



Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Medicina

Maestría en Ciencias de la Salud

**“Asociación entre marcadores moleculares y obesidad en
adolescentes del nivel medio superior de la UAEMéx”**

TESIS

Para Obtener el Grado de
Maestra en Ciencias de la Salud

Presenta:

María de los Angeles Martínez Martínez

Comité de Tutores

Tutor Académico

Dra. María del Socorro Camarillo Romero

Tutor Adjunto

Dr. Hugo Mendieta Zerón

Tutor Adjunto

Dr. Luis Gustavo Celis Regalado

INDICE

	No. página
Resumen y Summary	4
1. Antecedentes	6
1.1. <i>Obesidad</i>	6
1.1.1 <i>Prevalencia de obesidad</i>	7
1.1.2 <i>Obesidad en la adolescencia</i>	7
1.2 <i>Marcadores Moleculares</i>	8
1.2.1 <i>Masa grasa asociada obesidad (Fat Mass and obesity-associated:FTO)</i>	10
1.2.2 <i>Deiodinasa 2 (D2)</i>	11
1.2.3 <i>Receptores nucleares de proliferadores de peroxisomas</i>	12
1.2.3.1 <i>Receptores nucleares de proliferadores de peroxisomas gama</i>	13
1.3 <i>Genética de la Obesidad</i>	14
1.3.1 <i>Genotipo ahorrador</i>	15
2. Planteamiento del Problema	18
3. Hipótesis	20
4. Objetivos	21
5. Justificación	22
6. Material y Métodos	23
6.1. Diseño de estudio	23
6.2. Criterios de inclusión, exclusión y eliminación	23
6.3. Procedimientos	24
6.4. Variables de Estudio	26
6.5. Implicaciones Bioéticas	28
6.6. Recolección de Datos	28
6.7. Análisis Estadístico	28
7. Resultados	29
7.1. “FTO rs9939609 and PPAR γ rs1801282 polymorphisms in Mexican adolescents with overweight and obesity at high risk for developing diabetes”	29
7.1.1 <i>Página frontal del manuscrito</i>	29
7.1.2 <i>Carta de envío o aceptación</i>	30
7.1.3 <i>Abstract</i>	33
7.1.4 <i>Introducción</i>	33

7.1.5	Subjects and methods	35
7.1.6	Ethics	36
7.1.7	Statistical Analysis	36
7.1.8	Results	37
7.1.9	Discussion	38
7.1.10	Acknowledgements	39
7.1.11	Funding	39
7.1.12	References	39
7.1.13	Table 1: Primers and conditions for each gene	42
7.1.14	Table 2: General characteristics of the population	43
7.1.15	Table 3: Correlation between BMI and metabolic parameters grouping by the presence /absence of the studied polymorphisms	44
8.	Conclusiones Generales	45
8.1.	Conclusiones	45
8.2.	Limitaciones	45
8.3.	Recomendaciones	45
9.	Referencias Bibliográficas	46
10.	Anexos	49
10.1	Consentimiento informado	49
10.2	Asentimiento informado	50
10.3	XIX Foro interinstitucional de Investigación en Salud	51
10.4	Simposio Internacional de Inmunonutrición Avanzada	52
10.5	XII Congreso Colombiano de Obesidad	53
10.6	Capítulo 3. Determinación de Polimorfismos por PCR en Punto Final	54

Resumen:

Introducción: La obesidad es un problema de salud pública mundial. En la actualidad la investigación se está centrado en la búsqueda de factores que puedan impactar como blancos terapéuticos, permitiendo sugerir cómo la parte genética constituye una variable importante en el desarrollo de enfermedades crónico degenerativas. La presencia de los polimorfismos PPAR γ rs1801282 y FTO rs9939609 sugiere cambios metabólicos en el metabolismo energético, dicha variación puede ser la responsable del desarrollo de diversos padecimientos entre ellos la obesidad y la resistencia a la insulina.

Objetivo: Determinar la presencia de los polimorfismos PPAR γ rs1801282 y FTO rs9939609 y su asociación a obesidad y resistencia a insulina.

Material y métodos: Fue un estudio transversal descriptivo, en el cual se incluyeron a 71 adolescentes con un promedio de edad de 16 años. Se les tomaron medidas antropométricas de peso, estatura y cintura, calculándose además el índice de masa corporal (IMC). Se tomó una muestra sanguínea para realizar la extracción de ADN y la genotipificación de los polimorfismos FTO rs9939609 y PPAR γ rs1801282 por la técnica de PCR punto final. A partir de la determinación de insulina y glucosa se calculó la resistencia a la insulina (RI) mediante el índice HOMA.

Resultados: Se analizó la correlación entre el IMC y la RI en los 71 adolescentes encontrando $r=0.465$ ($p<0.0001$). También se analizó por tipo de SNP (FTO rs9939609 y PPAR γ rs1801282), encontrándose valores de $r=0.354$ ($p=0.037$) y $r=0.310$ ($p=0.281$) respectivamente; mientras que, en ausencia de ambos polimorfismos el resultados fue de $r=0.600$ ($p=0.051$). Sin embargo, en aquellos adolescentes que presentaron ambos polimorfismos la correlación entre IMC y RI fue de $r=0.685$ ($p=0.029$).

Conclusiones: La presencia de los polimorfismos FTO rs9939609 y PPAR γ rs1801282 sugiere cambios en el metabolismo energético, dicha variación puede ser la responsable del desarrollo de diversos padecimientos entre ellos la obesidad y la resistencia a la insulina.

Summary:

Introduction: Obesity is a global public health problem. At present research is focused on the search for factors that might impact as therapeutic targets, allowing suggest as the genetic part is an important variable in the development of cardiovascular and chronic degenerative diseases. The presence of polymorphisms PPAR γ rs1801282 and FTO rs9939609 suggests metabolic changes in energy metabolism, such variation can be responsible for the development of various disorders including obesity and insulin resistance.

Objective: To determine the presence of polymorphisms PPAR γ rs1801282 and FTO rs9939609 and its association with obesity and insulin resistance.

Methodology: It was a descriptive cross-sectional study, including 71 adolescents with an average age of 16 years. It took them anthropometric measures of weight, height and waist, besides the (BMI) body mass index is calculated. A blood sample was taken for DNA extraction and the FTO polymorphisms genotyping rs9939609 and PPAR γ rs1801282 by the PCR technique end point. From the determination of insulin and glucose was calculated using the HOMA index (RI) insulin resistance.

Results: the correlation between BMI and the RI was analyzed in the 71 teenagers finding $r = 0.465$ ($p < 0.0001$). Also analyzed by type of SNP (FTO rs9939609 and PPAR γ rs1801282), with values of $r = 0.354$ ($p = 0.037$) and $r = 0.310$ ($p = 0.281$) respectively; Where as in the absence of both polymorphisms the results was $r = 0.600$ ($p = 0.051$). However, those adolescents who presented both polymorphisms in the correlation between BMI and RI was $r = 0.685$ ($p = 0.029$).

Conclusions: The presence of polymorphisms FTO rs9939609 and PPAR γ rs1801282 metabolic changes in energy metabolism, suggests such variation can be responsible for the development of various disorders including obesity and insulin resistance.

1. Antecedentes:

1.1 OBESIDAD

La obesidad se caracteriza por la acumulación anormal y excesiva de grasa corporal, una hipertrofia e hiperplasia del adipocito; ocasionada por el desequilibrio entre el consumo y el gasto energético (1,2).

Durante los últimos años, la obesidad se ha convertido en una epidemia global con una prevalencia continua que ha aumentado de forma inexorable entre niños y adolescentes de diversos países. Su causa probablemente involucra una interacción compleja entre alimentación, actividad física y factores tanto metabólicos como genéticos, que pueden estar presentes desde etapas tempranas de la vida, incluso desde el vientre materno.

La obesidad se ha convertido en un importante problema de salud debido a la consiguiente morbilidad y mortalidad prematura. Los cambios en el estilo de vida que resulta en la ingestión excesiva de alimentos y el desequilibrio del gasto energético han conducido a un aumento en la prevalencia de la obesidad en todo el mundo (3).

Entre los factores que explican el aumento en la frecuencia de obesidad hay que considerar la alimentación hiperenergética que caracteriza la forma de vida actual, así como la escasa actividad física que se realiza; se ha observado que la ingestión alimentaria perdió calidad nutricional durante las últimas dos décadas, dado que aumentó el consumo de cereales, aceites, grasas y bebidas gaseosas (4).

Este problema es realmente grave porque la obesidad se ha asociado con numerosas condiciones co-mórbidas y se le ha reconocido como un factor de riesgo para diversas afecciones crónicas como la diabetes mellitus, las enfermedades cardiovasculares, respiratorias y hepáticas, entre otras (5).

1.1.1 Prevalencia de obesidad

La etiología de la obesidad es multifactorial, siendo el resultado de la interacción entre factores genéticos, ambientales, sociales y culturales (6). La búsqueda de la relación existente entre la genética del ser humano y el desarrollo de la obesidad mediante el análisis de marcadores moleculares, permitirá dilucidar cuales pueden ser las mejores acciones a emprender para modificar el desarrollo de la obesidad en la población en general y específicamente en adolescentes.

Estudios recientes demuestran que la incidencia y prevalencia del sobrepeso y la obesidad han aumentado de manera progresiva en los últimos 20 años, hasta alcanzar cifras de 10 a 20% en la infancia, 30 a 40% en la adolescencia y 60 a 70% en los adultos, con respecto a años anteriores. Entre los adolescentes (12 a 19 años), un 35% presenta sobrepeso y obesidad, uno de cada 5 presenta sobrepeso y uno de cada 10 presenta obesidad, la ENSANUT revela que entre 2006 y 2012 hubo un incremento del 5% de adolescentes con obesidad, 7% para el sexo femenino y 3% para el masculino (7,8).

1.1.2 Obesidad en la adolescencia

Con respecto a la obesidad en adolescencia específicamente ésta constituye en la actualidad un grave problema de salud pública, incluso en países desarrollados, con cerca de 110 millones de jóvenes diagnosticados con sobrepeso u obesidad (9,10).

En la última década, diversas investigaciones se han enfocado principalmente en el estudio de factores modificables en niños y adolescentes, tomando en cuenta factores como: edad, sexo, presión arterial, circunferencia de cintura, índice de masa corporal (IMC), parámetros bioquímicos (insulina y glucemia en ayuno, perfil de lípidos, etc.), índice cintura cadera (ICC), índice cintura estatura y en algunos casos se utilizaron medidas de antropometría complementaria básica con algunos pliegues en específico como tricipital y subescapular, entre otros.

Así mismo, la obesidad se ha asociado a la presencia de síndrome metabólico en los adolescentes, encontrando que los trastornos metabólicos son un proceso complicado que implica factores ambientales, nutricionales, genéticos, diferencia étnica, edad y sexo, por mencionar algunos.

1.2 MARCADORES MOLECULARES

El marcador molecular o marcador genético es un caracter o un gen que debido al ligamiento puede ayudar a ubicar otros genes que se pueden detectar fácilmente mediante análisis fenotípico o molecular. El marcador puede encontrarse en un gen o en un ADN sin función conocida. Dado que los segmentos de ADN que se encuentran próximos entre sí en un cromosoma tienden a heredarse juntos, los marcadores moleculares se utilizan como maneras indirectas para seguir la pista del patrón de herencia de un gen que aún no se ha identificado, pero cuya localización aproximada sí se conoce (11,12).

La diversidad entre organismos es consecuencia de los efectos ambientales y de los diferentes tipos de secuencias de ADN. Estas variaciones en el ADN pueden ser mutaciones resultantes de la sustitución de un solo nucleótido (polimorfismo de un solo nucleótido o SNP) así como inserción o delección de fragmentos de ADN, de ahí que los marcadores de ADN son útiles tanto en investigación básica como en la aplicada.

Las mutaciones en las regiones reguladoras pueden afectar el grado y las pautas de expresión génica; por ejemplo, activar o desactivar genes, sobre-expresar o infra-expresar proteínas en tejidos concretos en distintos estadios del desarrollo o en distintos estados fisiológicos, incluyendo algunas enfermedades específicas.

En los estudios realizados sobre los marcadores y su asociación se considera que probablemente existe una relación proporcional en la identificación de los marcadores con respecto a la edad y la ingestión de alimentos (3).

Los marcadores de ADN constituyen la nueva generación de marcadores moleculares que son capaces de generar una cantidad virtualmente infinita de marcadores. Existen varias técnicas para identificar marcadores de ADN, las que se pueden agrupar en tres categorías: las de hibridación tipo Southern, las de reacción de polimerización en cadena (PCR) y las que combinan PCR o sus productos de ADN con la hibridación tipo Southern.

La hibridación consiste en la formación de una molécula de doble cadena mediante el apareamiento o unión de bases complementarias de dos moléculas de una sola cadena. La hibridación tipo Southern explora las variaciones en la longitud o tamaño de los fragmentos de ADN ocasionadas por la restricción del genoma mediada por una enzima particular (endonucleasa).

Esta técnica comprende las siguientes etapas: primero se extrae el ADN del material que se desea estudiar; luego se le adicionan enzimas de restricción (endonucleasas), las cuales cortan el ADN en fragmentos de diferente longitud; estos fragmentos son separados en geles de agarosa, para después realizar por capilaridad o al vacío la transferencia de los fragmentos a una membrana de papel de nitrocelulosa o de nylon (transferencia tipo Southern). Finalmente, se hibridizan los fragmentos de la membrana con sondas marcadas (radiactiva o no radiactivamente) para visualizar y detectar las bandas hibridadas.

Dentro de esta técnica se encuentran los marcadores RFLP (polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción) y los VNTR (secuencias adyacentes que se repiten en número variable).

La técnica de PCR, o reacción en cadena de la polimerasa, es una tecnología utilizada para multiplicar (sintetizar) in vitro fragmentos específicos de ADN con la finalidad de detectar una secuencia o gen de interés en el genoma del individuo en estudio. Se basa en la amplificación de fragmentos de ADN a partir de secuencias de nucleótidos denominadas “cebador” (primer), que son capaces de reconocer una secuencia blanco para la cual es complementaria.

En forma general, los principales pasos del PCR son los siguientes: se extrae el ADN del material a analizar, se separa la molécula del ADN en dos hebras (desnaturalización), se induce el alineamiento o reconocimiento del cebador con las secuencias blanco complementarias o molde del ADN, y por medio de la enzima Taq polimerasa se lleva a cabo la extensión o alargamiento de la molécula iniciadora (cebador). Este proceso se realiza en un termociclador, que se encarga de realizar los cambios de temperatura necesarios para que se desarrollen las etapas o ciclos anteriormente mencionados. Los ciclos se repiten la cantidad de veces que sea necesario, hasta obtener la cantidad de copias de ADN que se requieran.

1.2.1 Masa Grasa Asociada a Obesidad (Fat mass and obesity-associated: FTO)

Es el gen que codifica la proteína nuclear del hierro no hem AlkB relacionada a la super familia oxigenasa 2-oxoglutarato-dependiente (13,14).

La función biológica de FTO es en gran parte desconocida. Sin embargo, FTO se expresa en múltiples tejidos en todo el cerebro y la periferia con alta expresión en la glándula pituitaria y glándulas suprarrenales y el hipotálamo (15,16). Así, se ha sugerido que FTO podría desempeñar un papel en el eje hipotalámico pituitario adrenal (15,17).

La localización de FTO en el núcleo de las células transfectadas es consistente con este potencial papel de FTO en desmetilación del ácido nucleico. Además, la variación alélica de FTO se ha demostrado recientemente que se asocia con un efecto de la insulina cerebro-cortical reducida sobre la actividad beta (17,18).

El gen FTO se localiza en el cromosoma 16 (16q12.2) y se ha determinado que codifica la producción de una proteína nuclear con actividad de demetilasa de ácidos nucleicos. Su acción se ha relacionado con diversos procesos bioquímicos y fisiológicos, entre los que destacan la reparación del ADN, la homeostasis de la temperatura y la regulación del almacenamiento de lípidos y del tejido adiposo (19).

También se ha determinado que la proteína se localiza principalmente en el hipotálamo y en el páncreas (20,21)

A la fecha se han reportado diversos polimorfismos en el gen, en los cuales se presentan cambios génicos en varios intrones. Al respecto, se ha señalado que por lo menos 20 polimorfismos están asociados con algún aspecto de la obesidad, aunque también con la susceptibilidad a la diabetes tipo 2 y con el síndrome metabólico. Se ha sugerido que dichos cambios podrían influir en los mecanismos de ingestión y saciedad y que su alteración repercutiría en el aumento de tejido adiposo y masa corporal (23).

Recientemente se han descubierto mutaciones en el gen FTO, por ejemplo, el cambio de una guanina por una adenina, los cuales siguen un patrón de herencia autosómico recesivo, sin embargo, en estos casos las modificaciones fenotípicas son más amplias e incluyen diversas malformaciones congénitas, retraso en el crecimiento físico y psicomotor, así como una alta susceptibilidad para adquirir infecciones (24).

1.2.2 Deiodinasa 2 (D2)

La D2 es una proteína encontrada en el retículo endoplásmico, que regula el mecanismo homeostático de la concentración de triyoditironina.

Las deiodinasas son enzimas conformadas por selenocisteína que metabolizan las hormonas tiroideas hacia formas activas o inactivas. La D2 se encuentra bajo control transcripcional y post-transcripcional que es desencadenado por diversas situaciones ambientales, metabólicas y del desarrollo, mientras que la expresión de esta enzima, se encuentra regulada por mecanismos post-traslacionales como la ubiquinación y estrés de sistema retículo endoplásmico de la célula, reduciendo su actividad, por inactivación directa o inhibiendo completamente la síntesis de novo de la D2 (22).

La D2 es considerada la principal enzima activadora de la T4 por su alta afinidad y es una mediadora en la producción de T3 que ocurre a nivel intracelular (25). Constituye un poderoso mecanismo homeostático que minimiza los cambios en las concentraciones de T3, la forma activa de la hormona tiroidea (26). De forma intracelular, el centro catalítico se encuentra en el citosol y su dominio transmembranal dentro del retículo endoplásmico.

El papel principal de la D2 consiste en controlar las concentraciones intracelulares de T3, con la finalidad de preservar la viabilidad del núcleo así como la saturación de los receptores nucleares de las células pertenecientes a los tejidos diana. La ruta que sigue esta enzima juega un papel significativo en un gran número de sistemas biológicos, como la retroalimentación de los sistemas del eje hipotalámico hipofisario, desarrollo coclear y de la retina, del tejido adiposo pardo, control metabólico, maduración de hueso, miogénesis y restauración muscular (27).

1.2.3 Receptores Nucleares de proliferadores de peroxisomas (PPAR)

El PPAR es un gen regulador de la diferenciación de adipocitos que codifica a un miembro de la subfamilia de receptores activados por el proliferador de peroxisomas de los receptores nucleares (28).

Estos son receptores presentes en diversas rutas metabólicas relacionadas con el equilibrio energético, además de la ruta lipídica. Son miembros de la super familia del receptor de la hormona nuclear tipo II; existen tres subtipos: alfa, beta o delta y gama. Son activados por ácidos grasos poliinsaturados y por agentes sintéticos como los fibratos (PPAR alfa), que disminuyen la concentración circulante de triacilglicéridos, y las glitazonas (PPAR gama), que aumentan la sensibilidad a la insulina. Los PPARs se asocian con el ácido 9 cis retinoico (RXR) para formar heterodímeros (PPAR-RXR) que a su vez se unen con ligandos endógenos (ácidos grasos y esteroides) o exógenos (pesticidas, fibratos, tiazolinedionas). Una vez que se forma el complejo, éste se une a secuencias específicas del ADN y de esta forma inducen o inhiben la transcripción de genes (29,30,31,32).

PPAR α regula el catabolismo de los ácidos grasos, estimulando su captación celular y la subsiguiente β y ω -oxidación en los organelos intracelulares. Por otra parte, controla el metabolismo extracelular de las VLDL porque regula directamente la transcripción de la apolipoproteína C-III (además de controlar la disponibilidad de ácidos grasos para la síntesis de triacilglicéridos), y de las HDL, estimulando la síntesis de apo A-I y apo-II por las células hepáticas, resultando en un aumento de la concentración de HDL.

PPAR γ es altamente expresado en tejido adiposo, colon y en los macrófagos, y moderadamente expresado en hígado, corazón y riñón. Este receptor promueve la diferenciación del adipoblasto en adipocito, resultando en un aumento de la captación y el almacenamiento de ácidos grasos, y estimula la captación de LDL oxidadas por parte de los macrófagos, coordinando una respuesta crucial para eliminar el colesterol del organismo. Es un factor de transcripción que pertenece a la misma familia que los receptores de hormonas esteroideas y tiroideas (8). Actúa como factor de transcripción de diversos genes implicados en la homeostasis energética de todo el organismo, la adipogénesis y la sensibilidad a la insulina. Su actividad se regula por la unión de pequeños ligandos lipofílicos – principalmente ácidos grasos- que derivan de la nutrición y el metabolismo (14); permite a los ácidos grasos alimentarios (ligandos de PPAR γ) modular la transcripción de genes implicados en el metabolismo de los ácidos grasos, su almacenaje en triacilglicéridos, así como en la diferenciación de adipocitos (36,37,38).

1.2.3.1 Receptores Nucleares de Proliferadores de Peroxisomas γ (PPAR γ)

El PPAR γ fue originalmente identificado porque se expresa en la diferenciación de adipocitos. Ahora se reconoce como un regulador maestro de la adipogénesis y se relaciona más directamente en el tejido adiposo, siendo más específico en tejido adiposo blanco, donde está involucrado en el almacenamiento de lípidos y en la disipación de energía (8,36,37).

Además de la función de PPAR γ en la regulación de la expresión de numerosos genes que están implicados en los lípidos y la homeostasis de la glucosa, el receptor también juega un papel en las vías de anti-inflamatorios y anti-cancerígenos (38).

Dada la importancia crítica de PPAR γ en el metabolismo normal de los lípidos y de la glucosa, así como también en la regulación de respuestas inflamatorias; no es sorprendente que los trastornos metabólicos que se han identificado hasta ahora puedan deberse a mutaciones en el gen PPAR γ (53,54). La variante del gen PPAR γ más frecuente es un polimorfismo que da lugar a la sustitución de una prolina por una

alanina en el codón 12 (P12A) en la única N-terminal de la región de PPAR γ 2. La frecuencia alélica de este polimorfismo se ha demostrado que oscila entre 2% y 23% en diversas poblaciones étnicas.

Existe una modesta correlación (1.25 veces), pero altamente significativa con la presencia del alelo P12A y el riesgo para el desarrollo de diabetes mellitus. La interrupción en el metabolismo también se ha asociado con mutaciones que afectan a la unión del ligando al PPAR γ . Estas mutaciones de pérdida de función en el LBD de PPAR γ pueden ejercer efectos dominante-negativos debido a un aumento de la afinidad del receptor para co-inhibidores o debido a una capacidad atenuada para reclutar co-activadores (39,40).

1.3. GENÉTICA DE LA OBESIDAD

Desde hace muchos años se ha descrito que existen sujetos más "eficientes" (y otros menos) para disponer de la energía, de tal manera que ellos tendrían una mayor susceptibilidad a aumentos de peso frente a sobrecargas energéticas (mientras otros la disiparían como calor sin subir tanto de peso) (41).

Muchos estudios se han llevado a cabo con algunos polimorfismos asociados con fenotipos de obesidad, diabetes mellitus y enfermedades relacionadas con lípidos centrándose principalmente en la población asiática caucásica y oriental (principalmente en Japón y Corea). Se ha demostrado que las mutaciones cambian la actividad o expresión de las proteínas y podrían disminuir la regulación del gasto energético basal por la variedad en el acoplamiento de la fosforilación oxidativa y afectar el funcionamiento del páncreas y la secreción de insulina. Hasta ahora, no está claro si la contribución es por genes individuales para los trastornos metabólicos, o probablemente por una combinación de diferentes variantes genéticas que afectan el metabolismo y la termogénesis que podrían explicar una mayor tendencia a los trastornos metabólicos (17).

En cuanto al papel de los factores genéticos, es muy poco lo que se ha avanzado a pesar de grandes esfuerzos realizados. La importancia de analizar la participación de los factores genéticos emerge de estudios realizados en gemelos idénticos, criados

juntos o separados, lo que ha permitido demostrar que el fenotipo de la obesidad tiene una heredabilidad de hasta un 0.70 en hombres y 0.66 en mujeres (42).

Por otra parte, estudios de ligamiento, de asociación y de escaneo genómico realizados en individuos no relacionados y en familias han identificado genes asociados con la obesidad, como el gen de adiponectina, los receptores adrenérgicos α -2A, α -2B, β -1, β -2 de superficie, β -3, la leptina y su receptor, el receptor de glucocorticoides, PPAR- γ y la proteínas desacoplantes mitocondriales transportadoras de protones 1, 2 y 3, entre otros. Así mismo se ha identificado una larga lista de genes con una diversidad funcional, lo cual muestra la naturaleza multifactorial y al mismo tiempo, sinérgica de la obesidad y la DM2 (43).

A la fecha, se conoce poco sobre la genética involucrada en la etiología de la obesidad en adolescentes mexicanos; algunos de los genes que intervienen el desarrollo de obesidad y que ya se han descrito son UCP1, UCP2, UCP3, leptina, adiponectina, IL6, entre otros (9,44).

Se han desarrollado diversas estrategias que permiten identificar los genes asociados al desarrollo de la obesidad; una estrategia de las más utilizadas actualmente es el estudio de los genes candidatos que participan en procesos como la termogénesis, la adipogénesis y la lipólisis. Sin embargo, el bajo poder de resolución para identificar los genes de interés, no ha permitido establecer conclusiones completas que sean de utilidad para el entendimiento del problema, a pesar de contar con estudios de meta análisis con miles de casos (44).

1.3.1 Genotipo ahorrador

Los genes y el medio ambiente influyen en los procesos metabólicos que llegan a determinarlo. Desde el punto de vista de la evolución biológica, si los genes que favorecen la obesidad están en el genoma, es porque en algún momento de la evolución fue benéfico poseer tales características, por la similitud encontrada entre varios países y de acuerdo a las cifras epidemiológicas reportadas sobre obesidad hacen sospechar la presencia de factores causales comunes. Así, surge la teoría del genotipo ahorrador por Neel, que hace referencia a una estrategia del genoma humano

para sobrevivir en tiempos pasados conjugada con el modo de vida actual. La teoría del genotipo ahorrador, que sostiene que el gasto energético es eficiente con el fin de maximizar las reservas de energía, predice que estas adaptaciones pueden aumentar la supervivencia en épocas de hambruna, pero predisponen a la obesidad en los entornos de la dieta moderna (23,45).

Entonces, el genotipo ahorrador hace referencia a que en un principio el homo sapiens, primer humano anatómico tuvo que enfrentarse a duras condiciones de vida, ya que debía competir frente a otras especies para salvarse y dedicar largas horas a la caza y recolección de frutas y verduras para sobrevivir. El hombre primitivo, cazador-recolector debía caminar extensas distancias para poder alimentarse y debido a esto, el organismo fue desarrollando una capacidad biológica para comer todo lo que pudiera cuando fuera posible y almacenar energía al máximo para sobrevivir hasta la próxima comida. Asimismo, el genoma prefería las comidas más grasas ya que aportan más energía en menor volumen y permitían la supervivencia ante los climas fríos, las duras caminatas y los prolongados períodos sin alimentos.

A este comportamiento evolutivo se le conoce como “genotipo ahorrador”, y más allá de ser una teoría, hasta el momento es un postulado muy adecuado para explicar por qué el contexto cada vez más cómodo y favorable para la vida humana se vuelve perjudicial para la salud y contribuye a la obesidad (46).

Hace apenas unos cien años, las condiciones de vida cambiaron drásticamente y nos alejamos definitivamente del diseño evolutivo: con una alimentación muy rica en calorías, hiperproteica, abundante en grasas saturadas y en hidratos de carbono de absorción rápida, de elevado índice glucémico. Además, el desarrollo de máquinas que facilitaban todas las labores y de los vehículos que transportaban diariamente sin esfuerzo, redujo el nivel de actividad física, dejó de costar esfuerzo conseguir los alimentos. En estas condiciones el genotipo ahorrador, al someterse a unas condiciones muy alejadas del diseño para el que se desarrollaron, se convirtió en promotor de enfermedad y en especial se acrecentó la tendencia a la obesidad (47).

Según la teoría, lo que antes fue un rasgo adaptativo favorable y permitió mantenerse vivo a expensas de los depósitos grasos, hoy predispone a enfermedades crónicas metabólicas.

El contexto actual se compone de comida en abundancia, variada, barata y de gran contenido graso y azúcar, y de menor actividad física y esfuerzos debido al mayor desarrollo tecnológico y maquinarias que requieren menos de la mano de obra humana y más de una persona que se sienta a dar órdenes delante de una computadora. El entorno actual combinado con el genoma humano apto para sobrevivir en otro ambiente y contexto es lo que daría origen a la epidemia mundial del siglo XXI: la obesidad (48).

2. Planteamiento del Problema:

Pregunta investigación:

¿Existe alguna relación entre la presencia de marcadores moleculares como PPAR γ rs1801282, FTO rs 9939609, D2 rs 225014 y la obesidad en los adolescentes?

La obesidad se caracteriza por la acumulación anormal y excesiva de grasa corporal, una hipertrofia e hiperplasia del adipocito; ocasionada por el desequilibrio entre el consumo y el gasto energético.

En la actualidad, la obesidad es considerada en México como un problema de salud pública debido a su magnitud y trascendencia.

Estudios recientes demuestran que la incidencia y prevalencia del sobrepeso y la obesidad han aumentado de manera progresiva en los últimos 20 años, hasta alcanzar cifras de incidencia de 10 a 20% en la infancia, 30 a 40% en la adolescencia y 60 a 70% en los adultos. Entre los adolescentes, un 35% presenta sobrepeso y obesidad (12 a 19 años), uno de cada 5 presenta sobrepeso y uno de cada 10 presenta obesidad, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) revela que entre 2006 y 2012 hubo un incremento del 5% los adolescentes con obesidad, 7% para el sexo femenino y 3% para el masculino.

Debido a estos incrementos se han ido realizando estudios sobre todos los factores que intervienen en la obesidad; concluyendo que su etiología es multifactorial, la cual se presenta como resultado de la interacción entre factores ambientales, sociales, culturales y genéticos.

Entre los factores ambientales más estudiados por su relación con la obesidad destacan los estilos de vida, la disminución de la actividad física, el sedentarismo, la genética y la herencia de patrones alimentarios a través de varias generaciones.

Además en la obesidad, desde las perspectivas socioculturales se consideran principalmente factores como las influencias sociales, la mercadotecnia enfocada a la alimentación, el desarrollo de la industria alimentaria y las tradiciones culturales, entre otros.

Así durante los últimos años se ha buscado la relación existente entre la genética del ser humano y el desarrollo de la obesidad; y aunque se han realizado numerosos estudios respecto a los marcadores moleculares específicos que predisponen la aparición de obesidad, los estudios sobre la asociación entre obesidad y los marcadores moleculares específicos en adolescentes a nivel mundial son escasos y poco concluyentes, pues existe un número muy grande de polimorfismos que son partícipes de este padecimiento. En México éste tipo de estudios es muy limitado y con un campo de investigación bastante amplio.

3. Hipótesis:

Hipótesis alterna:

La presencia de algunos marcadores moleculares como FTO, PPAR γ y Thr92AlaD2 está asociada con la obesidad en los adolescentes.

Hipótesis nula:

No existe una asociación entre la presencia de algunos marcadores moleculares y obesidad en los adolescentes.

4. Objetivos:

General:

- Analizar la asociación existente entre la presencia de marcadores moleculares y la obesidad en adolescentes de nivel medio superior de la UAEMéx.

Específicos:

- Realizar la extracción de ADN a partir de muestras de sangre de los adolescentes participantes.
- Identificar la presencia de los diferentes polimorfismos PPAR γ rs1801282, FTO rs 9939609, D2 rs 225014 en adolescentes participantes de nivel medio superior, por medio de la técnica de PCR punto final.
- Asociar la presencia de los polimorfismos PPAR γ rs1801282, FTO rs 9939609 y D2 rs 225014 en adolescentes con obesidad.

5. Justificación:

Durante los últimos años la obesidad se ha convertido en un problema de índole mundial con repercusiones en todos los ámbitos, no sólo el nutricional sino también en aquellas áreas que a primera vista no se relacionan con la obesidad como son la economía, la política y la ecología, entre otras (14).

Por lo tanto, alrededor del mundo han surgido distintos grupos de investigación y análisis, organizaciones y empresas que pueden aportar al tema aspectos que ayuden si no a su desaparición, al menos a un control o una mejor calidad de vida del individuo que padece obesidad y que a futuro pudiera desarrollar diferentes complicaciones (15).

Es bien sabido que la obesidad es multifactorial. Los factores genéticos que no han sido tan estudiados pueden ser factor primordial para comprender una parte importante del desarrollo y prevención de una enfermedad que es copartícipe en tantas complicaciones que pueden disminuir los años de vida saludable del individuo.

Uno de los aspectos importantes para entender la etiología de la obesidad a nivel molecular es el estudio sobre los genes involucrados en su desarrollo; a pesar de que los últimos estudios realizados han aportado mucha información sobre este tema, han dejado también la puerta abierta a más interrogantes en el campo de la biología molecular, pues son sólo el principio, enfocándose más en adultos y en los últimos años en niños en áreas de Europa y Asia (17,39).

En México se han realizado varios estudios que reportan algunos de los marcadores genéticos asociados a la obesidad como los que se han realizado en otros países y que pudieran considerarse como factores de riesgo primordiales; aunque varios de estos estudios se enfocan a población infantil y adulta solamente; y en adolescentes mexicanos los estudios realizados no han arrojado datos significativos (37).

Es por ello que debido a la falta de datos concluyentes sobre marcadores moleculares relacionados a la etiología de la obesidad en México, ésta investigación pretende identificar la asociación existente entre algunos polimorfismos específicos y la obesidad en la población de adolescentes participantes.

6. Material y Métodos:

6.1. Diseño de Estudio

Tipo de estudio

- Transversal y descriptivo

Universo

- Adolescentes de nivel medio superior de la UAEMéx

Método de muestreo

- Por conveniencia (Adolescentes que presenten antecedentes familiares de diabetes obesidad o algún otro factor de riesgo para el desarrollo de diabetes).

Tamaño de muestra

- 71 adolescentes

6.2. Criterios de inclusión, exclusión y eliminación

Criterios inclusión: Adolescentes de edad de 14 a 18 años de nivel medio superior, que deseen participar en el proyecto con firma de carta de consentimiento de los padres y asentimiento de los adolescentes

Criterios exclusión: Adolescentes con antecedentes de tabaquismo, embarazo o enfermedades crónicas diagnosticadas al momento de la toma de muestra, con alguna neoplasia presente, con insuficiencia renal o hepática, diabéticos diagnosticados.

Muestras sanguíneas hemolizadas e inadecuadas,

Criterios eliminación: Muestras inadecuadas.

6.3. Procedimientos

Muestra:

Previo autorización de las autoridades, se invitó a participar a estudiantes del nivel medio superior de la UAEMéx, plantel “Lic. Adolfo López Mateos. Se incluyeron sólo adolescentes entre los 14 y 18 años aparentemente sanos; aquellos con antecedentes de tabaquismo, embarazo o enfermedades crónicas diagnosticadas fueron excluidos.

De los alumnos interesados, la muestra quedó en 71 adolescentes que cumplieron con los criterios de inclusión; contando con un total 40 mujeres y 31 hombres. Con edades que oscilaban entre los 14 y 18 años cumplidos.

Antropometría:

El índice de masa corporal (IMC) fue calculado a partir del peso (kg) (modelo BC-533, Tanita, Tokio, Japón) y altura (m²) con estadiómetro convencional; dividiendo los resultados en normal, sobrepeso y obesidad de acuerdo a la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS), específica para adolescentes por sexo y edad.

Laboratorio:

Se tomaron 9 mL de sangre venosa (Vacutainer™) en ayuno, por personal capacitado, las muestras se trasladaron al laboratorio de Análisis Clínicos del Centro de Investigación en Ciencias Médicas de la UAEM (CICMED) donde analizaron en el laboratorio de análisis clínicos para la determinación de glucosa e insulina utilizando reactivos y el autoanalizador Dytona marca Randox y de los cuales se tomaron 3mL de sangre manteniéndose en congelación a -70° (ultracongelador thermo scientific serie 900) en las instalaciones del CICMED bajo resguardo y previamente codificado, hasta que se realizó la extracción del ADN.

Genotipificación:

La extracción de ADN se realizó de manera automatizada MagnaPure (Roche, Alemania), usando el MagNAPure LC DNA Isolation Kit 1 (Roche, Alemania) a partir de la muestra de sangre total. Una vez hecha la extracción de ADN se procedió a la cuantificación por espectrofotometría (NanoPhotometer, Implen), reportando la concentración (mg/ml) y pureza (absorbancia 260/280).

La genotipificación se realizó por reacción de cadena de polimerasa (PCR) en punto final (Termociclador life express marca Bioer). Los oligonucleótidos de este estudio fueron diseñados usando el programa Primer Quest (Integrated DNA Technologies, Inc., CA, USA) y solicitados en la Unidad de Síntesis y Secuenciación de ADN de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Instituto de Biotecnología (Cuernavaca, Morelos, México). Se realizó una búsqueda en BLAST para verificar la correcta hibridación.

Una vez realizados dichos procedimientos se continuó con la estandarización de las técnicas para cada gen quedando las siguientes condiciones:

Secuencias:

D2 (Deiodinasa)

Rv: CCACACTCTATTAGAGCCAATTG

Fw: CTCAGGGCTGGCAAAGTCAAG

Las condiciones de ciclado fueron las siguientes: el ciclo inicial de 30 segundos a 95°C, 30 segundos a 55°C, y 1 min a 72°C, durante 30 ciclos y una extensión final a 72°C durante 5 minutos. Terminados los ciclos se colocaron las muestras en un gel de agarosa estándar al 2% teñido con bromuro de etidio para posteriormente analizar los resultados por medio de fotodocumentación (Fotodocumentador Gel Logic 6000 PRO).

FTO (Masa grasa asociada a obesidad)

Rv: AGCCTCTCTACCATCTTATGTCCAAACA

Fw: TGGCTCTTGAATGAAATAGGATTCAGAA

Las condiciones de ciclado fueron las siguientes: desnaturalización inicial a 95°C por 10 minutos, el ciclo inicial de 15 segundos a 95°C, 30 segundos a 60°C, y 30 seg a 72°C, durante 40 ciclos y una extensión final a 72°C durante 5 minutos. Terminados los ciclos se colocaron las muestras en un gel de agarosa estándar al 2% teñido con bromuro de etidio para posteriormente analizar los resultados por medio de fotodocumentación (Fotodocumentador Gel Logic 6000 PRO).

PPAR γ (Receptores nucleares de proliferador de peroxisomas gamma)

Rv: CAGTGAAGGAATCGCTTTCCG

Fw: CCAATTCAAGCCCAGTCCTTTC

Las condiciones de ciclado fueron las siguientes: desnaturalización inicial a 95°C por 5 minutos, el ciclo inicial de 40 segundos a 94°C, 50 segundos a 55°C, y 1 min a 72°C, durante 35 ciclos y una extensión final a 72°C durante 7 minutos. Terminados los ciclos se colocaron las muestras en un gel de agarosa estándar al 2% teñido con bromuro de etidio para posteriormente analizar los resultados por medio de fotodocumentación (Fotodocumentador Gel Logic 6000 PRO).

6.4. Variables de Estudio

Independientes:

Obesidad y sobrepeso

Dependientes:

Receptores nucleares de proliferadores de peroxisomas γ (PPAR γ)

Masa Grasa asociada a obesidad (FTO)

Deiodinasa 2 (D2)

Intervinientes:

Sexo

Variable	Definición conceptual	Definición operativa	Tipo de variable	Escala de medición	Análisis Estadísticos
Obesidad	Se caracterizan por la acumulación anormal y excesiva de grasa corporal	Clasificación IMC 18.50 - 24.99 Peso normal 25.00 - 29.99 Sobrepeso 30.00 - 34.99 Obesidad I 35.00 - 40.00 Obesidad II >40.00 Obesidad III IMC = peso(kg)/estatura ² (m)	Categorica	Presente Ausente	Chi cuadrada
D2	Deiodinasa 2 proteína encontrada en el retículo endoplásmico, regula el mecanismo homeostático de los niveles de triyoditironina.	Detección del polimorfismo D2 Thr92Ala por PCR	Dicotómica Cualitativa	Presente Ausente	T student
PPAR _γ	Gen que codifica un miembro de la subfamilia de receptores activados por el proliferador de peroxisomas de los receptores nucleares (PPAR). Es un regulador de la diferenciación de adipocitos.	Detección de polimorfismo PPAR _γ Pro12Ala por PCR	Dicotómica Cualitativa	Presente Ausente	T student
FTO	Gen que codifica proteína nuclear del hierro no hemo AlkB relacionados y superfamilia oxigenasa 2-oxoglutarato-dependiente.	Detección del polimorfismo FTO rs 9939609 por PCR	Dicotómica	Presente Ausente	T student
Edad	Cada uno de los períodos en que se considera dividida la vida humana	Años cumplidos de acuerdo a la fecha de nacimiento	Cuantitativa	Nominal	Chi cuadrada
Sexo	Condición orgánica, masculina o femenina.	Femenino / masculino	Cualitativa Nominal Dicotómica	Femenino Masculino	Frecuencia Porcentaje

6.5 Implicaciones Bioéticas

Los procedimientos se realizaron bajo las normas de la Declaración de Helsinki (Fortaleza, Brazil 2013) y de la Ley General de Salud (2010) para investigación en humanos (norma oficial mexicana nom-012-ssa3-2012, que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos).

A todos los participantes y padres de familia se les informó mediante una plática acerca del objetivo del estudio, riesgos y beneficios. Haciendo de su conocimiento que era sin costo para ellos y con atención de personal calificado. Se les entregó la carta de consentimiento informado a los padres y de asentimiento a los adolescentes para su firma.

El protocolo se presentó al Comité de Investigación y Ética del Centro de Investigación en Ciencias Médicas (CICMED); siendo aprobado el día 7 de octubre de 2015, quedando registrado con el número 2015/14.

6.6 Recolección de Datos

Los datos sociodemográficos se recolectaron por medio de un cuestionario previamente validado, las medidas antropométricas y la recolección de muestras sanguíneas se realizaron en el consultorio de cada plantel del nivel medio superior, dentro del horario de clases de los alumnos.

El análisis de las muestras para la identificación de los marcadores moleculares se realizó en el laboratorio de biología molecular del Centro de Investigación en Ciencias Médicas (CICMED) previamente estandarizada la técnica con condiciones específicas para cada gen.

6.7 Análisis Estadísticos

La información obtenida se capturó por medio de “Statistical Package for Social Sciences (SPSS)” para Windows, v18. Se realizó el análisis descriptivo de las variables de estudio y la asociación entre cada marcador molecular y la obesidad utilizando la prueba de Chi cuadrada para todas las variables con un nivel de significancia de $p < 0.05$.

7 Resultados

7.1. Nombre del Artículo Enviado

“FTO rs9939609 and PPAR γ rs1801282 polymorphisms in Mexican adolescents with overweight and obesity at high risk for developing diabetes”

7.1.1 Página frontal del manuscrito

FTO rs9939609 and *PPAR γ* rs1801282 polymorphisms in Mexican adolescents with overweight and obesity at high risk for developing diabetes

Martínez Martínez MA¹, Mendieta Zerón H^{1,2}, Celis L³, Layton Tovar CF⁴, Torres García R¹, Gutiérrez Pliego LE¹, Camarillo Romero E⁵, Garduño García JJ^{5,6}, Camarillo Romero S⁵.

1. Faculty of Medicine, Autonomous University of the State of Mexico (UAEMex), 2. Asociación Científica Latinoamericana A.C. (ASCILA) y Ciprés Grupo Médico (CGM), 3. Faculty of Medicine, Universidad de La Sabana, Bogotá –Colombia, 4. Secretaría de Salud, Estado de México, 5. Medical Sciences Research Center (CICMED), Autonomous University of the State of Mexico (UAEMex), 6. Regional General Hospital 251, Mexican Social Security Institute (IMSS).

Address for correspondence: Dra. María del Socorro Camarillo Romero, Centro de Investigación en Ciencias Médicas, UAEM. Jesús Carranza # 205 Colonia Universidad. Toluca, Estado de México. CP 50130 Teléfono 219 41 22 ext. 114 sococamarillo@yahoo.com.es

Clinical Trials ID: NCT02886013.

Word count for abstract: 190.

Word count for text: 1432.

Number of references: 26, number of figures: 0, number of tables: 3.

7.1.2. Carta de Envío o Aceptación

Metabolism & Cardiovascular Diseases

Manuscript Draft

Manuscript Number:

Title: FTO rs9939609 and PPAR γ rs1801282 polymorphisms in Mexican adolescents with overweight and obesity at high risk for developing diabetes

Article Type: Research Paper

Keywords: diabetes; fat mass associated with obesity (FTO); obesity; overweight; peroxisome proliferator receptor gamma (PPAR γ).

Corresponding Author: Dr. Hugo Mendieta Zeron, Ph.D.

Corresponding Author's Institution: Autonomous University of the State of Mexico (UAEMex)

First Author: María de los Angeles Martínez Martínez

Order of Authors: María de los Angeles Martínez Martínez; Hugo Mendieta Zeron, Ph.D.; Luis Celis; Cristian Fabián Layton Tovar; Torres García Rocío; Laura Elisa Gutiérrez Pliego; Eneida Camarillo Romero; José de Jesús Garduño García; María del Socorro Camarillo Romero

Abstract: Background and Aims: The presence of the FTO rs9939609 and PPAR γ rs1801282 polymorphisms suggests changes in energy metabolism; this variation may be responsible for the development of various diseases including obesity. The aim of this study was to identify the presence of these polymorphisms in Mexican adolescents with overweight and obesity at high risk for developing diabetes. Methods and Results: This was a descriptive cross-sectional study, where 71 healthy adolescents (average age of 16) were included. Anthropometric measurements, Body mass index (BMI), as well as the determination of glucose, insulin and Homeostasis Model Assessment (HOMA) index were calculated from all the patients. The FTO rs9939609 and PPAR γ rs1801282 polymorphisms were determined by real-time PCR. 71 teenagers (mean age 16 years) were included in the study, 40 women and 31 men. FTO gene variant rs9939609 was more present in women. There was a significant positive correlation regarding BMI and insulin and HOMA index in those adolescents with a positive expression for the FTO gene variant rs9939609. Conclusion: Our results suggest a positive significant correlation of BMI and insulin and HOMA index in the presence of FTO rs9939609 and PPAR γ rs1801282 polymorphisms



"ASOCIACION CIENTIFICA LATINA"
Conocimiento para la integración y progreso

COVER LETTER

Toluca, Mexico, September 28, 2016

Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases
A. Giaccari
Editor in chief

Dear Professor Giaccari, we are proud to send you the article titled "FTO rs9939609 and PPAR γ rs1801282 polymorphisms in Mexican adolescents with overweight and obesity at high risk for developing diabetes" to be considered for publication as "Original Article" in your recognized journal. This paper has not been published (in part or in full) or submitted for publication elsewhere.

The final manuscript has been seen and approved by all authors and we don't have any commercial associations that might give rise to a conflict of interest in connection with the submitted article.

Sincerely

Dr. Hugo Mendieta Zerón

7.1.3. Abstract

Background and Aims: The presence of the *FTO* rs9939609 and *PPAR γ* rs1801282 polymorphisms suggests changes in energy metabolism; this variation may be responsible for the development of various diseases including obesity. The aim of this study was to identify the presence of these polymorphisms in Mexican adolescents with overweight and obesity at high risk for developing diabetes. **Methods and Results:** This was a descriptive cross-sectional study, where 71 healthy adolescents (average age of 16) were included. Anthropometric measurements, Body mass index (BMI), as well as the determination of glucose, insulin and Homeostasis Model Assessment (HOMA) index were calculated from all the patients. The *FTO* rs9939609 and *PPAR γ* rs1801282 polymorphisms were determined by real-time PCR. 71 teenagers (mean age 16 years) were included in the study, 40 women and 31 men. *FTO* gene variant rs9939609 was more present in women. There was a significant positive correlation regarding BMI and insulin and HOMA index in those adolescents with a positive expression for the *FTO* gene variant rs9939609. **Conclusion:** Our results suggest a positive significant correlation of BMI and insulin and HOMA index in the presence of *FTO* rs9939609 and *PPAR γ* rs1801282 polymorphisms.

7.1.4. Introducción

Obesity is a multifactorial disease determined by genetic and environmental factors [1–3]. Several studies have associated it with the presence of specific polymorphisms with phenotypes of obesity, diabetes mellitus, and related metabolic syndrome [4,5]. Moreover, it has been shown that mutations change the protein activity or expression and may decrease the regulation of basal energy expenditure because of the variety of coupling of oxidative phosphorylation and affect the pancreas function and insulin secretion. So far, there is uncertainty about the grade of contribution of individual genes for metabolic disorders, or probably a combination of

different genetic variants that affect metabolism and thermogenesis that could explain a greater tendency to develop metabolic disorders [6,7].

In recent decades, it has been a driven research in the search for single nucleotide polymorphisms that explain the possible changes in the signaling pathways that regulate metabolic processes, such as diabetes and obesity. Some polymorphisms, such as fat mass associated with obesity (*FTO*), peroxisome proliferator nuclear receptor (*PPAR*), and deiodinase-2 (*D2*), among others, have been reported as obesity-related polymorphisms, although the results are varied [8–10].

The *PPAR* is a regulatory gene for adipocyte differentiation encoding a member of the subfamily activated by peroxisome proliferator nuclear receptors [11]. These receptors are present in different metabolic pathways related to the energy balance aside from the lipid route. There are three *PPAR* subtypes: alpha, beta, and gamma or delta. The *PPAR* γ is now recognized as a master regulator of adipogenesis, being more specific in white adipose tissue (WAT), which is involved in lipid storage and dissipation of energy [12,13].

The *FTO* gene is located on chromosome 16 (16q12.2), encoding the production of a nuclear protein with nucleic acid demethylase. Its action has been linked to various biochemical and physiological processes, which can include DNA repair, temperature homeostasis, and regulation of lipid storage and adipose tissue. It has also been determined that the protein is mainly localized in the hypothalamus and pancreas [14,15].

FTO was the first gene to be associated with obesity by genome-wide association studies (GWAs). Adults with the rs9939609 polymorphism, weighs, on average, 3-4 kg or more and has a 1.67-fold increased risk of obesity [16].

The aim of this study was to identify the *FTO* rs9939609 and *PPAR γ* rs1801282 polymorphisms in Mexican adolescents with overweight and obesity who are at high risk for developing diabetes.

7.1.5. Subjects and methods

Study Population

Students without known disease, between 14 and 18 years from the "Lic.Adolfo Lopez Mateos" Preparatory school of the Autonomous University of the State of Mexico (UAEMex), were invited to participate. Those with a history of smoking, pregnancy, or being diagnosed with chronic diseases were excluded.

Anthropometry

The body mass index (BMI) was calculated as weight (kg) divided by height (m) squared with conventional stadiometer; dividing the results in normal, overweight, and obesity according to the classification of the World Health Organization (WHO), specifically for adolescents by gender and age.

Laboratory

A total of 3 mL of venous blood (Vacutainer tubes) was taken from the subjects in fasting. The concentrations of glucose, total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, and triglycerides were determined by enzymatic methods (Randox Laboratories Ltd, County Antrim, UK); whereas, leptin and adiponectin concentrations were determined by enzymelinked immunosorbent assay (ELISA) (Invitrogen MR Frederyck MD USA). One sample remained frozen at -70°C (900 series Thermo Scientific) until DNA extraction.

Genotyping

DNA extraction was performed in the Magna Pure LC 2.0 Instrument (Roche, Germany) using the MagNA Pure LC DNA Isolation Kit 1 (Roche, Germany). After extraction, the DNA was

quantified using a NanoPhotometer (Implen GmbH, Germany), reporting concentration ($\mu\text{g/mL}$) and purity (260/280 absorbance). Genotyping was performed by polymerase chain reaction (PCR) Life express thermal cycler (Bioer, China). The primers and conditions for each polymorphism are listed in Table 1.

The oligonucleotides were designed using the Primer Quest web tool (Integrated DNA Technologies, Inc., CA, USA) and synthesized at the Synthesis and DNA Sequencing Unit of the National Autonomous University of Mexico (UNAM) Institute of Biotechnology (Cuernavaca, Morelos, Mexico). A search was performed in BLAST to verify the correct hybridization. The final products were visualized in 2% agarose gels, stained with ethidium bromide, and visualized under a UV transilluminator (Gel Logic 212 Pro, Carestream, USA). To confirm the detection of polymorphisms, sequencing was performed at the National Institute of Genomic Medicine (INMEGEN), Mexico City.

7.1.6. Ethics

The study was approved by the Institutional Review Board of the Medical Sciences Research Center (CICMED), Autonomous University of the State of Mexico (UAEMéx), code: 2015/14. Parental consent was requested, as well as the assent of the students following the recommendations of the Declaration of Helsinki, Fortaleza, Brazil 2013 and the Mexican official standard NOM-012-SSA3-2012.

7.1.7. Statistical analysis

The descriptive analysis was performed using mean and standard deviation. The polymorphisms' prevalence was expressed as percentage. Student's T-test and Chi square quantitative variables were used for dichotomous variables. In all cases, significant difference was considered if $p < 0.05$. All statistical analyses were performed using SPSS software version 19 (IBM SPSS Statistics for Windows, Armonk, NY: USA).

7.1.8. Results

A total of 71 teenagers (mean age of 16 years) were included in the study — 40 women and 31 men. The BMI was 23.9 ± 3.8 in women and 25.3 ± 3.7 in men. The parameters related to adiposity were higher in women (cholesterol, leptin, triglycerides).

Table 2 shows the descriptive analysis of the variables by sex, indicating significant differences in weight and height, as well as in the *FTO* gene variant rs9939609, being more present in women. The fact that men are heavier was reflected in the tendency for glucose, insulin, and HOMA index to be slightly higher, but significant difference was not achieved. With respect to the association of genotypes with obesity. Table 3 shows the correlation between BMI and glucose, insulin, and HOMA index. The volunteers were grouped by the presence/absence of genetic variants of *FTO* and *PPAR γ* . Statistical significance was found in the value of insulin and HOMA for both genotypes, be it alone or combined.

7.1.9. Discussion

The relationship of *FTO* rs9939609 and *PPAR γ* rs1801282 polymorphisms with body weight presents conflicting results in the literature, probably attributed to different factors such as eating habits, presence of diseases like diabetes or other undiagnosed diseases, as well as the physical activity of each person.

The polymorphism *PPARG* Pro12Ala (rs1801282) has been studied in different populations with contradicting results; in some studies, Ala allele was associated with obesity [17,18], whereas in a Chinese population, it was reported as a protecting factor [19]. In this study, no association under any model was found.

In a previous publication of Saldaña-Álvarez, they found that *FTO* SNPs make differential contributions to obesity risk, which supports the hypothesis that gender differences in the

mechanisms involving these variants may contribute to disease development [20]. With this, despite the evaluated SNPS that was not considered in the study of Saldaña-Álvarez, possible gender implication is confirmed as a risk for obesity.

Meanwhile, Díaz-Anzaldúa published that differences in mean BMI in Mexican patients with bipolar disorder were explained by rs8050136 and rs9939609 genotypes [21]. *FTO* locus was significantly associated with increased BMI in indigenous Mexican populations [22]. Furthermore, Muñoz-Yáñez published that *FTO* rs9939609 was associated with obesity-related traits, including BMI, waist circumference, triceps skinfold, and waist/height ratio, and also with cholesterol levels and LDL [23]. *FTO* rs9939609 was also associated with risk of obesity in Mexican (OR = 1.38, p = 0.03) and Chinese populations (OR = 1.29, p = 0.001) [9,24].

On the other hand, previous studies reported that each polymorphism has specific associations, for example, that of *FTO* with the waist-hip ratio, which is something we could not notice. However, the presence of this gene was more notable in women than in men. In another study, variants in the *FTO* gene were associated with the metabolic syndrome and glucose levels, thus finding an association with insulin resistance. The results suggest a positive significant correlation of BMI and insulin and HOMA index with the presence of *FTO* rs9939609 polymorphism.

In relation to *PPAR* γ rs1801282, Huang et al., published that the combination of the rs2282440-SDC3T/T genotype with the rs1801282 *PPAR* γ 2 carrier genotype was strongly associated with obesity [25]. To some extent, this is consistent with the results of this study. A very important issue to consider is that the association between *PPAR* γ 2 Pro12Ala genotype and insulin resistance is modified by circulating lipids in Mexican children [26].

A limitation of the study is the small sample size; however, investigation concerning the association of a polymorphism and a clinical parameter for metabolic syndrome or obesity can be noted in small samples to be clinically significant.

7.1.10. Acknowledgments

All of the authors are grateful to the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)-México, for the M.Sc. scholarship of María de los Angeles MartínezMartínez.

7.1.12. Funding

This work was supported by the Ministry of Education, Mexico: PROMEP 2013, Fortalecimiento de Cuerpos Académicos. CA-186, file 103105/13/9057.

7.1.12. References

1. Froguel P, Boutin P. Genetics of pathways regulating body weight in the development of obesity in humans. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2001;226(11):991–6.
2. Chang L, Neu J. Early factors leading to later obesity: interactions of the microbiome, epigenome, and nutrition. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care*. 2015;45(5):134–42.
3. Huang T, Hu FB. Gene-environment interactions and obesity: recent developments and future directions. *BMC Med Genomics*. 2015;8 Suppl 1:S2.
4. Hsiao T-J, Lin E. A Validation Study of Adiponectin rs266729 Gene Variant with Type 2 Diabetes, Obesity, and Metabolic Phenotypes in a Taiwanese Population. *Biochem Genet*. 2016 Jul 7; doi: 10.1007/s10528-016-9760-y.
5. Zandona MR, Sangalli CN, Campagnolo PDB, Vitolo MR, Almeida S, Mattevi VS. Validation of obesity susceptibility loci identified by genome-wide association studies in early childhood in South Brazilian children. *Pediatr Obes*. 2016 Mar 23; doi: 10.1111/ijpo.12113.
6. Bell CG, Walley AJ, Froguel P. The genetics of human obesity. *Nat Rev Genet*. 2005;6(3):221–34.

7. Kong X, Zhang X, Xing X, Zhang B, Hong J, Yang W. The Association of Type 2 Diabetes Loci Identified in Genome-Wide Association Studies with Metabolic Syndrome and Its Components in a Chinese Population with Type 2 Diabetes. *PloS One*. 2015;10(11):e0143607.
8. Hinney A, Nguyen TT, Scherag A, Friedel S, Bronner G, Muller TD, et al. Genome wide association (GWA) study for early onset extreme obesity supports the role of fat mass and obesity associated gene (FTO) variants. *PloS One*. 2007;2(12):e1361.
9. Villalobos-Comparán M, Flores-Dorantes MT, Villarreal-Molina MT, Rodríguez-Cruz M, García-Ulloa AC, Robles L, et al. The FTO gene is associated with adulthood obesity in the Mexican population. *Obesity (Silver Spring)*. 2008;16(10):2296–301.
10. Prakash J, Mittal B, Srivastava A, Awasthi S, Srivastava N. Association of FTO rs9939609 SNP with Obesity and Obesity- Associated Phenotypes in a North Indian Population. *Oman Med J*. 2016;31(2):99–106.
11. Cavojsky T, Bilka F, Paulikova I. [The relationship of lipid imbalance and chronic inflammation mediated by PPAR]. *Ceska Slov Farm*. 2016;65(1):3-9.
12. Ali AT, Hochfeld WE, Myburgh R, Pepper MS. Adipocyte and adipogenesis. *Eur J Cell Biol*. 2013;92(6-7):229–36.
13. Yu J, Kong X, Liu J, Lv Y, Sheng Y, Lv S, et al. Expression profiling of PPARγ-regulated microRNAs in human subcutaneous and visceral adipogenesis in both genders. *Endocrinology*. 2014;155(6):2155–65.
14. Fredriksson R, Hagglund M, Olszewski PK, Stephansson O, Jacobsson JA, Olszewska AM, et al. The obesity gene, FTO, is of ancient origin, up-regulated during food deprivation and expressed in neurons of feeding-related nuclei of the brain. *Endocrinology*. 2008;149(5):2062–71.
15. Do R, Bailey SD, Desbiens K, Belisle A, Montpetit A, Bouchard C, et al. Genetic variants of FTO influence adiposity, insulin sensitivity, leptin levels, and resting metabolic rate in the Quebec Family Study. *Diabetes*. 2008;57(4):1147–50.

16. Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, Lindgren CM, et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science*. 2007;316(5826):889–94.
17. Morini E, Tassi V, Capponi D, Ludovico O, Dallapiccola B, Trischitta V, et al.

Interaction between PPARgamma2 variants and gender on the modulation of body weight. *Obesity (Silver Spring)*. 2008;16(6):1467–70.
18. Bhatt SP, Misra A, Sharma M, Luthra K, Guleria R, Pandey RM, et al. Ala/Ala genotype of Pro12Ala polymorphism in the peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 gene is associated with obesity and insulin resistance in Asian Indians. *Diabetes Technol Ther*. 2012;14(9):828–34.
19. Wang X, Liu J, Ouyang Y, Fang M, Gao H, Liu L. The association between the Pro12Ala variant in the PPARgamma2 gene and type 2 diabetes mellitus and obesity in a Chinese population. *PloS One*. 2013;8(8):e71985.
20. Saldaña-Álvarez Y, Salas-Martínez MG, García-Ortiz H, Luckie-Duque A, GarcíaCárdenas G, Vicenteño-Ayala H, et al. Gender-Dependent Association of FTO Polymorphisms with Body Mass Index in Mexicans. *PloS One*. 2016;11(1):e0145984.
21. Díaz-Anzaldúa A, Ocampo-Mendoza Y, Hernández-Lagunas JO, Díaz-Madrid FA, Romo-Nava F, Juárez-García F, et al. Differences in body mass index according to fat mass- and obesity-associated (FTO) genotype in Mexican patients with bipolar disorder. *Bipolar Disord*. 2015;17(6):662–9.
22. León-Mimila P, Villamil-Ramírez H, Villalobos-Comparán M, Villarreal-Molina T, Romero-Hidalgo S, López-Contreras B, et al. Contribution of common genetic variants to obesity and obesity-related traits in mexican children and adults. *PloS One*. 2013;8(8):e70640.
23. Muñoz-Yáñez C, Pérez-Morales R, Moreno-Macías H, Calleros-Rincón E, Ballesteros G, González RA, et al. Polymorphisms FTO rs9939609, PPARG rs1801282 and ADIPOQ rs4632532 and rs182052 but not lifestyle are associated with obesity related-traits in Mexican children. *Genet Mol Biol*. 2016; Jul 14. doi: 10.1590/1678-4685-GMB-20150267.

24. Xi B, Shen Y, Zhang M, Liu X, Zhao X, Wu L, et al. The common rs9939609 variant of the fat mass and obesity-associated gene is associated with obesity risk in children and adolescents of Beijing, China. *BMC Med Genet.* 2010;11:107.
25. Huang W-H, Hwang L-C, Chan H-L, Lin H-Y, Lin Y-H. Study of seven singlenucleotide polymorphisms identified in East Asians for association with obesity in a Taiwanese population. *BMJ Open.* 2016;6(8):e011713.
26. Stryjecki C, Peralta-Romero J, Alyass A, Karam-Araujo R, Suárez F, Gómez-Zamudio J, et al. Association between PPAR-gamma2 Pro12Ala genotype and insulin resistance is modified by circulating lipids in Mexican children. *Sci Rep.* 2016;6:24472.

Table 1. Primers and conditions for each gene

Polymorphism [NCBI]	Forward	Reverse	Conditions
<i>FTO</i> [NG_012969.1]	tggctcttgaatgaaataggattcagaa	agcctctctaccatcttatgtccaaca	denaturation: 95°C for 10 minutes, initial cycle of 15 sec at 95°C, 30 sec at 60°C, and 30 sec at 72°C for 40 cycles and an extension end at 72°C for 5 minutes
<i>PPARγ</i>	ccaattcaagcccagtcctttc	cagtgaaggaatcgctttccg	denaturation at 95°C for 5 minutes, initial cycle of 40 sec at 94°C, 50 sec at 55°C, and 1 min at 72°C for 35 cycles and a final extension at 72°C for 7 min

FTO: fat mass and obesity associated, *PPAR γ* : peroxisome proliferator activated receptor gamma.

Table 2. General characteristics of the population

Variable	Total (n=71)	Women (n=40)	Men (n=31)	p
Age (years) ^a	15.7±0.7		15.8±0.7	15.7±0.7 0.525
Height (m) ^a	1.63±0.09	1.57±0.06	1.70±0.07	≤0.001
Weight (kg) ^a	65.8±13.8	59.4±9.6	74.0±14.2	≤0.001
BMI (kg/mm ²) ^a	24.5±3.8	23.9±3.8	25.3±3.7	0.111
Glucose (mg/dL) ^a	91.9±6.4	90.7±4.9	93.4±7.8	0.079
Insulin (IU/mL) ^a	14.6±8.3	14.5±8.2	14.8±8.5	0.899
HOMA Index ^a	3.03±1.83	2.96±1.78	3.11±1.92	0.743
Cholesterol ^a	168.9±37.9	179.3±40.2	156.0±30.7	0.010
HDL ^a	42.5±10.7	45.7±11.1	38.67±8.9	0.006
LDL ^a	107.1±31.8	112.0±34.0	100.9±28.2	0.149
Uric acid ^a	4.4±1.4	3.6±1.0	5.3±1.3	≤0.001
Triglycerides ^a	131.8±72.1	131.2±63.3	132.5±82.9	0.939
VLDL ^a	19.2±12.2	21.5±12.5	16.3±11.3	0.080
Atherogenic index ^a	4.0±0.9	4.0±1.0	4.1±0.8	0.743
Adiponectin ^a	12.9±4.4	13.8±4.2	11.8±4.4	0.060
Leptin ^a	180.1±161.1	233.9±157.2	110.7±140.1	0.001
Waist/Height Index ^a	0.51±0.6	0.51±0.05	0.51±0.06	0.946
Without SNP ^b	11 (15.5%)	4 (10%)	7 (22%)	0.146
<i>FTO</i> ^b	35 (49.3%)	23 (57%)	12 (39%)	0.041
<i>PPAR</i> ^b	14 (19.7%)	6 (15%)	8 (26%)	0.587
<i>FTO+ PPAR</i> ^b	11 (15.5%)	7 (18%)	4 (13%)	0.595

BMI: body mass index, *FTO*: fat mass and obesity associated, HDL: high-density lipoprotein, HOMA: Homeostasis Model Assessment, LDL: low density lipoprotein, *PPAR* γ : peroxisome proliferator activated receptor gamma, SNP: single nucleotide polymorphism, VLDL: very low density lipoprotein. a: values in mean \pm standard deviation (SD), b: values in frequency and percentage.

Table 3. Correlation between BMI and metabolic parameters grouping by the presence/absence of the studied polymorphisms

	Without SNP (n=11)		<i>FTO</i> (n=45)		<i>PPAR</i> γ (n=25)		<i>FTO+PPAR</i> γ (n=11)	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Glucose	0.303	0.365	0.272	0.070	0.090	0.675	0.292	0.413
Insulin	0.600	0.051	0.391	0.007*	0.529	0.007*	0.627	0.039*
HOMA	0.600	0.051	0.413	0.005*	0.537	0.007*	0.685	0.029*

Index

FTO: fat mass and obesity associated, HOMA: Homeostasis Model Assessment, *PPAR* γ : peroxisome proliferator activated receptor gamma, SNP: single nucleotide polymorphism. *: $p \leq 0.05$.

8 Conclusiones Generales.

8.1. Conclusiones

Aunque no podemos decir que la obesidad tiene relación con la aparición de estos polimorfismos, si podemos mencionar que aquellas personas que presentan niveles de resistencia a la insulina, de índice HOMA y de glucosa elevados; la presencia de estos polimorfismos en ellos es más común debido a que a nivel molecular estos se ven relacionados a elevados niveles grasos en la sangre y en la literatura se hace mención de ello. La presencia de los polimorfismos FTO rs9939609 y PPAR γ rs1801282 sugiere cambios en el metabolismo energético, dicha variación puede ser la responsable del desarrollo de diversos padecimientos entre ellos la obesidad y la resistencia a la insulina.

La relación de estos polimorfismos con el peso corporal presenta resultados contradictorios en la literatura, los diferentes resultados pueden deberse a diferentes factores como hábitos alimenticios, presencia de enfermedades como diabetes u otras patologías no diagnosticadas, así como en gran parte la actividad física de cada persona.

8.2. Limitaciones

Una de las principales limitantes dentro del estudio fue el número total de muestras obtenidas, debido que aunque se tuvo buena participación, la prevalencia reportada de los genes sugiere que el estudio se realice en una población mayor para que sea más representativa y tal vez pudiera encontrarse la asociación que en un principio se buscaba; sin embargo, los resultados obtenidos con los demás parámetros obtenidos, fueron positivos e inesperados con una posibilidad abierta para posteriores investigaciones

8.3. Recomendaciones

Puesto que este tipo de investigaciones dentro de nuestra universidad es de los primeros en realizarse, se recomienda la continuación en esta línea; lo que permitiría la introducción de la nutrigenómica como parte integral del tratamiento preventivo de las personas. Así como la difusión de los resultados y la apertura para la comprobación dentro de las mismas instalaciones.

9. Referencias Bibliográficas

1. Dennis et.al. Niños y adolescentes obesos con síndrome metabólico. *Medisan*. 2012 Julio; 16(7): p. 1098 - 1104.
2. Bell CG et al. The genetics of human obesity. *Nature Reviews Genetics*. 2005 marzo; 6(1).
3. Bertone S R et al. Global identification of human transcribed sequences with genome tiling arrays. *Science*. 2004;(306).
4. Brondani et al LdA. Type role of the uncoupling protein 1 (UCP1) on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus. *Arq Bras Endocrinology Metab*. 2012 mayo; 56(4).
5. Bianco. Deiodinases: implications of the local control of thyroid hormone action. *Int Journal Biochemistry Cell Biol*. 2011 octubre; 43(10).
6. C. D. Variation in FTO contributes to childhood obesity and severe adult obesity. *Nature Genet*. 2007;(39).
7. Camila G. [<http://www.academia.edu/3641909/Obesidad>]; 2014.
8. Pública INdS. Encuesta Nacional de Salud. [Online]; 2012 [cited 2014 septiembre 30. Available from: <http://ensanut.insp.mx/informes/ENSANUT2012ResultadosNacionales.pdf>.
9. V. Cárdenas- Villareal et.al. Prevalencia del síndrome metabólico y sus componentes en adolescentes de la ciudad de Monterrey, Nuevo León. *Archivos de cardiología*. 2010 enero; 80(1).
10. Dominguez JZ&D. Obese children and adolescents with metabolica syndrome. *Medisan*. 2012; 16(7).
11. Fernando Martínez-García et al. Impact of obesity-related genes in Spanish population. *BMC genetics*. 2013 Noviembre; 14(111).
12. Hugo V. Estudio de genes candidatos funcionales en el desarrollo de obesidad en población infantil, adulta e indígena mexicana México, D.F.: IPN; 2013.
13. Müller TD. Fat mass and obesity associated gene (FTO): no significant association o variant rs9939609 with weight loss in a lifestyle intervention and lipid metabolism markers in german obese children and adolescents. *BMC Medical Genetics*. 2008 september; 9(85).
14. Nagai N et.al. UCP1 genetic polymorphism (-3826 A/G) diminishes restig energy expediture and thermoregulatory sympathetic nervous system activity in young females. *Int J Obes London*. 2011;(35).
15. Nakayama K. Seasonal Effects of UCP1 Gene Polymorphism on Visceral Fat Accumulation in Japanese Adults. *Plos One*. 2013 septiembre; 8(9).
16. NCBI. [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/79068>].; 2014.
17. O.et.al. T. Variation in the FTO gene locus is associated with cerebrocortical insulin resistance in humans. *Diabetología*. 2007;(50).
18. Gerken T. et.al. The obesity-associated FTO gene encodes a 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demetrylase. *Science*. 2007;(318).
19. Fredriksson R.et.al. The obesity gene, FTO, is of ncient origin, upregulated during food

- deprivation and expressed in neurons of feeding-related nuclei of the brain. *Endocrinology*. 2008; 149(5).
20. Willer J et.al. Six new loci associated with body mass index highlight a neuronal influence on body. *Nat Genet*. 2009; 41(1).
 21. Do R et.al. Genetic variants of FTO influence adiposity, insulin sensitivity, leptin levels, and resting metabolic rate in the Quebec family study. *Diabetes*. 2008;(57).
 22. Piña A. et.al. Revisión de los principales genes involucrados en el desarrollo de la obesidad. 2011 octubre; 42(4).
 23. Arrojo e Drigo Rafael C.B.A. Type 2 deiodinase at the crossroads of thyroid hormone action. *Int Journal Biochemistry Cell Biol*. 2011 Octubre; 43(10): p. 1432-1441.
 24. Paola LM. Contribution of common genetic variants of obesity and obesity-related traits in Mexican children and adults. *Plos One*. 2013 agosto; 8(8).
 25. Parra S ML. Implicaciones farmacológicas de los receptores activados por los proliferadores de peroxisomas (PPAR). *Iatreia*. 2001; 14(1).
 26. Schoonjans K SBJ. The peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) and their effects on lipid metabolism and adipocyte differentiation. *Biochim Biophys Acta*. 1996; 26.
 27. Torra IP CGea. Peroxisome proliferator-activated receptors: From transcriptional control to clinical practice. 2001; 12.
 28. Martinez J.A., et.al. Causas de obesidad. *An Sist San Navarra*. 2002; 25(1).
 29. Ek J et.al. Homozygosity of the Pro12Ala variant of the peroxisome proliferation-activated receptor gamma2 (PPAR-gamma2): divergent modulating effects on body mass index in obese and lean caucasian men. *Diabetología*. 1999; 42(7).
 30. Robitaille J. Despres JP et.al. The PPAR-gamma P12A polymorphism modulates the relationship between dietary fat intake and components of the metabolic syndrome: results from the Quebec Family Study. *Clinic Genetic*. 2003; 63(2).
 31. Ochoa MC, et.al. Estudios sobre la obesidad en genes candidatos. *Med Clinic (Barc)*. 2004; 122(14).
 32. Meirhaeghe A et.al. Impact of peroxisome proliferator activated receptor gamma2 Pro 2Ala polymorphism on adiposity, lipids and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Int J Obes relat Metab Disord*. 2000; 24(2).
 33. R. A. Role of the type 2 iodothyronine deiodinase (D2) in the control of thyroid hormone signaling. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2013; 1830.
 34. Peralta Romero, Gómez Zamudio, et.al. Genética de la Obesidad Infantil. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*. 2014;52 (sup11) : S78-S87
 35. PhD MWK. Página de Bioquímica Médica. [Online].; 2013 [cited 2014 octubre 20]. Available from: <http://themedicalbiochemistrypage.org/es/ppar-sp.php#pparg>.
 36. Association between PPARγ2Pro12Ala polymorphism and myocardial infarction and obesity in Han Chinese in Hohhot, China. *Genetics and Molecular research*. 2012 mayo; 11(3).
 37. Iwai M et al. Irbesartan increased PPARγ activity in vivo in white adipose tissue of

- atherosclerotic mice and improved adipose dysfunction. *Biochemistry Biophys. Res. Commun.* 2011;(406).
38. S.P. BMyW. Signatures of natural selection in the human genome. *Nature Reviews Genetics.* 2003; 4(2).
 25. Ll. Forga et. al. Influencia del polimorfismo-3826A/G en el gen de la UCP1 sobre los componentes del síndrome metabólico. *Anales del Sistema Sabitario de Navarra.* 2003 mayo; 26(2).
 26. M. Aguilar et al. Obesidad y su relación con marcadores de inflamación y ácidos grasos de eritrocito en grupo de adolescentes obesos. *Nutrición Hospitalaria.* 2012; 27(1).
 41. Williams et al. Local control of thyroid hormone action: role of type 2 deiodinase. *Journal of Endocrinology.* 2011; 209.
 42. Wang S.P. Yang H, et al. Metabolism as tool for understanding human brain evolution: Lipid energy metabolism as an example. *Journal Human Evolution.* 2014 Diciembre; 77: p. 41-49.
 43. J. N. Diabetes mellitus: a thrifty genotype rendered detrimental by progress? *Am. Journal Genetic.* 1962; 14: p. 353-362.
 44. Braud S. C, et al. Energy expenditure genes or energy absorption genes: a new target for the treatment of obesity and type II diabetes. *Future Med Chem.* 2010 december; 2(12): p. 1777-1783.
 45. Sellayah D., R. Felino, Cagampang, Cox Roger. On the evolutionary origins of obesity: a new hypothesis. *Endocrinology.* 2014 Febrero; 155(5): p. 1573-1588.
 46. B. C. The global epidemic of obesity: an overview. *Epidemiology Rev.* 2007; 29(1): p. 1-5.
 47. Chacín M. Rojas J, et al. Predisposición humana a la obesidad, síndrome metabólico y diabetes: el genotipo ahorrador y la incorporación de los diabetogenes al genoma humano desde la antropología biológica. *Diabetes internacional.* 2011 abril; 3(2): p. 36-49.
 48. Velia Margarita Cárdenas-Villareal et al. Prevalencia del síndrome metabólico y sus componentes en adolescentes de la ciudad de Monterrey, Nuevo León. *Archivos de cardiología de México.* 2009 noviembre; 80(1).

10 Anexos:**CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Título: “ASOCIACIÓN ENTRE MARCADORES MOLECULARES Y OBESIDAD EN ADOLESCENTES DEL NIVEL MEDIO SUPERIOR DE LA UAEMÉX”

Objetivo.

Es un estudio que pretende identificar la presencia de algunos marcadores moleculares y asociarlos con sobrepeso y obesidad en los adolescentes.

Datos de Contacto.

Para cualquier inquietud sobre el proyecto se puede comunicar con la Dra. María del Socorro Camarillo Romero en el teléfono 219 41 22 ext. 114

Metodología.

Solicitamos su autorización, para la extracción de una muestra sanguínea (3mL). Dicha muestra nos servirá para realizar identificar a presencia de genes y pensamos que en el futuro puedan ser útiles para otras investigaciones relacionadas a la prevención de obesidad.

El análisis de las muestras se llevará a cabo en el Centro de Investigación en Ciencias Médicas (CICMED) de la UAEMéx.

Riesgos.

El estudio es considerado con riesgo mínimo

.

Beneficios.

Se darán una asesoría nutricional grupal a los participantes, y aquellos que lo soliciten de manera personal. Las asesorías se darán sin costo durante el tiempo que dure este estudio.

Al firmar esta hoja usted está confirmando lo siguiente:

Se me ha garantizado la completa confidencialidad sobre mi identidad y los resultados obtenidos en la investigación, de hecho existe un acuerdo entre las instituciones participantes de que los datos resultantes del desarrollo del protocolo son confidenciales y no se realizará ninguna mención de los sujetos participantes del estudio.

Se me ha dicho y entiendo que la participación en este estudio es voluntaria y puedo decidir participar o no sin ningún costo monetario ni la retribución económica de ninguna forma. Así mismo puedo retirarme en cualquier momento sin ningún tipo de consecuencia negativa y me han sido contestadas todas las preguntas que he formulado.

Basado en lo anterior, otorgo mi consentimiento para participar en este estudio.

Firma _____ **Testigo** _____

Fecha _____

He discutido este estudio de investigación con el participante y su tutor utilizando un lenguaje entendible y apropiado. Considero que he informado completamente a este participante sobre la naturaleza del estudio y sus posibles beneficios y riesgos y considero que el participante entendió la explicación.

Fecha

Firma del Investigador Principal

ASENTIMIENTO INFORMADO

Usted ha sido invitado a tomar parte en un estudio de investigación que incluye el análisis de cómo es que los genes, los componentes sanguíneos o el DNA se asocian a la obesidad. La Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM) realizará este estudio a través del Cuerpo Académico de Investigación Biomédica del Centro de Investigación en Ciencias Médicas de la UAEM.

¿Por qué se me pide proporcionar una muestra de sangre para estos análisis?

Se le pide que proporcione una muestra de sangre para el análisis de los genes, o DNA, y otros componentes relacionados a la obesidad. Su autorización para proporcionar esta muestra de sangre es opcional y depende completamente de usted. Usted recibirá el mismo tratamiento y atención sin importar si decide proporcionar o no la muestra de sangre para estos análisis. Si decide no proporcionar su sangre o si retira su consentimiento, no perderá ningún beneficio, tratamiento médico o derechos legales que de otro modo le corresponden.

¿Qué efectos adversos (malos) me pueden ocurrir por donar esta muestra de sangre?

Usted podría sentir un ligero dolor en el lugar de la inserción de la aguja y podría desarrollar un hematoma, lo que rara vez sucede.

¿Qué beneficios puedo esperar por donar esta muestra de sangre?

Mientras dure el estudio recibiré asesoría nutricional grupal o individual sin costo alguno, entendiendo que al proporcionar la muestra de sangre cedo completamente los derechos a la UAEMéx para estudios o investigaciones posteriores que de ahí surjan puedan surgir. Las muestras de sangre obtenidas en este estudio, cualquier análisis genético y cualquier información sobre genes son de propiedad exclusiva de la UAEMéx. Todas las líneas celulares, las patentes, las pruebas de diagnóstico, medicamentos y productos biológicos desarrollados directa o indirectamente a partir de estas muestras son también de propiedad exclusiva de la UAEMéx (y de sus sucesores, concesionarios y cesionarios).

¿Cómo se protegerá la información que me identifica?

Si usted acepta proporcionar una muestra al momento de la extracción de sangre, su muestra será etiquetada con un número codificado. La muestra no será etiquetada con su nombre ni con ningún otro identificador personal.

A menos que se requiera por ley, sólo el médico y el personal del estudio, los representantes de la UAEMéx involucrados en este estudio, los comités independientes de ética y los inspectores de las agencias reguladoras del gobierno tendrán la capacidad de asociar la información sobre su muestra genética con sus registros médicos. Bajo circunstancias específicas, por ejemplo, durante una auditoría por parte de la agencia reguladora o por parte de la UAEMéx, se puede volver a vincular la información de su muestra genética con sus registros médicos haciendo uso de la clave que se mantiene en el sitio del estudio.

¿Se me permitirá tener acceso a la información que se recopile sobre mí?

Usted puede tener acceso a la información que se recopile sobre usted como parte del estudio principal solicitándola a su médico del estudio, como se describe en el consentimiento informado o autorización para el estudio principal. No se recopilará ninguna información adicional sobre usted para llevar a cabo estos análisis genéticos.

¿A quién llamo si tuviera preguntas?

En caso de preguntas sobre el estudio, llame a: L.N. María de los Angeles Martínez Martínez al teléfono 7224184082 y Dra. María del Socorro Camarillo Romero al teléfono 219 41 22 ext. 114

He leído este formato de consentimiento. Todas mis preguntas han sido respondidas. Acepto proporcionar una muestra de sangre bajo las condiciones descritas en este formato de consentimiento.

Nombre y Firma: _____

Fecha: _____



El Gobierno del Estado de México, a través de la Secretaría de Salud, el Instituto de Salud del Estado de México, el Grupo Ad Hoc de Investigación en Salud y la Coordinación Estatal de Lactancia Materna y Bancos de Leche, otorga el presente

RECONOCIMIENTO

a

MARIA DE LOS ANGELES MARTINEZ MARTINEZ

Por haber participado en el XIX Foro Interinstitucional de Investigación en Salud con el trabajo titulado: "OBESIDAD Y RESISTENCIA A LA INSULINA EN PRESENCIA DE SNP FTÓ Y PPARƔ EN ADOLESCENTES", efectuado en Toluca, Estado de México, los días 25 y 26 de agosto de 2016.



LIC. LIZDAH IVETTE GARCÍA RODRÍGUEZ
SECRETARIA TÉCNICA DEL CEIFCRHIS

MTRA. YOLANDA SENTÍES ECHEVERRÍA
COORDINADORA ESTATAL DE LACTANCIA MATERNA
Y BANCOS DE LECHE

**Simposio Internacional
de Inmunonutrición
Avanzada: Microbiota e
Inmunidad Intestinal**

23-25 de Mayo
FACULTAD DE MEDICINA,
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
TOLUCA/MÉXICO/2016



www.inmunonutriciontoluca2016.com
info@immunology.uatolucamex.com

CERTIFICADO DE COMUNICACIÓN

Los Comités Organizador y Científico certifican que la comunicación con el título

224/34 - Identificación de polimorfismos FTO y PPAR γ en adolescentes de alto riesgo para el desarrollo de diabetes.

del/de los autor/es

(1) María de los Angeles Martínez-Martínez, (2) Hugo Mendieta-Zerón, (3) Luis Gustavo Celis-Regalado, (4) Eneida Del Socorro Camarillo-romero, (5) Jose De Jesus Garduño-garcía, (6) Socorro Camarillo-Romero

ha sido presentada en el

***Simposio Internacional de Inmunonutrición Avanzada:
Microbiota e Inmunidad Intestinal,***

celebrado en la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de México, los días 23 al 25 de Mayo de 2016.

Toluca, 25 de Mayo de 2016

Dra. Roxana Valdés Ramos
Organizadora del Simposio

Prof. Ascensión Marcos
Presidenta de ISIN



Organiza



La Fundación Colombiana de Obesidad - FUNCOBES

Tema:

"Identificación De Polimorfismos FTO y PPAR γ En Adolescentes De Alto Riesgo Para El Desarrollo De Diabetes"

Autores:

Martínez, María de los Ángeles; Mendieta-Zerón, Hugo; Cella Regalado, Luis Gustavo; Quintero Vásquez, Carlos; Camarillo-Romero, Enelda Del Socorro; Garduño-García, José De Jesús; Camarillo Romero, Socorro

Asistió en Calidad de

Ponentes Trabajos Científicos

Al XII Congreso Colombiano de Obesidad,
realizado en el Auditorio de la Cámara de Comercio de Bogotá D.C.,
los días 11, 12 y 13 de Agosto de 2016.

ALVARO ESPINOSA TORRES, MD
Presidente - FUNCOBES

IVAN DARIÓ ESCOBAR DUGUE, MD
Coordinador General XII Congreso

HERNÁN YOPANDUI LOZANO, MD
Director Científico XII Congreso

con el apoyo de



Capítulo 3. Determinación de polimorfismos por PCR en punto final

Lic. en Nat. María de los Angeles Martínez Martínez, Dr. Hugo Mendieta Zerón, Dr. Luis Gustavo Celis Regalado, Dra. María del Socorro Camarillo Romero.

Introducción

El comportamiento epidemiológico de algunas enfermedades actuales ha suscitado que nuevas explicaciones a antiguas teorías aparezcan acompañadas de los adelantos de la tecnología. De ahí que específicamente para el estudio de los polimorfismos sea muy común la técnica de Reacción de Cadena de Polimerasa (PCR), la cual es una técnica muy utilizada y novedosa con diferentes aplicaciones principalmente en biología molecular.

Para entrar de lleno en el tema debemos de comenzar por explicar que nuestra información genética está contenida en el ADN, el cual está expuesto a varias alteraciones que pueden dar como resultado la aparición de diversas enfermedades. Estas alteraciones genéticas pueden ser grandes reorganizaciones cromosómicas, así como duplicaciones o deleciones de fragmentos y hasta cromosomas enteros.¹

Los cambios en nuestro ADN son llamadas mutaciones, que pueden originarse por errores en la replicación y reparación del ADN, así también pueden darse por factores ambientales.^{2,3}

La mutación o el cambio de alguna de las bases en el ADN a esto se le conoce como polimorfismo; pero para ser considerado como tal debe de tener una frecuencia de uno de sus alelos en la población superior al 1%; estos polimorfismos pueden ser causa de enfermedades así como también tener efectos destructores en el organismo.¹

El estudio de los polimorfismos ha ido teniendo un gran auge en los últimos años ya que sus aplicaciones van desde la medicina forense hasta la biología molecular para el diagnóstico y prevención de nuevas enfermedades.¹

Los polimorfismos se han empleado como marcadores genéticos en la investigación de diversas enfermedades y su papel biológico en el proceso metabólico de los seres humanos.^{4,7}

Existen diferentes tipos de polimorfismos que se han ido estudiado y a su vez se han implementado diferentes técnicas aplicadas para su determinación; pero hablaremos específicamente de la determinación de polimorfismos por PCR en punto final, que es una técnica que consiste en amplificar exponencialmente cualquier segmento de ADN de secuencia conocida.⁸

23

Verlag / Editorial:
Editorial Académica Española
ist ein Imprint der / es una marca de
OmniScriptum GmbH & Co. KG
Bahnhofstraße 28, 66111 Saarbrücken, Deutschland / Alemania
Email / Correo Electrónico: info@omniscryptum.com

Herstellung: siehe letzte Seite /
Publicado en: consulte la última página
ISBN: 978-3-639-66598-7

Copyright / Propiedad literaria & cop Hugo Mendieta Zerón
Copyright / Propiedad literaria © 2016 OmniScriptum GmbH & Co. KG
Alle Rechte vorbehalten. / Todos los derechos reservados. Saarbrücken 2016