

**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---



**FACULTAD DE MEDICINA**

**DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSTGRADO  
E INVESTIGACIÓN**

**INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES  
DE LOS TRABAJADORES DEL ESTADO**

**ANÁLISIS DE POLIMORFISMOS EN EL GEN DE LA LEPTINA EN UNA  
MUESTRA DE 100 PACIENTES MEXICANOS CON OBESIDAD**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN QUE PRESENTA:  
DR. MARIO IVAN URBINA SANCHEZ**

**PARA OBTENER EL DIPLOMA DE LA ESPECIALIDAD EN  
MEDICINA INTERNA**

**ASESOR DE TESIS:  
DR. HERMENEGILDO VICENTEÑO AYALA  
DRA. GABRIELA SALAS PÉREZ  
DRA. VICTORIA GÓMEZ VÁZQUEZ**

**NO. REGISTRO DE PROTOCOLO  
147.2007  
2007**





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **AGRADECIMIENTOS.**

A Dios.

A mis padres por su amor incondicional, por la inagotable "Beca Urbina- Sánchez".

A ti mamá que eres mi más grande ejemplo de amor, superación, de lucha y de perseverancia.

A ti Papá por enseñarme el valor del trabajo, de la honestidad, de la ética, por tus consejos siempre acertados.

A mi pequeña familia, Marcela y Pablo, por la paciencia, la comprensión la tolerancia y el amor.

A mis hermanos, Gabriela y Arturo mi amigo, mi capitán.

A mis familias Urbina, Sánchez, y Macip Lanzagorta.

A mis profesores, a mis verdaderos maestros mis compañeros y amigos residentes.

## INDICE

<b>RESUMEN</b>	<b>4</b>
<b>INTRODUCCION</b>	<b>11</b>
<b>JUSTIFICACION</b>	<b>17</b>
<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>18</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>19</b>
Objetivo general	19
Objetivos particulares	19
<b>HIPOTESIS</b>	<b>20</b>
<b>MATERIAL Y METODOS</b>	<b>21</b>
Tipo De Estudio	21
Grupo de Estudio	21
Análisis Molecular	21
Genotipificación De SNP's	22
Discriminación Alélica Por El Método Fluorescente De 5' Exonucleasa (Taqman).	22
Análisis estadístico e interpretación de los datos.	23
Ubicación del estudio.	23
Consideraciones éticas.	23
<b>INFORMACION SOBRE EL ESTUDIO DE INVESTIGACION PARA LOS PACIENTES.</b>	<b>24</b>
Carta Invitación	24
¿Cuál es el procedimiento?	24
¿Cuál es el propósito de estudio?	25

¿Quién participa en este estudio?	25
¿Porqué debería yo considerar mi participación en el estudio?	25
¿Tengo necesariamente que participar en el estudio? Si acepto participar, puedo cambiar de opinión o retirarme.	26
¿En qué consiste mi participación?	26
¿Qué peligros podría experimentar en este estudio y que harán los investigadores para reducir el riesgo de que estos se presenten?	26
¿Qué harán los investigadores para asegurar que la información que recolecten de mi no caiga en manos equivocadas?	27
¿Qué beneficios personales puedo esperar al participar en este estudio?	27
¿Quién guardará el consentimiento informado una vez que lo he firmado?	28
¿A quién debo acudir en caso de dudas?	28
<b>SOLICITUD DE CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO</b>	<b>29</b>
<b>CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPANTES VOLUNTARIOS SANOS (CONTROLES)</b>	<b>30</b>
<b>CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPANTES ADULTOS CON OBESIDAD</b>	<b>32</b>
<b>CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LA MUESTRA</b>	<b>34</b>
Criterios De Inclusión	34
Criterios De Exclusión	34
<b>RESULTADOS.</b>	<b>35</b>
Participantes.	35
Análisis fenotípico y genotípico.	35
Análisis estadístico.	36
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>42</b>
<b>BIBLIOGRAFIA.</b>	<b>44</b>

## RESUMEN.

La obesidad y sus fenotipos relacionados se encuentran entre las condiciones médicas de mayor importancia en el mundo, afectando aproximadamente 1,400 millones de individuos, por lo que actualmente esta patología es uno de los principales problemas de salud que enfrenta la humanidad. En México cerca de dos tercios de la de la población tiene sobre peso y el 26% de la población padece obesidad.

El diagnóstico de la obesidad se establece con base en el índice de masa corporal (IMC): peso corporal en kilogramos, dividido entre la talla en metros cuadrados; ( $IMC = \text{Peso en Kg.} / m^2$ ).

La homeostasis nutricional está regulada por un mecanismo complejo de señales hormonales que se integran en el hipotálamo y provienen del tejido adiposo y de los sistemas nervioso y digestivo.

La leptina, hormona anorexigenica, es secretada por el tejido adiposo, predominantemente los adipositos pequeños que se encuentran a nivel intrabdominal, los niveles circulantes son proporcionales al porcentaje de grasa corporal y ejerce su efecto a través del receptor LEPR

Uno de los primeros genes implicados en la obesidad fue el gen *LEP*, el cual codifica para la hormona leptina sintetizada por los adipositos

Interesantemente, variaciones polimórficas (SNPs) en este gen y otros, han mostrado una fuerte asociación con fenotipos característicos de la obesidad multifactorial. En este trabajo se propone determinar si, polimorfismos en el gen de la leptina, están asociados con la susceptibilidad a padecer obesidad en población mexicana.

Se reclutaron 100 pacientes con diagnóstico clínico de obesidad, mexicanos, con padres y abuelos mexicanos, sin antecedentes de enfermedades endocrinas o de obesidad secundaria a fármacos; así mismo 91 sujetos clínicamente sanos con un índice de masa corporal ideal, en total 191 individuos participaron en nuestro estudio.

Los pacientes fueron reunidos en el periodo comprendido entre el 15 de enero del 2007 al 3 de Agosto de 2007, y fueron reclutados en la consulta externa de los servicio de Medicina Interna y Endocrinología del Hospital Regional "Lic. Adolfo López Mateos" del ISSSTE.

El análisis genotípico se realizó mediante el método de discriminación alélica por el Método fluorescente de 5' exonucleasa (TaqMan).

El análisis del SNP A19G, localizado en el primer exón del gen que codifica para la leptina (LEPR) en pacientes con obesidad vs controles; mostró que en estado heterocigoto había diferencias estadísticamente significativas ( $p= 0.016$ ) al compararlo con el homocigoto AA. Lo que sugiere que en estado heterocigoto la variante puede estar confiriendo protección.

EL polimorfismo G2548A se localiza en la región promotora del Gen *LEP* en esta región se encuentra un sitio de unión para factores de transcripción, por lo que se ha sugerido que esta variante puede modificar expresión del gen *LEP*.. En este análisis al realizar un estudio de casos y controles, se observó una diferencia estadísticamente significativa al comparar entre la distribución de las dos variantes en estado heterocigoto entre los casos y los controles, sugiriendo que en esta combinación este polimorfismo confiere protección más que susceptibilidad a desarrollar obesidad. Sin embargo, es necesario analizar una muestra mayor para confirmar este resultado.

Palabras clave: Obesidad, índice de masa corporal, Polimorfismo de un solo nucleótido, fenotipos.

## ABSTRACT

The obesity and its phenotypes, are found among the main medical conditions around the world, affecting 1,400 millions people worldwide proximally. In Mexico about two thirds of the population have overweight and about 26% suffer obesity.

The Diagnosis of obesity is made with the body mass index (BMI); the BMI is calculated dividing the weight by the height in squared meters.

The nutritional homeostasis is regulated by a complex hormonal signaling mechanism, generated in fat cells, the nervous and digestive systems and that integrates in the hypothalamus. The anorexigenic hormone Leptin, is secreted by fat cells, particularly by white fat cells of the omentum, exerts its effect by the LEPR receptor, and its circulating levels are proportional to the body fat percentage. Interestingly polymorphic variations in this gene are linked with characteristic phenotypes of multifactorial obesity. In this job we will try to demonstrate that single nucleotide polymorphism (SNPs) A19G and G2548A are linked with obesity susceptibility for obesity.

One hundred subjects with clinical diagnosis of obesity were gathered, Mexican, with parents and grandparents Mexicans, without endocrine disorders background or consumption of drugs which as secondary effect produce obesity. The patients were recruited at the Lic. Adolfo López Mateos hospital, by the internal medicine and endocrinology services. The patient recruiting was made in a lapse between January 15<sup>th</sup> and August 3 of 2007. The genotypic analysis was made by the fluorescent 5' exonuclease Method (Taq Man).

The SNP's A19G and G2548A analysis showed in a case control study that there was no association between this SNP's with obesity, more over is thought to confer protection to the heterozygous carrier, nevertheless is necessary to analyze a bigger sample to confirm this results.

**Key words:** Obesity, Body Mass Index, Polymorphism, Phenotypes.

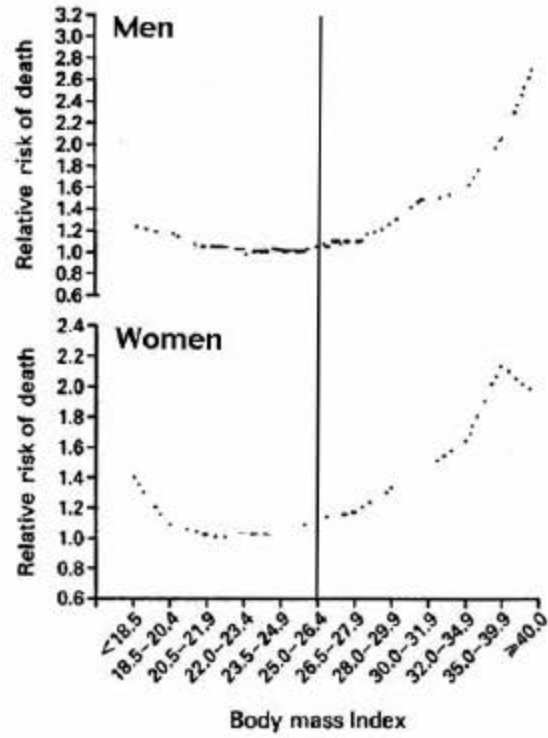
## INTRODUCCIÓN

La obesidad y sus fenotipos relacionados se encuentran entre las condiciones médicas de mayor importancia en el mundo, afectando aproximadamente 1,400 millones de individuos, por lo que actualmente esta patología es uno de los principales problemas de salud que enfrenta la humanidad. En México cerca de dos tercios de la de la población tiene sobre peso y el 26% de la población padece obesidad (22). Esta entidad es el resultado de un balance energético positivo mantenido a lo largo del tiempo, que se caracteriza fundamentalmente por la acumulación excesiva de grasa corporal en el tejido adiposo que compromete la salud del individuo (1,18).

La obesidad esta fuertemente asociada con un aumento en el riesgo a padecer enfermedades como: diabetes, dislipidemias, hipertensión arterial y padecimientos oncológicos como cáncer de colon, mama, ovario y próstata, entre otros (2).

El diagnóstico de la obesidad se establece con base en el índice de masa corporal (IMC): peso corporal en kilogramos, dividido entre la talla en metros cuadrados; ( $IMC = \text{Peso en Kg.} / m^2$ ). El IMC ideal oscila entre 20 y 25, considerándose como sobrepeso entre 25 y 29.9, obesidad grado I de 30-34.9, obesidad grado II de 35.0 a 39.9 y obesidad mórbida grado III cuando existe un IMC mayor de 40.0 (29, 9). Se ha estimado que a mayor IMC existe una mayor mortalidad y comorbilidad (2, 32).





**Gráfica 1.** Se muestra que el índice de masa corporal tiene una relación directamente proporcional con la mortalidad por causas cardiovasculares en adultos no fumadores previamente sanos. Thun MJ, Petrelli JM, et al.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Se cree que los mexicanos tenemos susceptibilidad genética a la obesidad al igual que otras poblaciones o razas. Se han realizado estudios en otras poblaciones susceptibles tratando de identificar los factores genéticos que expliquen dicha susceptibilidad encontrando que el polimorfismo G2548A y A19G en el gen *LEP* se presenta en mayor frecuencia en paciente con IMC > 35 que en aquellos con un IMC normal. (32)

No existe hasta el momento en la literatura el reporte de algún estudio de este tipo en población mexicana, siendo este estudio pionero en su tipo, la finalidad de realizarlo es tener evidencia sólida de la susceptibilidad genética del mexicano a la obesidad, colaborar con la formación de un banco genético y dar el primer paso en el estudio funcional del gen *LEP*, contribuyendo de esta forma al esclarecimiento de la fisiopatología de esta complicada enfermedad.

¿Existen variaciones en el gen *LEP* en pacientes mexicanos con obesidad, que determine la susceptibilidad a desarrolla la enfermedad?

La homeostasis nutricional está regulada por un mecanismo complejo de señales hormonales que se integran en el hipotálamo y provienen del tejido adiposo y de los sistemas nervioso y digestivo.

En el núcleo arcuato del hipotálamo se localizan dos grupos de neuronas aquellas activadas por el neuropéptido Y la proteína aguti- ligada, (NPY/ AGRP) y, las activadas por la Pro-opiomelanocortina, cocaína, anfetamina y sustancias ligadas. (POMC/CART). A estos dos grupos de neuronas llegan diferentes señales provenientes de los diferentes órganos que intervienen en los procesos de absorción, digestión y almacenamiento de nutrientes.

Las hormonas encargadas de activar los distintos grupos neuronales del núcleo arcuato del hipotálamo, se ha dividido en orexigenicas, aquellas que estimulan el apetito y la anorexigenicas con efecto opuesto.

La Leptina es una hormona anorexigenica secretada por el tejido adiposo, predominantemente los adipositos pequeños que se encuentran a nivel intrabdominal, los niveles circulantes son proporcionales al porcentaje de grasa corporal y ejerce su efecto a través del receptor LEPR, inhibiendo las neuronas NPY/AGRP y estimulando a las de POMC/CART. (34)

Este mecanismo desempeña un papel clave en la regulación del peso corporal manteniendo el equilibrio en la ingesta, absorción, almacenamiento, utilización de nutrientes y gasto energético (3).

La patogénesis de la obesidad, como la de la mayoría de las enfermedades es multifactorial. En esta entidad la participación de un componente genético en la etiología del IMC ha sido demostrada fehacientemente por estudios epidemiológicos y de ligamiento genético donde, estudios en familias has demostrado que los familiares de primer grado presentan un mayor riesgo a desarrollar obesidad que la población general (30). Aunque muchos genes han sido propuestos en numerosos estudios, falta mucho camino para determinar los factores involucrados en la susceptibilidad a desarrollar obesidad (20).

Por otro lado, existen dramáticos ejemplos de la influencia de factores ambientales, como en el caso tal vez mas conocido; el de los indios Pima, los cuales al ser expuestos a una dieta con un elevado contenido calórico, presentan uno de los mayores índices de obesidad y diabetes tipo 2 (12, 32).

En los últimos años, la conclusión del Proyecto del Genoma Humano, ha arrojado una avalancha de conocimientos sobre la fisiopatología de ésta y otras enfermedades. El abordaje genómico de esta patología se ha visto favorecido por el desarrollo de tecnología novedosa capaz de analizar a gran escala las variaciones (polimorfismos de un sólo nucleótido: SNPs) que causan susceptibilidad para padecer la enfermedad.

El descubrimiento de la relación que tiene el índice de masa corporal con regiones cromosómicas; como la 7q22-35, reportada en múltiples estudios, así como la asociación de la obesidad con diversos síndromes genéticos a abierto un gran interés en el estudio de las bases genéticas para la obesidad. (33)

Uno de los primeros genes implicados en la obesidad fue el gen *LEP*, el cual codifica para la hormona leptina sintetizada por los adipositos (31). Esta proteína forma parte del complejo mecanismo de señales hormonales que alcanzan el hipotálamo, regulando la ingesta de alimentos, así como la masa del tejido adiposo y el peso corporal.

Interesantemente, variaciones polimórficas (SNPs) en este gen y otros, han mostrado una fuerte asociación con fenotipos característicos de la obesidad multifactorial (3,19, 20).

El descubrimiento de obesidad mórbida humana secundaria a deleciones en regiones específicas al gen de la Leptina en individuos de Pakistán, y la cura de esta obesidad mediante la administración de la hormona, así como la reproducción de la enfermedad en ratones Knock Out, han hecho al gen de la Leptina, el cual se encuentra cercano a la región 7q22-35, el candidato más prominente de esta región para su estudio.

Sin embargo pocos casos de obesidad son debido a alteraciones monogénicas y la mayoría tienen fisiopatología poligénica, se han realizado numerosos estudios que tratan de demostrar que alteraciones en la estructura del gen de la leptina, y por lo tanto en su función, a la vez asociado con otras alteraciones genéticas provocan susceptibilidad a la obesidad; pero sus resultados con controversiales. Dentro de estos estudios se ha observado que sujetos obesos de diversos grupos étnicos comparten o expresan alteraciones estructurales (SNP's) del gen de la leptina, como es el caso del SNP G2548A, en población taiwanesa (32,33), o los SNP's -243A>G, +61450C>A y +83897T>A en población germana.

Dado que la obesidad en México constituye una epidemia y que el perfil epidemiológico de nuestro país muestra que las enfermedades cardiovasculares, el cáncer y la diabetes son los que ahora dominan sin duda las necesidades de salud en México. En este trabajo se propone determinar si, polimorfismos en el gen de la leptina, están asociados con la susceptibilidad a padecer obesidad en población mexicana.

## **OBJETIVOS.**

### ***Objetivo general***

Determinar si variaciones genéticas localizadas en el gen *LEP* se asocian al riesgo a desarrollar obesidad en nuestra población.

### ***Objetivos específicos***

1. Determinar si polimorfismos localizados en el gen *LEP* se encuentran asociados a la susceptibilidad a desarrollar obesidad en una muestra de pacientes mexicanos.
2. Conocer si existe correlación entre los polimorfismos analizados en el gen *LEP* y el IMC.
3. Establecer la frecuencia de los polimorfismos analizados en una muestra de individuos sanos.

## **HIPÓTESIS.**

Los pacientes mexicanos con obesidad, presentan alteraciones en el gen de la leptina, lo que explica la susceptibilidad a desarrollar esta entidad.

## **JUSTIFICACIÓN.**

La obesidad, condición desfavorable para la salud, que en estados unidos, anualmente ocasiona aproximadamente 300,000 muertes y millonarios gastos médicos los cuales asociados a las pérdidas en productividad laboral superan los 100 billones de dólares, ha aumentado su prevalencia de manera espectacular en nuestro país, en los últimos años, y que según la última encuesta nacional de salud afecta a un 26% de nuestra población.

No existen cifras precisas de los gastos en salud en nuestro país sin embargo por sus ya demostrados deletéreos efectos en la salud por si misma y por la amplia comorbilidad, la obesidad representa un verdadero problema de salud y son necesarias nuevas estrategias para su prevención y tratamiento.

El entendimiento profundo de su fisiopatología dará al médico información crucial para la aplicación de la terapéutica más eficaz, así como la información necesaria para campañas preventivas a gran escala mucho más eficientes lo que conllevaría no solo al ahorro de gran cantidad de recursos económicos y de horas de productividad, si no a la mejoría de la calidad de vida de los mexicanos.

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

### ***Tipo De Estudio.***

Este es un estudio de casos y controles transversal, prospectivo y comparativo.

### ***Grupo De Estudio.***

Se incluirán 100 pacientes con diagnóstico clínico de obesidad. Cada paciente será evaluado por un médico endocrinólogo o internista, quienes llenarán la hoja de captación de datos que contiene información demográfica de los pacientes (edad, sexo, origen geográfico, etc), antecedentes familiares, pruebas de laboratorio y gabinete (química sanguínea, perfil de lípidos, etc) así como tipo de tratamiento.

Como controles se incluirán 100 individuos sanos, pareados por sexo y origen geográfico.

### ***Análisis Molecular.***

Obtención de muestras y extracción de DNA. El DNA se obtendrá a partir de una muestra de 20 ml de sangre periférica, usando EDTA como anticoagulante.

### ***Genotipificación De SNP's.***

En este estudio, se analizarán los polimorfismos G2548A y A19G localizados en el gen *LEP*. Estos SNPs fueron seleccionados por ser los que han mostrado mayor asociación con obesidad en otras poblaciones, aunado a que en nuestra población no se conoce su distribución su frecuencia de estas variaciones genéticas.

### ***Discriminación Alélica Por El Método Fluorescente De 5' Exonucleasa (Taqman).***

Los polimorfismos G2548A y A19G se analizarán por esta metodología. Para este ensayo se diseñarán 2 sondas específicas para cada SNP y serán marcadas en el extremo 5'



con fluorocromos diferentes, las cuales en el extremo 3' tendrán un "quencher" (TAMRA), que inhibe la emisión de fluorescencia mientras la sonda permanece intacta. Durante la reacción de PCR los primers y la sonda específica hibridan con la secuencia complementaria en el templado de DNA, al momento que se inicia la síntesis de la cadena de DNA, la DNA polimerasa AmpliTaq Gold, que tiene actividad tanto de DNA polimerasa como de exonucleasa 5'-3', digiere la sonda marcada, liberando al fluorocromo de la acción del "quencher", haciendo posible discriminar entre un alelo y otro con base en el tipo de fluorescencia emitida.

#### ***Análisis estadístico e interpretación de los datos.***

La frecuencia de los SNPs analizados en una muestra de individuos mexicanos sanos y con obesidad será reportará en porcentaje. La asociación será determinada en casos y controles mediante las pruebas de chi-cuadrada y exacta de Fisher.

En cada prueba de hipótesis se considerará como significativo un valor de  $p < 0.05$ .

#### ***Ubicación del estudio.***

El análisis genético y el estudio molecular se realizarán en el Laboratorio de Enfermedades Multifactoriales del INMEGEN. El diagnóstico clínico será realizado en los Departamentos de Endocrinología y Medicina Interna del ISSSTE.

#### ***Consideraciones éticas.***

Las muestras serán obtenidas de los pacientes y de los individuos sanos que acepten firmar la carta de consentimiento informado.

## **CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LA MUESTRA**

### ***CRITERIOS DE INCLUSIÓN***

- A. Se incluirán pacientes mexicanos mayores de 18 años con diagnóstico clínico de obesidad con un IMC mayor de 30.
- B. Para el grupo control, se seleccionarán individuos mayores de 30 años con un índice de masa corporal  $<24$ , que no refieran antecedentes personales de enfermedades crónicas.
- C. Todos los pacientes y controles serán captados en la ciudad de México, pareados por sexo, con padres y abuelos nacidos en México.

### ***CRITERIOS DE EXCLUSIÓN***

Se excluirán a todos aquellos casos de obesidad causada:

- A. Disfunción endocrinológica
- B. Síndromes genéticos
- C. Síndromes secundarios a tratamiento farmacológico.

## **RESULTADOS.**

### ***Participantes.***

Se reclutaron 100 pacientes con diagnóstico clínico de obesidad, mexicanos, con padres y abuelos mexicanos, sin antecedentes de enfermedades endocrinas o de obesidad secundaria a fármacos; así mismo 91 sujetos clínicamente sanos con un índice de masa corporal ideal, en total 191 individuos participaron en nuestro estudio.

Los pacientes fueron reunidos en el periodo comprendido entre el 15 de enero del 2007 al 3 de Agosto de 2007, y fueron reclutados en la consulta externa de los servicio de Medicina Interna y Endocrinología del Hospital Regional "Lic. Adolfo López Mateos" del ISSSTE.

### ***Análisis fenotípico y genotípico.***

Se le realizaron mediciones fenotípicas a todos los sujetos participantes, incluyendo peso, talla, índice de masa corporal, índice cintura – cadera, medición de porcentaje de grasa corporal.

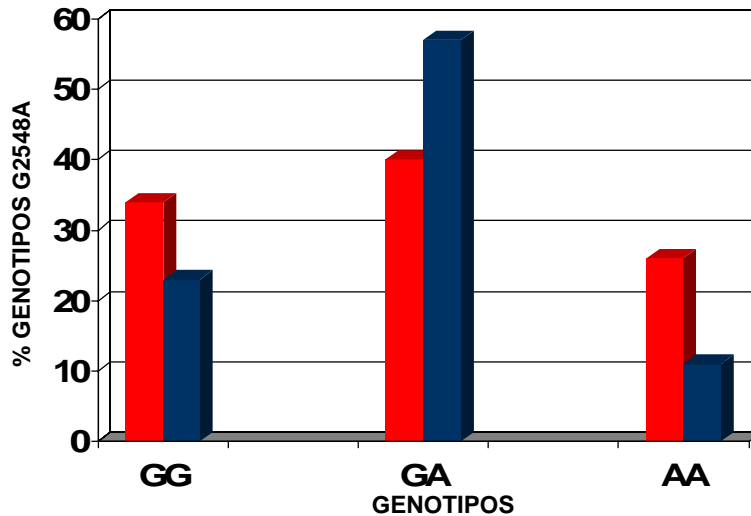
El DNA se obtuvo mediante un Kit comercial y el análisis genotípico se realizó mediante el método de discriminación alélica por el método fluorescente de 5' exonucleasa (TaqMan).

### ***Análisis estadístico.***

La frecuencia de los SNPs analizados de individuos mexicanos sanos y con obesidad será reportada en porcentaje.

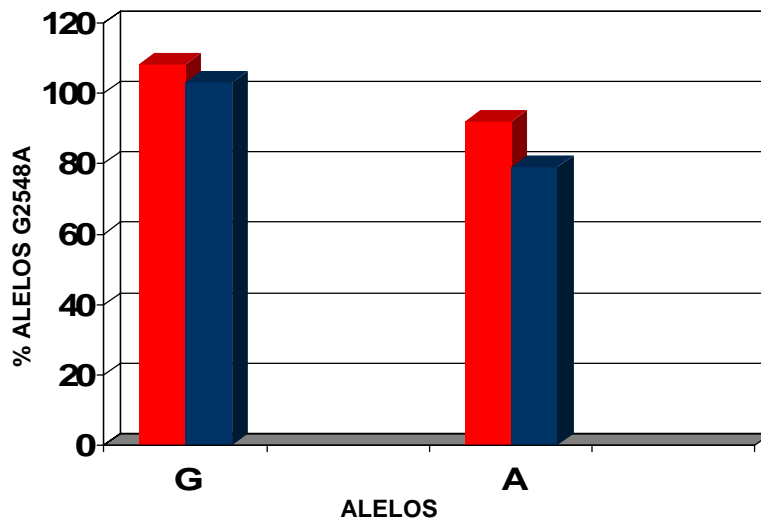
La asociación será determinada en casos y controles mediante las pruebas de chi-cuadrada y exacta de Fisher. En cada prueba de hipótesis se considerará como significativo un valor de  $p < 0.05$  y se obtuvieron los siguientes resultados:

A continuación se muestran los resultados obtenidos del polimorfismo G2548A del gen de la leptina que se localiza en la región promotora. Lugar de ligamiento de factores de transcripción, por lo que sugiere que este polimorfismo afecte la expresión del gen.



**Figura1.** Se muestra el porcentaje de los diferentes genotipos del polimorfismo G2548A del gen de la leptina, entre los dos grupos de estudio. Rojo: casos y azules:controles.

Mediante el análisis estadístico con la chi-cuadrada se observó una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) al comparar entre la distribución de las dos variantes en estado heterocigoto entre los casos y los controles, sugiriendo que en esta combinación este polimorfismo confiere protección más que susceptibilidad a desarrollar obesidad.



**Figura 2.** Se muestra el porcentaje del polimorfismo G2548A del gen de la leptina por alelos. Rojo: casos y azules controles.

Mediante el análisis estadístico con la chi-cuadrada no se observaron valores significativos al analizar la distribución de las frecuencias alélicas ( $p > 0.05$ ).

Los resultados obtenidos sugieren que no existe una probable agregación de algún genotipo o alélo del polimorfismo G2548A entre los individuos con IMC normal y los que presentaban cierto grado de obesidad, ya que no hubo diferencias significativas en las frecuencias observadas entre estos grupos. Son necesarios otros estudios para conocer la asociación del polimorfismo y un elevado IMC.

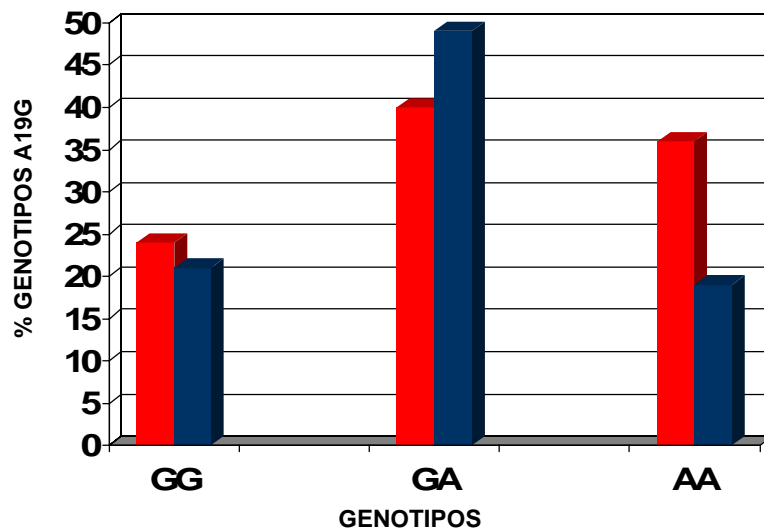
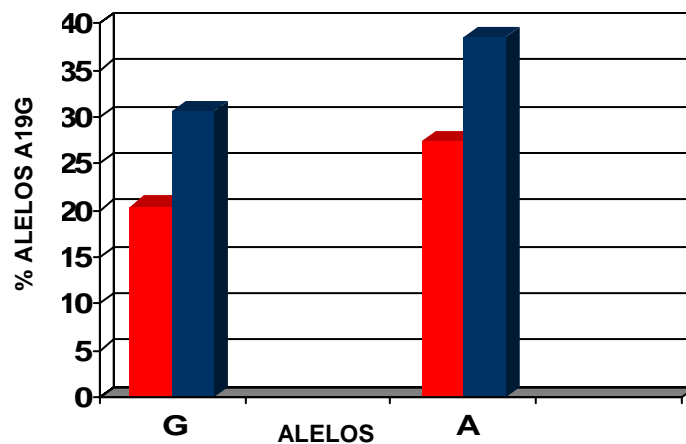


Figura 3. Se muestra el porcentaje de los diferentes genotipos del polimorfismo A19G del gen de la leptina, entre los dos grupos de estudio. Rojo: casos y azules: controles.

Mediante la prueba estadística chi-cuadrada al comparar los genotipos de pacientes con obesidad vs controles; mostró que en estado heterocigoto había diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.016$ ) al compararlo con el homocigoto AA.



Para el polimorfismo A19G no se observaron variaciones significativas con respecto a la distribución alélica, ( $p>0.05$ ). Sin embargo, no podemos tomar este resultado como definitivo dado el tamaño de la muestra analizada, por lo que aún no podemos descartar la participación de esta variante en esta patología.

A continuación se muestran las tablas que resumen el análisis estadístico para ambos polimorfismos estudiados entre los casos y los controles, para sus genotipos y su distribución alélica.

**Distribución genotípica y alélica del polimorfismo  
A19G del gen LEP**

<b>GENOTIPO</b>	<b>CASOS n=100 (%)</b>	<b>CONTROLES n=89 (%)</b>	<b>OR (95% IC)</b>	<b>X<sup>2</sup></b>	<b>P</b>
<b>GG</b>	24 (24.0)	21 (23.59)	AA vs GA 0.431 (0.215-0.863)	5.74	0.016
<b>GA</b>	40 (40.0)	49 (55.06)			
<b>AA</b>	36 (36.0)	19 (21.35)			
<b>ALELOS</b>	<b>N=200(%)</b>	<b>n=178(%)</b>			
<b>G</b>	88 (44.0)	91 (51.12)	1.331 (0.88-1.997)	1.92	0.16
<b>A</b>	112 (56.0)	87 (48.88)			

**Distribución genotípica y alélica del polimorfismo  
G2548A del gen LEP.**

<b>GENOTIPO</b>	<b>CASOS n=100 (%)</b>	<b>CONTROLES n=91(%)</b>	<b>OR (95% IC)</b>	<b>X<sup>2</sup></b>	<b>P</b>
<b>GG</b>	34 (34.0)	23 (25.27)	GG vs GA 0.475 (0.244-0.924)	4.88	0.027
<b>GA</b>	40 (40.0)	57 (62.64)			
<b>AA</b>	26 (26.0)	11 (12.09)			
<b>ALELOS</b>	<b>n=200(%)</b>	<b>n=182(%)</b>			
<b>G</b>	108 (54.00)	103 (56.59)	1.11 (0.74-1.66)	0.26	0.61
<b>A</b>	92 (46.0)	79 (43.41)			



## CONCLUSIONES

El análisis del SNP A19G, localizado en el primer exón del gen que codifica para la leptina (*LEPR*) en pacientes con obesidad vs controles; mostró que en estado heterocigoto había diferencias estadísticamente significativas ( $p= 0.016$ ) al compararlo con el homocigoto AA. Lo que sugiere que en estado heterocigoto la variante puede estar confiriendo protección. Sin embargo al analizar la distribución de las frecuencias alélicas no observamos ninguna diferencia estadísticamente significativa. Sin embargo, no podemos tomar este resultado como definitivo dado el tamaño de la muestra analizada, por lo que aún no podemos descartar la participación de esta variante en esta patología

EL polimorfismo G2548A se localiza en la región promotora del gen LEP en esta región se encuentra un sitio de unión para factores de transcripción, por lo que se ha sugerido que esta variante puede modificar expresión del gen LEP.. En este análisis al realizar un estudio de casos y controles, se observó una diferencia estadísticamente significativa al comparar entre la distribución de las dos variantes en estado heterocigoto entre los casos y los controles, sugiriendo que en esta combinación este polimorfismo confiere protección más que susceptibilidad a desarrollar obesidad. Sin embargo, es necesario analizar una muestra mayor para confirmar este resultado.

## **INFORMACION SOBRE EL ESTUDIO DE INVESTIGACION PARA LOS PACIENTES.**

Versión 2.9. Fecha 23 de Marzo de 2006

### ***Carta Invitación***

Este documento contiene las preguntas más frecuentes que realizan las personas que participan en un estudio de investigación sobre obesidad.

El Laboratorio de Genómica de Enfermedades Multifactoriales del Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN) en colaboración con los Departamentos de Endocrinología y de Medicina Interna del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE), están realizando un proyecto de Investigación en pacientes con obesidad intitulado **"Caracterización de Factores Gen éticos que Confieren Riesgo para Desarrollar Obesidad en Población Mexicana"**

### ***¿Cual es el procedimiento?***

El investigador explicará verbalmente a los participantes acerca del objetivo del estudio, aclarará todas las dudas y la forma de participación. Una vez que se acepte colaborar en el estudio se firmará la carta de consentimiento informado y se tomará una muestra de sangre venosa del brazo de cada uno de los participantes utilizando en cada individuo material nuevo y bajo todas las normas de bioseguridad. Se aplicará un cuestionario con preguntas relacionadas con la enfermedad, así como sus antecedentes.

### ***¿Cuál es el propósito de estudio?***

El propósito de este proyecto es conocer los factores gen éticos que hacen que algunos individuos desarrollen obesidad, cuales de estos tienen relación con la susceptibilidad a desarrollar obesidad y cuales factores gen éticos hacen que otras enfermedades comunes (hipertensión arterial, diabetes, cáncer, colesterol alto, etc.) se presenten con frecuencia en los pacientes obesos. Los factores gen éticos se heredan de ambos padres, por lo que es posible que en una segunda etapa, podamos extender este estudio a los familiares de primer grado. Es relevante mencionar que también los factores ambientales así como la edad, el sexo y la raza tienen una participación muy importante en el desarrollo de la obesidad. Es decir, para que la obesidad se presente es necesario que las personas que son genéticamente susceptibles se expongan a factores ambientales adversos (tipo de alimentación, estrés, no hacer ejercicio, etc).

### ***¿Quién participa en este estudio?***

Todos las personas que tengan diagnóstico clínico de obesidad y los controles voluntarios sanos que cumplan con los criterios de inclusión.

El diagnóstico de obesidad será establecido por un médico endocrinólogo o internista, quienes los canalizarán al Laboratorio de Enfermedades Multifactoriales para su estudio genético.

### ***¿Porque debería yo considerar mi participación en el estudio?***

Porque para determinar los factores gen éticos que predisponen al desarrollo de la obesidad es necesario analizar muestras de pacientes que padecen de obesidad así como de individuos sanos, que no presentan esta patología. Esta información nos permitirá conocer y entender las bases gen éticas de la obesidad y en un futuro, con la información generada de este estudio esperamos identificar personas que aún no están enfermas pero que tienen un alto riesgo a desarrollar obesidad, a los cuales les podemos sugerir medidas que disminuyan el riesgo a padecerla.

### ***¿Tengo necesariamente que participar en el estudio? Si acepto participar, puedo cambiar de opinión o retirarme.***

No es obligatorio participar en el estudio. Su colaboración en la investigación es completamente voluntaria y puede retirarse de ella cuando lo deseé. Si después de aceptar decide salirse del estudio, toda la información recopilada será destruida y su decisión no tendrá ninguna repercusión en su atención o la de su hijo en las Instituciones participantes.

### ***¿En que consiste mi participación?***

Cada persona que participe en este estudio debe donar una muestra de 20 ml. de sangre periférica para extraer el DNA (en el DNA se encuentran los genes que contienen toda la información que se hereda del papá y de la mamá y que pueden conferir un riesgo para desarrollar obesidad). Además, los pacientes responderán a una serie de preguntas sobre su enfermedad y otros antecedentes patológicos.

El reclutamiento de los pacientes será por un médico endocrinólogo o un médico internista quienes plantearán las preguntas al momento de la consulta. Este procedimiento tomará aproximadamente de 20 a 30 min.

### ***¿Que peligros podría experimentar en este estudio y que harán los investigadores para reducir el riesgo de que estos se presenten?***

Su participación en el estudio representa un riesgo mínimo, ya que ninguno de los participantes tendrán que tomar medicamentos ni someterse a ningún otro tipo de estudio.

Aunque es poco probable, se podría formar un pequeño hematoma o moretón en el área de punción después de que se ha obtenido la muestra de sangre. Para disminuir este riesgo, la

muestra será tomada por personal con amplia experiencia en obtención de muestras de sangre periférica.

***¿Qué harán los investigadores para asegurar que la información que recolecten de mi no caiga en manos equivocadas?***

Para mantener la confidencialidad de sus datos, inmediatamente después de que ingresen al estudio, se asignarán códigos de identificación para cada una de las muestras de los participantes, así como el de los cuestionarios realizados. Esta información y la derivada del estudio genético serán manejadas únicamente por los investigadores involucrados y solamente será dada a conocer a otra persona si usted como paciente lo solicita por escrito.

***¿Qué beneficios personales puedo esperar al participar en este estudio?***

Es importante señalar, que la muestra que se obtenga es una donación voluntaria por lo que su colaboración en el proyecto no le dará ningún beneficio económico, ni repercutirá en su manejo clínico dado que este estudio se encuentra en una fase experimental; sin embargo existe la posibilidad de que en un futuro, con los resultados obtenidos en este estudio otros pacientes se beneficien de mejores métodos de diagnóstico y de tratamiento.

***¿Quién guardará el consentimiento informado una vez que lo he firmado?***

La carta de consentimiento informado será archivada bajo llave en el Laboratorio de Genómica de Enfermedades Multifactoriales, del Instituto Nacional de Medicina Genómica por la M. en C. Yolanda Saldaña y la Dra. Lorena Orozco.

***¿A quién debo acudir en caso de dudas?***

Para aclarar las dudas que se le presente en cualquier momento, puede solicitar una cita al Tel. 5350-1957 o 5350-1962 con la M. en C. Yolanda Saldaña y la Dra. Lorena Orozco, ambas investigadoras del Laboratorio de Genómica de Enfermedades Multifactoriales del Instituto Nacional de Medicina Genómica.

## SOLICITUD DE CONSENTIMIENTO PARA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO

Solicitamos de la manera más atenta su participación en este proyecto de Investigación en el que se desea conocer las características genéticas de la obesidad en la población Mexicana. Las responsables de este proyecto son la M. en C. Yolanda Saldaña y la Ora. Lorena Orozco, Investigadoras del Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN) y se está realizando en colaboración con el Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE).

Sugerimos que antes de decidir si participa o no, utilice todo el tiempo necesario para hacer preguntas acerca de la investigación y comentar con el entrevistador las dudas relacionadas con los riesgos y beneficios que involucran su participación.

Finalmente, si considera que la información que le ofrecemos es suficiente le invitamos a colaborar con nuestro estudio llenando la siguiente carta:

### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPANTES VOLUNTARIOS SANOS (CONTROLES)

México, D. F. a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_\_\_\_\_

Por medio de la presente hago constar que yo \_\_\_\_\_  
estoy de acuerdo en participar en el proyecto de investigación "**Caracterización de Factores Genéticos que Confieren Riesgo para Desarrollar Obesidad en Población Mexicana** "

Estoy enterado de que mi participación en el estudio consistirá únicamente en donar una muestra de sangre venosa y responder preguntas relacionadas con mi salud.

Me han explicado que la sangre será tomada de una vena del brazo con todos los requisitos de seguridad, como el uso de material nuevo y por personal calificado, por lo que no representa ningún riesgo para mí y que la única molestia que podría presentarse es la aparición de un pequeño hematoma o moretón que desaparecerá en días. Así mismo, me han comentado que la información obtenida del estudio genético y del cuestionario es absolutamente confidencial y que esta información será manejada únicamente por los investigadores.

Estoy consiente de que mi participación en el estudio es completamente voluntaria, que participar no implica pago o retribución alguna y que si en medio del proceso decido no continuar, toda la información recopilada será eliminada.

He leído la información descrita y mis preguntas acerca del estudio han sido respondidas satisfactoriamente.

Atentamente

\_\_\_\_\_  
Firma del participante(No. Telefónico)

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del Testigo

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del Testigo

He entregado a la persona que participará voluntariamente como control la información precisa y necesaria sobre los objetivos del proyecto, riesgos, beneficios y derechos que tiene. Declaro que su decisión de participar en el estudio ha sido tomada de manera libre, sin presiones o influencias de ningún tipo y soy testigo de que esta carta ha sido firmada por él.

Nombre y firma del Investigador (No. Telefónico)  
\_\_\_\_\_

## **CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPANTES ADULTOS CON OBESIDAD**

México, D. F. a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 200\_\_\_\_.

Por medio de la presente hago constar que yo \_\_\_\_\_  
estoy de acuerdo en participar en el proyecto de investigación "**Caracterización de Factores Genéticos que Confieren Riesgo para Desarrollar Obesidad en Población Mexicana**".

Estoy enterado de que mi participación en el estudio consistirá únicamente en donar una muestra de sangre venosa y responder preguntas relacionadas con mi salud.

Me han explicado que la sangre será tomada de una vena del brazo con todos los requisitos de seguridad, como el uso de material nuevo y por personal calificado, por lo que no representa ningún riesgo para mi y que la única molestia que podría presentarse es la aparición de un pequeño hematoma o moretón que desaparecerá en días. Así mismo, me han comentado que la información obtenida del estudio genético y del cuestionario es absolutamente confidencial y que esta información será manejada únicamente por los investigadores.

Estoy consiente de que mi participación en el estudio es completamente voluntaria, que participar no implica pago o retribución alguna y que si en medio del proceso decido no continuar, toda la información recopilada será eliminada.

He leído la información descrita y mis preguntas acerca del estudio han sido respondidas satisfactoriamente.

Atentamente

\_\_\_\_\_  
Firma del participante (No. Telefónico)

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del Testigo

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del Testigo

He entregado a la persona que participará voluntariamente como control la información precisa y necesaria sobre los objetivos del proyecto, riesgos, beneficios y derechos que tiene. Declaro que su decisión de participar en el estudio ha sido tomada de manera libre, sin presiones o influencias de ningún tipo y soy testigo de que esta carta ha sido firmada por él.

Nombre y firma del Investigador (No. Telefónico)

\_\_\_\_\_

## BIBLIOGRAFIA.

1. Barsh GS, Farooqi IS, O'Rahilly S. Genetics of body-weight regulation. *Nature* 2000; 404:644-651.
2. Calle EE, Thun MJ, Petrelli JM, Alésquez C, Heath CW JR. Body-mass index and mortality in a prospective cohort of US adult. *N Engl J Med* 1999; 341:1097-105.
3. Clement K. Genetics of Human Obesity. *Proc Nutr Soc* 2005; 64: 133-42.
4. Del Rio-Navarro BE, Alésquez-Monroy O, Sanchez Castillo CP, Lara-Esqueda A, Berber A, Fanghanel G, Violante R, Tapia-Conyer R, James WPT, and The Encuesta Nacional de Salud (ENSA). The high prevalence of overweight and obesity in Mexican Children. *Obes Res* 2004; 215-23.
5. Farooqi IS, O'Rahilly S. Monogenic human obesity syndromes. *Recent Prog Horm Res* 2004; 59:409-424.
6. González Barranco J. *Obesidad*. McGraw-Hill. 1a ed. México 2003. Capítulos del 12 al 15.
7. Hao K, Peng S, Xing H, Yu Y, Huang A, Hong X, Wang Y, Chen C, Wang B, Zhang X, Liu J, Zhu G, Huo Y, Chen D, Zhao X, Ronnenberg



A, Wu D, Niu T, Xu X. Beta (3) Adrenergic receptor polymorphism and obesity-related phenotypes in hypertensive patients. *Obes Res* 2004; 125-30.

8. Kagawa Y, Yanagisawa Y, Hasegawa K, Suzuki H, Yasuda K, Kudo H, et al. Single nucleotide polymorphisms of thrifty genes for energy metabolism: evolutionary origins and prospects for intervention to prevent obesity-related diseases. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 207-22.

9. Kuller LH, St Jeor ST, Dwyer J. Report of the American Institute of Nutrition (AIN) Steering Committee on Healthy Weight. Bethesda, MD, USA: American Institute of Nutrition; 1993.

10. Lander ES. The new genomics: global views of biology. *Science* 1996;274: 536-539.

11. Lee JH, Reed DR, Price RA. Familial risk ratios for extreme obesity: implications for mapping human obesity genes. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997; 21: 935-40.

12. Lee YH, Nair S, Rousseau E, Allison DB, Page GP, Tataranni PA, Bogardus C, Permana PA. Microarray profiling of isolated abdominal subcutaneous adipocytes from obese vs non-obese Pima Indians:

increased expression of inflammation-related genes. *Diabetologia*. 2005;48:1776-1783.

13. Lee SA, Lee KM, Park WY, Kim B, Nam J, Yoo KY, Noh DY, Ahn SH, Hirvonen A, Kang. Obesity and genetic polymorphism of ERCC2 and ERCC4 as modifiers of risk of breast cancer. *Exp Mol Med* 2005 37:86-90.

14. Li J, Wang X, Huo Y, Niu T, Chen C, Zhu G, Huang Y, Chen D, Xu X. PON1 polymorphism, diabetes mellitus, obesity, and risk of myocardial infarction: Modifying effect of diabetes mellitus and obesity on the association between PON1 polymorphism and myocardial infarction. *Genet Med*. 2005 7:58-63.

15. Lubrano-Berthelie C, Le Stunff C, Bougneres P, Vaisse C.. A homozygous null mutation delineates the role of the melanocortin-4 receptor in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:2028-2032.

16. Meir JJ, Gallwitz B, Schmidt WE, Nauck Ma. Glucagon-like peptide 1 as a regulator of food intake and body weight: therapeutic perspectives. *Eur J of Pharmacology*. 2002; 440: 269-79

17. NIH. National Heart, Lung and Blood Institute. Clinical Guidelines on the Identification and Treatment of Overweight and Obesity in Adults: The evidence Report. National Institutes of Health, USA. 1998.

18. O'Brien PE, Dixon JB. The extent of the problem of obesity. *Am J Surg* 2002 184: 4S-8S.
19. Perusse L, Bouchard C. Gene-diet interactions in obesity. *Am J Clin Nutr* 2000; 72(Suppl):1285S-1290S.
20. Perusse L, Rankinen T, Zuberi A, Yvon C, Chagnon S, Weisnagel J, Argyropoulos G, Walts B, Snyder EE, and Bouchard C. The human obesity gene map: the 2004 update. *Obes Res.* 2005; 13:381-490.
21. Ricquier D, Bouillaud F. Mitochondrial uncoupling proteins: from mitochondria to the regulation of energy balance. *J Physiol* 2000 1:3-10.
22. Sanchez-Castillo CP; elásquez-Monroy O, Berber A, Lara-Esqueda A, Tapia-Conyers R, James WPT, and the Encuesta Nacional de Salud (ENSA)
23. 2000 Working Group. Anthropometric cutoff points for predicting chronic disease in the Mexican National Survey 2000. *Obes Res* 2003: 442-451
24. Schawart MW, Wonds SC; Parte D JR. Selly RJ, Basking DG. Central nervous system control of food intake. *Nature* 2000; 404: 661-7.
25. Schwartz MW, Woods SC, Seeley RJ, Barsh GS, Baskin DG, Leibel RL. Is the energy homeostasis system inherently biased toward weight gain? *Diabetes* 2003; 52:232-8.

26. Snyder EE, Walts B, Perusse L, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Rankinen T, Bouchard C. The human obesity gene map: the 2003 update. *Obes Res* 2004 12:369-439.
27. Spielman RS, Ewens WJ. The TDT and other family-based test for linkage disequilibrium and association. *Am J Hum Genet* 1996; 59:983-9.
28. Stunkard AJ, Foch TT, Hrubec Z. A twin study of human obesity. *JAMA* 1986; 256:51-54
29. WHO Physical Status: the use and interpretation of anthropometry, Report of a WHO Expert Committee. Geneva, Switzerland: World Health Organization (Technical Report Series, No. 854). 1995; 1-452.
30. York D, Bouchard C. How obesity develops: insights from the new biology. *Endocrine*. 2000 13:143-54.
31. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372:425-432.
32. Tsu-nai Wang, Meng-Chuan Huang, wen-Tsan Chang, Albet Min-Shan Ko.

G-2548A polymorphism of the Leptin Gene is correlated with extreme obesity in Taiwanese aborigines. *Obesity*, vol. 14, No. 2, February 2006.

33. Y. Jiang, J. B. Wilk, I. Borecki, S. Williamson, A. DeStefano, G. Xu, J. Liu; Common Variants in de 5' región of the Leptin gene are associated with body mass index in men from the national Heart, Lung and Blod Institute Family Heart Study.

34. Christopher G. Bell, Andrew J. Walley and Phillippe Froguel. The genetics of Human Obesity; Nature Publishing Group; vol. 6, March 2005; 221.

## BIBLIOGRAFIA.

1. Barsh GS, Farooqi IS, O'Rahilly S. Genetics of body-weight regulation. *Nature* 2000; 404:644-651.
2. Calle EE, Thun MJ, Petrelli JM, Alíasquez C, Heath CW JR. Body-mass index and mortality in a prospective cohort of US adult. *N Engl J Med* 1999; 341:1097-105.
3. Clement K. Genetics of Human Obesity. *Proc Nutr Soc* 2005; 64: 133-42.
4. Del Rio-Navarro BE, Alíasquez-Monroy O, Sanchez Castillo CP, Lara-Esqueda A, Berber A, Fanghanel G, Violante R, Tapia-Conyer R, James WPT, and The Encuesta Nacional de Salud (ENSA). The high prevalence of overweight and obesity in Mexican Children. *Obes Res* 2004; 215-23.
5. Farooqi IS, O'Rahilly S. Monogenic human obesity syndromes. *Recent Prog Horm Res* 2004; 59:409-424.
6. González Barranco J. *Obesidad*. McGraw-Hill. 1a ed. México 2003. Capítulos del 12 al 15.
7. Hao K, Peng S, Xing H, Yu Y, Huang A, Hong X, Wang Y, Chen C, Wang B, Zhang X, Liu J, Zhu G, Huo Y, Chen D, Zhao X, Ronnenberg A, Wu D, Niu T, Xu X. Beta (3) Adrenergic receptor polymorphism and obesity-related phenotypes in hypertensive patients. *Obes Res* 2004; 125-30.
8. Kagawa Y, Yanagisawa Y, Hasegawa K, Suzuki H, Yasuda K, Kudo H, et al. Single nucleotide polymorphisms of thrifty genes for energy metabolism: evolutionary origins and prospects for intervention to prevent obesity-related diseases. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 207-22.
9. Kuller LH, St Jeor ST, Dwyer J. Report of the American Institute of Nutrition (AIN) Steering Committee on Healthy Weight. Bethesda, MD, USA: American Institute of Nutrition; 1993.
10. Lander ES. The new genomics: global views of biology. *Science* 1996;274: 536-539.

11. Lee JH, Reed DR, Price RA. Familial risk ratios for extreme obesity: implications for mapping human obesity genes. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997; 21: 935-40.
12. Lee YH, Nair S, Rousseau E, Allison DB, Page GP, Tataranni PA, Bogardus C, Permana PA. Microarray profiling of isolated abdominal subcutaneous adipocytes from obese vs non-obese Pima Indians: increased expression of inflammation-related genes. *Diabetologia*. 2005;48:1776-1783.
13. Lee SA, Lee KM, Park WY, Kim B, Nam J, Yoo KY, Noh DY, Ahn SH, Hirvonen A, Kang. Obesity and genetic polymorphism of ERCC2 and ERCC4 as modifiers of risk of breast cancer. *Exp Mol Med* 2005 37:86-90.
14. Li J, Wang X, Huo Y, Niu T, Chen C, Zhu G, Huang Y, Chen D, Xu X. PON1 polymorphism, diabetes mellitus, obesity, and risk of myocardial infarction: Modifying effect of diabetes mellitus and obesity on the association between PON1 polymorphism and myocardial infarction. *Genet Med*. 2005 7:58-63.
15. Lubrano-Berthelier C, Le Stunff C, Bougneres P, Vaisse C.. A homozygous null mutation delineates the role of the melanocortin-4 receptor in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89:2028-2032.
16. Meir JJ, Gallwitz B, Schmidt WE, Nauck Ma. Glucagon-like peptide 1 as a regulator of food intake and body weight: therapeutic perspectives. *Eur J of Pharmacology*. 2002; 440: 269-79
17. NIH. National Heart, Lung and Blood Institute. Clinical Guidelines on the Identification and Treatment of Overweight and Obesity in Adults: The evidence Report. National Institutes of Health, USA. 1998.
18. O'Brien PE, Dixon JB. The extent of the problem of obesity. *Am J Surg* 2002 184: 4S-8S.
19. Perusse L, Bouchard C. Gene-diet interactions in obesity. *Am J Clin Nutr* 2000; 72(Suppl):1285S-1290S.
20. Perusse L, Rankinen T, Zuberi A, Yvon C, Chagnon S, Weisnagel J, Argyropoulos G, Walts B, Snyder EE, and Bouchard C. The human obesity gene map: the 2004 update. *Obes Res*. 2005; 13:381-490.

21. Ricquier D, Bouillaud F. Mitochondrial uncoupling proteins: from mitochondria to the regulation of energy balance. *J Physiol* 2000; 1:3-10.
22. Sanchez-Castillo CP; Velásquez-Monroy O, Berber A, Lara-Esqueda A, Tapia-Conyers R, James WPT, and the Encuesta Nacional de Salud (ENSA)
23. 2000 Working Group. Anthropometric cutoff points for predicting chronic disease in the Mexican National Survey 2000. *Obes Res* 2003; 442-451
24. Schwartz MW, Woods SC; Porte D JR. Selly RJ, Basking DG. Central nervous system control of food intake. *Nature* 2000; 404: 661-7.
25. Schwartz MW, Woods SC, Seeley RJ, Barsh GS, Baskin DG, Leibel RL. Is the energy homeostasis system inherently biased toward weight gain? *Diabetes* 2003; 52:232-8.
26. Snyder EE, Walts B, Perusse L, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Rankinen T, Bouchard C. The human obesity gene map: the 2003 update. *Obes Res* 2004; 12:369-439.
27. Spielman RS, Ewens WJ. The TDT and other family-based test for linkage disequilibrium and association. *Am J Hum Genet* 1996; 59:983-9.
28. Stunkard AJ, Foch TT, Hrubec Z. A twin study of human obesity. *JAMA* 1986; 256:51-54
29. WHO Physical Status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. Geneva, Switzerland: World Health Organization (Technical Report Series, No. 854). 1995; 1-452.
30. York D, Bouchard C. How obesity develops: insights from the new biology. *Endocrine*. 2000; 13:143-54.
31. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372:425-432.
32. Tsu-nai Wang, Meng-Chuan Huang, wen-Tsan Chang, Albet Min-Shan Ko. G-2548A polymorphism of the Leptin Gene is correlated with extreme obesity in Taiwanese aborigines. *Obesity*, vol. 14, No. 2, February 2006.



33. Y. Jiang, J. B. Wilk, I. Borecki, S. Williamson, A. DeStefano, G. Xu, J. Liu; Common Variants in de 5´región of the Leptin gene are associated with body mass index in men from the national Heart, Lung and Blod Institute Family Heart Study.

34. Christopher G. Bell, Andrew J. Walley and Philippe Froguel. The genetics of Human Obesity; Nature Publishing Group; vol. 6, March 2005; 221.