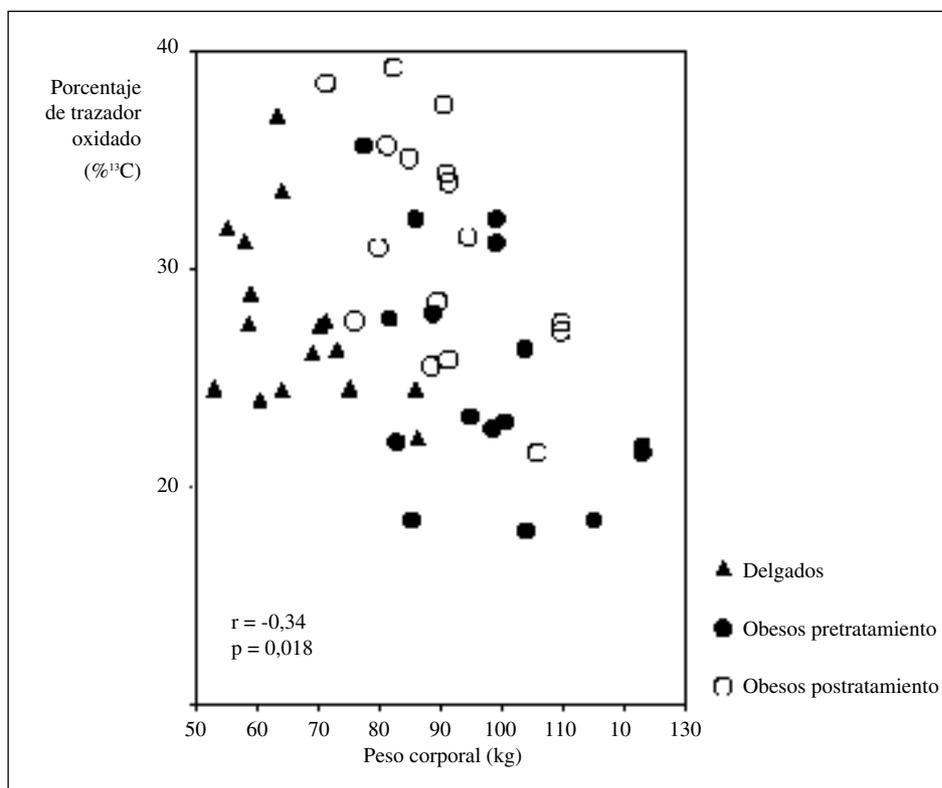


Fig. 3.—Relación presente entre el porcentaje de oxidación mitocondrial y el peso corporal de los voluntarios delgados y obesos antes (pretratamiento) y después (postratamiento) del período de restricción calórica.

Discusión

La eficacia de las dietas de adelgazamiento empleadas para tratar la obesidad se basan en que la restricción de la ingesta calórica moviliza las reservas energéticas y disminuye el contenido en grasa del organismo¹⁰. Sin embargo, el metabolismo se opone a la modificación del peso corporal mediante una respuesta de ahorro energético¹⁶, en la que participa la función mitocondrial^{19,20}. Según estos hechos, el objetivo del presente trabajo fue explorar *in vivo* la oxidación mitocondrial de voluntarios obesos, antes y después de adelgazar mediante restricción calórica en la dieta, utilizando el test en aliento con 2-ceto[1-¹³C]isocaproato.

El metabolismo energético en reposo de los voluntarios obesos se estimó mediante calorimetría indirecta y se comparó con un grupo de voluntarios control, ya que se ha propuesto que la existencia de un gasto energético bajo, junto con una disminución en la capacidad de oxidación de las grasas, son factores que predisponen a la ganancia de peso³¹. Sin embargo, en los grupos estudiados no se encontraron diferencias significativas, lo que concuerda con las conclusiones de un meta-análisis que incluyó trabajos publicados desde 1966 hasta 1997³². Según este estudio, el gasto energético en reposo ajustado por la composición corporal en los sujetos obesos suele ser entre un 3% y un 5% menor que en los sujetos delgados, aunque estas diferencias pueden no llegar a ser apreciables si el número de los sujetos estudiados de ambos grupos es bajo³².

Por otro lado, un gran número de factores influyen en el metabolismo energético³¹, así como en la regulación de la actividad deshidrogenasa de cetoácidos de cadena ramificada³³. Este complejo enzimático mitocondrial descarboxila el 2-ceto[1-¹³C]isocaproato^{33,34} e incrementa los niveles de ¹³C eliminado por vía pulmonar³⁵. Por tanto, el gasto energético en reposo y la oxidación de 2-ceto[1-¹³C]isocaproato comparten la implicación de la función mitocondrial, ya que participa directamente en procesos energéticos y en la descarboxilación oxidativa del cetoácido. Esta conexión hace probable la existencia de factores que participen en la regulación del gasto energético en reposo y en la oxidación de 2-ceto[1-¹³C]isocaproato²⁶. De acuerdo con esta hipótesis, los resultados obtenidos mostraron una asociación de signo negativo entre el gasto energético en reposo, determinado por calorimetría indirecta, y la oxidación mitocondria estimada mediante el test en aliento con 2-ceto[1-¹³C]isocaproato.

Teniendo en cuenta la complejidad de la regulación de estos procesos, se evaluó la posibilidad de que el test en aliento con 2-ceto[1-¹³C]isocaproato reflejase alguna modificación en la función mitocondrial tras un período de restricción de la ingesta calórica. Así, el test se realizó de nuevo con el grupo de voluntarios obesos una vez que finalizaron un tratamiento nutricional de adelgazamiento mediante dos dietas hipocalóricas con distinto contenido en macronutrientes.

La eficacia de las dietas utilizadas fue similar en cuanto a la pérdida de peso, y en el efecto que ejer-

cieron sobre la oxidación mitocondrial del trazador, que aumentó tras la intervención. De hecho, el peso corporal y el porcentaje de trazador oxidado fueron inversamente proporcionales, tanto antes de la dieta como una vez que los voluntarios perdieron peso. Diversos estudios han mostrado una asociación entre la modificación del peso corporal y el metabolismo energético^{15,36}, de manera que el adelgazamiento se acompaña de una disminución en el consumo de energía³¹. De acuerdo con esta afirmación, la restricción calórica en la dieta ejerció el efecto esperado sobre la composición corporal³⁷, mientras que el test en aliento con 2-ceto[1-¹³C]isocaproato fue capaz de detectar la implicación de la función mitocondrial en este proceso metabólico³⁸, ya que la oxidación del cetoácido fue mayor (%¹³C) y más rápida (%¹³C/h) tras el adelgazamiento. Por tanto, el test en aliento con 2-ceto[1-¹³C]isocaproato reflejó una respuesta oxidativa mitocondrial, probablemente relacionada con los cambios acaecidos en la composición corporal, como sugiere la relación inversa presente entre el peso de los voluntarios y la oxidación del trazador (fig. 3).

De manera similar, se ha descrito que la oxidación de 2-ceto[1-¹³C]isocaproato aumenta tras la administración de salicilatos²⁵. El efecto desacoplante del xenobiótico aumenta la relación NAD⁺/NADH, pudiendo activar así la actividad del complejo enzimático encargado de la oxidación del trazador³⁵. En el caso del adelgazamiento de los obesos, la respuesta del organismo implica la participación de factores que activarían la oxidación de 2-ceto[1-¹³C]isocaproato. Esta hipótesis es acorde con la asociación propuesta entre la pérdida de masa grasa y ciertos mecanismos neuroendocrinos compensatorios que operan mediante la ingesta y la termogénesis¹⁷⁻²⁰, y mediante la participación de proteínas mitocondriales con actividad desacoplante^{19,20,39}. Por tanto, el aumento en la oxidación mitocondrial de 2-ceto[1-¹³C]isocaproato que experimentaron los obesos tras la intervención dietética de adelgazamiento, podría estar relacionada con modificaciones en el estado redox mitocondrial, de manera similar a los procesos descritos con otros desacoplantes como los salicilatos²⁵, o el tacrolimus²⁶, reafirmando la utilidad del test en aliento con 2-ceto[1-¹³C]isocaproato como una prueba de función mitocondrial⁴⁰.

En resumen, el test en aliento con 2-ceto[1-¹³C]isocaproato refleja *in vivo* la adaptación del metabolismo mitocondrial ante la restricción calórica de manera inocua y segura, ofreciendo una información complementaria a los parámetros energéticos obtenidos mediante calorimetría indirecta. Este test puede ser de ayuda para optimizar el diseño de las estrategias de adelgazamiento de manera individualizada, y podría ser incluido como una prueba nueva a emplear en la búsqueda de factores pronósticos de las complicaciones asociadas a la obesidad en relación con la función mitocondrial.

Agradecimientos

Los autores expresan su agradecimiento al Gobierno de Navarra y a la Universidad de Navarra por la ayuda económica recibida para llevar a cabo el presente estudio de intervención nutricional.

Referencias

1. Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad. Consenso SEEDO'2000 para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y el establecimiento de criterios de intervención terapéutica. *Med Clin Barc* 2000, 115:587-597.
2. Aranceta J: Prevalence of obesity in developed countries: current status and perspectives. *Nutr Hosp* 2003, 17:23-33.
3. Martínez JA: Obesity in young Europeans: genetic and environmental influences. *Eur J Clin Nutr* 2000, 54:S56-60.
4. Tojo R, Leis R: Obesity: an emerging problem in pediatrics. *Nutr Hosp* 2002, 17: 75-9.
5. Riobo P, Fernández Bobadilla B, Kozarzewski M, Fernández Moya JM: Obesity in women. *Nutr Hosp* 2003, 18:233-7.
6. Steinberg HO, Chaker H, Leaming R, Johnson A, Brechtel G, Baron AD: Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction. Implications for the syndrome of insulin resistance. *J Clin Invest* 1996, 97:2601-2610.
7. Manzanares JM: Challenges in the treatment of patients with type 2 diabetes mellitus and obesity. *Nutr Hosp* 2002, 17:1-6.
8. Varela G, Carbajal A, Núñez C, Belmonte S, Moreiras O: Influence of the energy intake and body mass index in the incidence of cancer of the breast. Case-control study in a sample from 3 Spanish hospital populations. *Nutr Hosp* 1996, 11:54-8.
9. De Lorenzo A, Petroni ML, De Luca PP, Andreoli A, Morini P, Iacopino L, Innocente I, Perriello G: Use of quality control indices in moderately hypocaloric Mediterranean diet for treatment of obesity. *Diabetes Nutr Metab* 2001, 14:181-188.
10. Trallero R: Fiver in the treatment of obesity and its comorbidities. *Nutr Hosp* 2002, 17:17-22.
11. Cuerda M, Breton I, Cambor M, García P: Pharmacological modulation of the appetite. *Nutr Hosp* 1998, 13:69-75.
12. Alaustre A, Rull M, Formiguera J, Johnston S, Casas D, Sánchez L, Díez C, Martínez B, Broggi MA: Morbid obesity: reflections on a surgical protocol (I). A clinical and preoperative protocol. *Nutr Hosp* 1995, 10:307-20.
13. Martínez-González MA, Martín-Almendros MI, Gibney MJ, Kearney JM, Martínez JA: Perceptions about body weight and weight reduction in Spain. *Public Health Nutr* 1999, 2:557-563.
14. Engel SG, Crosby RD, Kolotkin RL, Hartley GG, Williams GR, Wonderlich SA, Mitchell JE: Impact of weight loss and regain on quality of life: mirror image or differential effect? *Obes Res* 2003, 11:1207-13.
15. Weyer C, Snitker S, Rising R, Bogardus C, Ravussin E: Determinants of energy expenditure and fuel utilization in man: effects of body composition, age, sex, ethnicity and glucose tolerance in 916 subjects. *Int J Obes* 1999, 23:715-722.
16. Ukkola O, Tremblay A, Bouchard C: Beta-2 adrenergic receptor variants are associated with subcutaneous fat accumulation in response to long-term overfeeding. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001, 25:1604-1608.
17. Garaulet M, Juárez ML, Pérez-Llamas F, Tebas FJ, Zamora S: Leptin in the regulation of energy balance. *Nutr Hosp* 2002, 17:42-8.
18. Rosebaum M, Hirsch J, Murphy E, Leubel RL: Effects of changes in body weight on carbohydrate metabolism, catecholamine excretion, and thyroid function. *Am J Clin Nutr* 2000, 71:1421-1432.
19. Nedergaard J, Golozubova V, Matthias A, Asadi A, Jacobson A, Cannon B: UCP1: the only protein able to mediate adaptive nonshivering thermogenesis and metabolic inefficiency. *Biochim Biophys Acta* 2001, 1504:82-106.

20. Margareto J, Larrarte E, Martí A, Martínez JA: Up-regulation of a thermogenesis-related gene (UCP1) and down-regulation of PPARgamma and aP2 genes in adipose tissue: possible features of the antiobesity effects of a beta3-adrenergic agonist. *Biochem Pharmacol* 2001, 61:1471-1478.
21. García-Lorda P: Role of lipid intake in obesity. *Nutr Hosp* 2002, 17:7-16.
22. Iyengar V: Nuclear and isotopic techniques for addressing nutritional problems, with special reference to current applications in developing countries. *Food Nutr Bull* 2002, 23:3-10.
23. Rating D, Langhans CD, Breath tests: concepts, applications and limitations. *Eur J Pediatr* 1997, 156:S18-S23.
24. Parra D, González A, Martínez JA, Monreal JI: Laboratory approach to mitochondrial disorders. *J Physiol Biochem* 2001, 57:269-288.
25. Lauterburg BH, Grattagliano I, Gmur R, Stalder M, Hildebrand P: Noninvasive assessment of the effect of xenobiotics on mitochondrial function in human beings: studies with acetylsalicylic acid and ethanol with the use of the carbon 13-labeled ketoisocaproate breath test. *J Lab Clin Med* 1995, 125:378-83.
26. Gabe SM, Bjarnason I, Tolou-Ghamari Z, Tredger JM, Johnson PG, Barclay FR, Williams R, Silk DB: The effect of tacrolimus (FD506) on intestinal barrier function and cellular energy production in humans. *Gastroenterology* 1998, 115:67-74.
27. Ferranini E: The theoretical bases of indirect calorimetry: a review. *Metabolism* 1988, 37:287-301.
28. Ghooos Y, Maes BD, Geypens BJ y cols.: Measurement of gastric emptying rate of solids by means of a carbon-labelled octanoic breath test. *Gastroenterology* 1993, 104:1640-1647.
29. González A, Mugueta C, Parra D, Labayen I, Martínez A, Varo N, Monreal I, Gil MJ: Characterisation with stable isotopes of the presence of a lag phase in the gastric emptying of liquids. *Eur J Nutr* 2000, 39:224-8.
30. Gibaldi M: Biopharmaceutics and clinical pharmacokinetics. Library of Congress Cataloging in Publications Data, 377-378, Beckenham, 1991.
31. Linder MC: Biochemistry and metabolism with clinical applications, Prentice-Hall International, 277-304, Fullerton, 1991.
32. Astrup A, Gotzsche PC, Van der Werken K, Ranneries C, Toubro S, Raben A, Bueman B: Meta-analysis of resting metabolic rate in formerly obese subjects. *Am J Clin Nutr* 1999, 69:1117-1122.
33. Suryawan A, Hawes JW, Harris RA, Shimomura Y, Jenkins AE, Hutson SM: A molecular model of human branched-chain amino acid metabolism. *Am J Clin Nutr* 1998, 68:72-81.
34. Wagenmakers MAJ, Soeters BP: Amino acid metabolism and therapy in health and nutritional disease, CRC Press, 67-87, Boca Raton, 1985.
35. Mitcholetz PA, Cap L, Alpert E, Lauterburg BH: Assessment of mitochondrial function *in vivo* with a breath test utilizing alpha-ketoisocaproate acid. *Hepatology* 1989, 5:829-32.
36. Raurich JM, Ibáñez J, Marse P: Effect of changes in body weight on rest energy expenditure in critically ill patients. *Nutr Hosp* 2002, 17:231-5.
37. Leibel RL, Rosenbaum M, Hirsch J: Changes in energy expenditure resulting from altered body weight. *N Engl J Med* 1995, 332:621-628.
38. Jucker BM, Dufour S, Ren J, Cao X, Previs SF, Underhill B, Cadman KS, Shulman GI: Free in PMC. Assessment of mitochondrial energy coupling *in vivo* by ¹³C/³¹P NMR. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000, 97:6880-6884.
39. Otabe S, Clement K, Dina C, Pelloux V, Guy-Grand B, Froguel P, Vasseus F: A genetic variation in the 5' flanking region of a UCP3 gene is associated with body mass index in humans in interaction with physical activity. *Diabetologia* 2000, 43:254-249.
40. Parra D, González A, García-Villarreal L, Martínez JA: Methodological characterization of the 2-keto[1-¹³C]isocaproate breath test to measure *in vivo* human mitochondrial function: application in alcoholic liver disease. *Alcohol Clin Exp Res* 2003, 27:1293-1298.