



---

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

**DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN  
Y DE LA SALUD ANIMAL**

**CARACTERIZACIÓN ENDOCRINA Y MOLECULAR DE LA  
OBESIDAD DEL CERDO PELÓN MEXICANO**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS**

**PRESENTA**

**MARÍA DEL CARMEN CAMACHO REA**

**TUTOR: ROGELIO ALONSO MORALES**

**COMITÉ TUTORAL: CARLOS GUTIÉRREZ AGUILAR**

**MICHAEL SPURLOCK**

**México, D. F.**

**2007**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

**A mi esposo: gracias por tu infinito apoyo, Migue.**

**AGRADECIMINETOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la **concesión de una beca de doctorado**, la cual me permitió continuar con mis estudios.

Al Laboratorio de Análisis Clínicos Jilotepec, y en particular al Biol. Marcos Bautista Rodríguez, por su confianza y valioso apoyo.

A Esther Bautista Crisóstomo por su dedicación y paciencia.

Al Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Porcina (CEIEPP) de la FMVZ-UNAM, por el apoyo brindado en la realización de la fase de campo del estudio realizado.

Al Dr. Roberto Martínez Rodríguez por confiar en mí, y por estar siempre presente cuando se lo solicite.

Al Dr. Rogelio Alonso, por permitirme ser su estudiante.

A Carlos Gutiérrez por ser una guía fundamental en mí doctorado.

A mis sinodales porque con sus comentarios, se enriqueció esta tesis.

## Agradecimientos

---

A Laura y Fabián, quienes siempre me han apoyado.

A todas aquellas personas que me brindaron su apoyo y confianza; gracias: Alex, Javier, Fabiola, Jacob, Juanita, Angélica, Isidro, Manuel, Sato, Sergio, Alex, etc.

## CONTENIDO

<b>CAPITULO 1. REVISIÓN DE LITERATURA</b>	<b>1</b>
<b>1.1 INTRODUCCION</b>	<b>2</b>
<b>1.2 REVISIÓN DE LITERATURA</b>	<b>2</b>
<b>1.2.1 El cerdo Pelón Mexicano</b>	<b>3</b>
<b>1.2.2 Obesidad: Definición e importancia</b>	<b>4</b>
<b>1.2.5 Genética de la Obesidad</b>	<b>5</b>
<b>1.2.5.1 Obesidad monogénica</b>	<b>6</b>
Ratón agutí	6
Ratón fat	7
Ratón tubby	8
Ratón obeso	9
Ratón diabético	10
<b>1.3 La participación del cerdo en biomedicina</b>	<b>10</b>
<b>1.4 El tejido adiposo “un órgano endocrino”</b>	<b>11</b>
<b>1.5 Hormonas y adipocitocinas relacionas con la obesidad</b>	<b>12</b>
Leptina y su receptor	12
Adiponectina	15
Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF- $\alpha$ )	16
Receptor Activado por el Proliferadores de Peroxisomas gama (PPAR $\gamma$ )	17
Insulina	18

<b>1.6 Metabolismo de Lípidos y la Obesidad</b>	19
<b>1.7 Obesidad y el Genotipo Ahorrativo</b>	20
<b>1.8 El Síndrome Metabólico</b>	21
<b>CAPITULO 2 HIPÓTESIS Y OBJETIVO GENERAL</b>	22
<b>2.1 HIPÓTESIS</b>	23
<b>2.2 OBJETIVO GENERAL</b>	24
2.2.1 Objetivos específicos	24
<b>CAPITULO 3. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	25
<b>3.1 Lugar de Trabajo</b>	26
<b>3.2 Material Biológico y Diseño del Experimento</b>	26
<b>3.3 Estudio de Rasgos Endocrinos y de Crecimiento</b>	27
Animales	27
Toma de muestras de sangre y perfil hormonal	27
Perfil de lípidos y ácidos grasos libres	28
Concentraciones séricas de glucosa	31
Comportamiento productivo	31
<b>3.4 Estudio de Expresión de Genes Asociados a la Obesidad</b>	32
Animales	32
Toma de biopsias	32
Extracción de RNA total	33
Integridad del RNA	33
Oligo-nucleótidos de iniciación	33

<b>3.5 Análisis Estadístico.</b>	<b>34</b>
<b>CAPITULO 4. RESULTADOS</b>	<b>36</b>
<b>4.1 Comportamiento Productivo</b>	<b>37</b>
Consumo de alimento	37
Peso corporal	37
Espesor de grasa dorsal	37
<b>4.2 Perfil Hormonal</b>	<b>37</b>
Concentraciones séricas de insulina	37
Concentraciones séricas de leptina.	38
Concentraciones séricas de la hormona del crecimiento	38
<b>4.3 Metabolitos y Perfil de Lípidos</b>	<b>39</b>
Concentraciones séricas de glucosa	39
Concentraciones séricas de colesterol	39
Concentraciones séricas de lipoproteínas de alta y baja densidad.	39
Concentraciones séricas de triglicéridos	39
Concentraciones séricas de ácidos grasos libres	39
<b>4.4 Expresión Genética</b>	<b>40</b>
<b>CAPITULO 5. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES</b>	<b>41</b>
<b>5.1 DISCUSIÓN</b>	<b>42</b>
<b>5.2 CONCLUSIONES</b>	<b>50</b>
<b>CAPITULO 6. REFERENCIAS</b>	<b>51</b>
<b>LISTA DE CUADROS</b>	<b>77</b>
<b>Cuadro 1.</b> Ingredientes y composición química de la dieta empleada.	<b>78</b>



<b>Cuadro 2.</b> Secuencia de oligo-nucleótidos de iniciación utilizados en la expresión de gene.	79
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	80
<b>Figura 1.</b> Medias $\pm$ error estándar del consumo de alimento expresado en (kg), durante el estudio; Cerdos Pelón Mexicano (CPM; n=12); cerdos Landrace Yorkshire (CLY;n=15).	81
<b>Figura 2.</b> Medias $\pm$ error estándar del consumo de alimento en relación al peso corporal durante el estudio; Cerdos Pelón Mexicano (CPM; n=12); cerdos Landrace Yorkshire (CLY; n=15).	82
<b>Figura 3.</b> Medias $\pm$ error estándar del peso corporal durante el estudio; Cerdos Pelón Mexicano (CPM; n=12); cerdos Landrace Yorkshire (CLY; n=15).	83
<b>Figura 4.</b> Medias $\pm$ error estándar del espesor de grasa dorsal durante el estudio; Cerdos Pelón Mexicano (CPM; n=12); cerdos Landrace Yorkshire (CLY; n=15).	84
<b>Figura 5.</b> Media $\pm$ error estándar de las concentraciones séricas de insulina en cerdos Pelón Mexicano (CPM; n=12) y cerdos Landrace-Yorkshire (CLY; n=14).	85
<b>Figura 6.</b> Media $\pm$ error estándar de las concentraciones séricas de leptina en cerdos Pelón Mexicano (CPM; n=12) y cerdos Landrace-Yorkshire (CLY; n=14).	86
<b>Figura 7.</b> Media $\pm$ error estándar de las concentraciones séricas de glucosa en cerdos Pelón Mexicano (CPM; n=12) y cerdos Landrace-Yorkshire (CLY; n=14).	87
<b>Figura 8.</b> Media $\pm$ error estándar de las concentraciones séricas de colesterol en cerdos Pelón Mexicano (CPM; n=12) y cerdos Landrace-Yorkshire (CLY; n=14)	88

---

<b>Figura 9.</b> Media $\pm$ error estándar de las concentraciones séricas de LDL en cerdos Pelón Mexicano (CPM; n= 12) y cerdos Landrace-Yorkshire (CLY; n=14).	89
<b>Figura 10.</b> Media $\pm$ error estándar de las concentraciones séricas de HDL en cerdos Pelón Mexicano (CPM; n=12) y cerdos Landrace-Yorkshire (CLY; n= 14).	90
<b>Figura 11.</b> Media $\pm$ error estándar de las concentraciones séricas de triglicéridos en cerdos Pelón Mexicano (CPM; n=12) y cerdos Landrace-Yorkshire (CLY; n=14).	91
<b>Figura 12.</b> Media $\pm$ error estándar de las concentraciones séricas de AGL en cerdos Pelón Mexicano (CPM; n=12) y cerdos Landrace-Yorkshire (CLY; n=14)..	92
<b>Figura 13.</b> Media $\pm$ error estándar del número de copias de RNAm de leptina en cerdos Pelón Mexicano (CPM; n=4) y cerdos Landrace-Yorkshire (CLY; n=3).	93
<b>Figura 14.</b> Media $\pm$ error estándar del número de copias de RNAm del receptor de leptina en cerdos Pelón Mexicano (CPM; n=4) y cerdos Landrace-Yorkshire (CLY; n=3).	94
<b>Figura 15.</b> Media $\pm$ error estándar del número de copias de RNAm de adiponectina en cerdos Pelón Mexicano (CPM; n=4) y cerdos Landrace-Yorkshire (CLY; n=3).	95
<b>Figura 16.</b> Media $\pm$ error estándar del número e copias de RNAm de PPAR- $\gamma$ en cerdos Pelón Mexicano (CPM; n=4) y cerdos Landrace-Yorkshire (CLY; n=3).	96
	97

## ABREVIATURA Y SIGLAS USADAS

## RESUMEN

El objetivo de este estudio fue comparar variables endocrinas y metabólicas entre cerdos Pelón Mexicano (CPM) y cerdos Landrace-Yorkshire (CLY) con la finalidad de establecer si, el CPM es un modelo adecuado para el estudio de la obesidad. Doce CPM y catorce CLY fueron evaluados desde el primer mes hasta los nueve meses de edad. Se midieron concentraciones séricas de colesterol total (CT), lipoproteínas de alta (HDL) y baja densidad (LDL), triglicéridos (TG), ácidos grasos libres (AGL), glucosa, leptina, insulina y hormona del crecimiento (HC). Se evaluó el consumo de alimento (CA), el peso corporal, y el espesor de grasa dorsal (EGD). El nivel de expresión génica del RNAm de la leptina, el receptor de la leptina (Lep-R), la adiponectina y el receptor activado por proliferadores de peroxisomas-gama (PPAR- $\gamma$ ) se determinó mediante PCR-TR. Los CPM tuvieron una mayor deposición de grasa dorsal ( $P<0.01$ ) y mayores concentraciones de insulina, leptina, AGL, CT, LDL, y TG ( $P<0.05$ ). Las concentraciones de glucosa y HC no mostraron diferencias entre genotipos ( $P>0.05$ ). Los CPM tuvieron un mayor número de copias del RNAm de la adiponectina ( $T=18$ ;  $n_1=3$ ;  $n_2=4$ ;  $P<0.05$ ), la leptina ( $T=17$ ;  $n_1=3$ ;  $n_2=4$ ;  $P<0.05$ ), y el receptor de la leptina ( $T=18$ ;  $n_1=3$ ;  $n_2=4$ ;  $P<0.05$ ), pero no existieron diferencias para el PPAR- $\gamma$  ( $T=15$ ;  $n_1=3$ ;  $n_2=4$ ;  $P>0.05$ ). En base a la hiperinsulinemia observada en los CPM, lo cual es sugestivo de resistencia a la insulina, aunado a las altas concentraciones de AGL, CT, LDL, TG y el aparente genotipo ahorrativo observado en este tipo de cerdo, se concluye que el CPM puede ser un modelo adecuado para el estudio de la obesidad y dislipidemias en seres humanos.

Palabras claves: Cerdo Pelón Mexicano; obesidad; resistencia a la insulina; diabetes; dislipidemias.

## ABSTRACT

The objective of this study was to compare endocrine and metabolic variables in Mexican Hairless pigs (MHP) and Landrace-Yorkshire pigs, to establish whether the MHP is potentially a model for the study of human obesity and related metabolic disorders. Twelve MHP and fourteen LYP were evaluated from one to nine months of age. Serum concentrations of total cholesterol (TC), triglycerides, (TG), high-density lipoproteins (HDL), low-density lipoproteins (LDL), glucose, free fatty acids (FFA), growth hormone, leptin, and insulin were determined. Feed intake, body weight and back fat thickness were monitored at bi-weekly intervals. Gene expression from leptin, leptin receptor, adiponectin, and peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPAR- $\gamma$ ) was measured by real time PCR. The MHP partitioned more energy to back fat than the LYP ( $P < 0.01$ ), and had higher fasting serum concentrations of insulin, leptin, FFA, TC, LDL, and TG for the majority of the study period ( $P < 0.05$ ). Fasting glucose and growth hormone concentrations did not differ between genotypes ( $P > 0.05$ ). Based on the higher fasting insulin concentration indicative of insulin resistance, the higher FFA, cholesterol concentrations, the LDL, triglyceride dyslipidemias, and the apparent thrifty genotype, we conclude that the Mexican hairless pig can be used as a suitable model to study human obesity, and the associated dyslipidemias.

Key Words: Mexican hairless pig; obesity; insulin resistance; diabetes; dyslipidemia.

**CAPÍTULO 1**  
REVISIÓN DE LITERATURA

---

## 1.1 INTRODUCCIÓN

Los cerdos Pelón Mexicano son poblaciones locales que se derivaron a partir de los cerdos que fueron introducidos al país después de la conquista (Flores, 1970). Tienen una alta tendencia a depositar grandes cantidades de grasa corporal (Cárdenas, 1966; López *et al.*, 1999) y bajo programas de alimentación adecuada desarrollan obesidad. Esta característica, los coloca como posibles modelos de estudio de la obesidad humana, la cual es un problema de salud pública que se está incrementando de manera constante y rápida en todo el mundo (Friedman, 2000).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la obesidad como un exceso de tejido adiposo corporal, resultado de un desbalance entre el consumo y el gasto energético (WHO, 1995; WHO, 1997), y por su elevada prevalencia es considerada como una “epidemia mundial” (WHO, 1988). La obesidad tiene un componente genético, el cual está influenciado por factores medio ambientales que no pueden ser separados fácilmente (Farrilol *et al.*, 2001).

El conocimiento de las bases moleculares de la obesidad ha progresado por el empleo de modelos murinos que presentan obesidad de origen monogénico (Leibel *et al.*, 1997; Robinson *et al.*, 2000). No obstante, los roedores son modelos inapropiados para evaluar el curso de diferentes enfermedades que afectan a los seres humanos; debido a que su fisiología, anatomía y tiempo de vida difiere significativamente del observado en seres humanos (Kues y Niemann, 2004). Por lo anterior, el uso del cerdo en biomedicina se ha incrementado en las últimas décadas por sus similitudes anatómicas y fisiológicas con el ser humano (Bhathena *et al.*, 1996).

El cerdo Pelón Mexicano es un recurso genético que no ha sido ampliamente estudiado, por lo que el objetivo de esta tesis fue caracterizar algunos de los factores genéticos, moleculares, y fisiológicos que participan en el desarrollo de la adiposidad de este tipo de cerdo, con la finalidad de evaluarlo como modelo de estudio en el desarrollo de la obesidad y de sus complicaciones metabólicas.

## **1.2 REVISIÓN DE LITERATURA**

### **1.2.1 El Cerdo Pelón Mexicano**

El origen de los cerdos criollos en México se dio a partir de cerdos tipo Ibérico, Céltico, Napolitano y Asiático que fueron introducidos a nuestro país después de la conquista (Cárdenas, 1966). En particular, se cree que el cerdo Pelón Mexicano se generó de las razas Negra Extremeña Lampiña, Negra Extremeña Entrepelada, y Retinta Extremeña (Flores, 1970). Las características principales de este tipo cerdo son la falta de pelo en la superficie corporal, el color de su piel es pizarra o negro, la presencia de arrugas en diferentes partes del cuerpo (Flores, 1970) y la alta tendencia a depositar grandes cantidades de grasa corporal (Cárdenas, 1966). Los cerdos Pelón Mexicano son variedades locales que no han sido incorporadas a programas de selección genética por lo que tienen rasgos genéticos particulares y únicos. Se localizan en las zonas tropicales de México tanto en la vertiente del Golfo como en la del Pacífico (López *et al.*, 1999). Lemus *et al.*, (2001) encontraron que este tipo de cerdo es genéticamente distante a las razas porcinas comerciales; sin embargo, están desapareciendo por ser

mezclados o sustituidos por razas mejoradas, con la finalidad de mejorar sus bajos parámetros productivos (Robles, 1967).

Hasta la década de los setentas existían dos variantes de cerdos Pelón Mexicano, la grande y la pequeña, ésta última conocida como “biriches”, observada exclusivamente en el estado de Yucatán (Flores, 1978). Debido a la disminución de las poblaciones de cerdos Pelón Mexicano, la FAO los ha considerado un recurso genético en peligro de extinción (FAO, 1995).

### **1.2.2 Obesidad: Definición e Importancia**

La obesidad es una alteración en la que se presenta un exceso de tejido adiposo corporal resultado de un desequilibrio entre el consumo y el gasto energético (WHO, 1997). Este exceso de grasa afecta la salud y el bienestar del ser humano, y por su elevada prevalencia ha sido considerada como una “epidemia mundial” (WHO, 1988). En esta patología el aumento de tejido adiposo no guarda proporción con el depósito proteico (Simon y Del Barrio, 2002). Asimismo, la obesidad tiene un fuerte componente genético el cual ha sido demostrado con el empleo de modelos murinos tanto de obesidad monogénica como de obesidad poligénica (West *et al.*, 1992; Wolf, 1997; Arner, 2000).

Aunado a la susceptibilidad genética, el desarrollo de la obesidad está influenciado por el incremento en el consumo de alimentos con alto contenido energético, así como por una disminución en la actividad física, factores que son comúnmente observados en países industrializados. No obstante, la prevalencia



de esta patología también se está incrementando en países en desarrollo (Grol *et al.*, 1997), por lo que la OMS reportó que el 8% de la población mundial presenta severa obesidad, y en países industrializados la prevalencia puede ser hasta del 30% (Brockmann y Bevova, 2002). Se ha demostrado, que la obesidad está asociada con varias anormalidades metabólicas, entre las que se encuentran, resistencia a la insulina, hiperinsulinemia, hipertensión, dislipidemias, enfermedades coronarias, el síndrome metabólico, y ciertos tipos de cáncer (Kopelman, 2000; Shmulewitz *et al.*, 2001; Wolk *et al.*, 2001; Bray, 2004).

Se estima que el número de genes o marcadores genéticos asociados con la obesidad son más de 200 (Hirsch *et al.*, 1998). Sin embargo, el descubrimiento de la leptina, el receptor de la leptina, la adiponectina, el receptor activado por proliferadores de peroxisomas-gama (PPAR- $\gamma$ ), y el factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ) entre otras moléculas, ha permitido entender las bases moleculares de la obesidad y los mecanismos que regulan la ingesta de alimento.

#### **1.2.4 Genética de la Obesidad**

Los avances en el conocimiento de la obesidad han progresado gracias al empleo de modelos murinos, en los que el fenotipo obeso obedece sólo a causas genéticas (Leibel *et al.*, 1997; Robinson *et al.*, 2000) y, en los cuales por medio del clonaje posicional se han detectado genes que participan en el desarrollo de esta patología (Naggert *et al.*, 1997). Sin embargo, la regulación del balance energético es un proceso extremadamente complejo en el que participan cientos de genes (Robinson *et al.*, 2000), por lo que se han desarrollado diferentes cepas murinas con fenotipos extremos para producir poblaciones F2 en las que se han

detectado *loci* que afectan rasgos cuantitativos (QTLs) relacionados con la obesidad (West *et al.*, 1994; Keightley *et al.*, 1996).

**1.2.5.1 Obesidad Monogénica.** Los modelos murinos de obesidad monogénica han permitido identificar genes candidatos asociados a la obesidad, los cuales también han sido evaluados en seres humanos. Existen cinco tipos de ratones que desarrollan obesidad de tipo monogénico, entre los que se encuentran, el ratón agutí, el graso (fat), el tubby, el obeso (ob), y el diabético (db) (Robinson *et al.*, 2000).

**Ratón Agutí.** El gen agutí codifica una proteína de 131 aminoácidos que se expresa normalmente sólo en la piel, durante los primeros días de vida. Sin embargo, en los ratones agutí la expresión ectópica de este péptido está presente en varios tejidos, entre los que se incluye al hipotálamo (Bultman *et al.*, 1992). El gen agutí se localiza en el cromosoma 2 y su homólogo, el gen que codifica para la proteína señaladora agutí (ASP), fue mapeada en el cromosoma 20q11.2 en el ser humano y se expresa en el tejido adiposo (Kwon *et al.*, 1994). El ratón agutí presenta una mutación autosómica dominante con 16 isoformas, desde las viables ( $A^{br}$ ) hasta las formas letales siendo la amarilla ( $A^{ly}$ ) la más importante (Bultman *et al.*, 1992; Michaud *et al.*, 1994).

La clonación y el análisis del gen aguti, reveló que el fenotipo agutí es causado por un re-arreglo del locus en el promotor del gen, resultando en la expresión ectópica del péptido agutí (Miller *et al.*, 1993; Duhl *et al.*, 1994).

La proteína agutí es un antagonista de la acción de la hormona estimulante de los melanocitos alfa (MSH- $\alpha$ ); los defectos en la pigmentación del pelo “color amarillo”

se producen por la inhabilidad de la hormona MSH para estimular la síntesis de eumelanina a través del receptor de la melanocortina-1 (MC1-R). La expresión aberrante de la proteína agutí puede antagonizar al receptor de la melanocortina-4 (MC4-R) que se expresa en el hipotálamo y por lo tanto conducen a la presencia de la obesidad (Lu *et al.*, 1994).

Este tipo de ratón presenta un síndrome en el que se observan tumores, defectos en la pigmentación, hiperinsulinemia, hiperglicemia, resistencia a la insulina, diabetes similar a la tipo 2 y obesidad al inicio de la vida adulta (Bultman *et al.*, 1992; Michaud *et al.*, 1994, Yen *et al.*, 1994).

En el ser humano ASP tiene efectos similares a la proteína murina agutí; sin embargo, ASP aparentemente sólo antagoniza al MRC-1 (Yang *et al.*, 1997).

**Ratón Fat.** Los ratones fat desarrollan obesidad la cual puede ser detectada en la octava semana de edad, presentan hiperinsulinemia, hipertrofia e hiperplasia de los islotes pancreáticos (Coleman y Eicher, 1990), y se ha visto que ratones homocigotos son fértiles antes de presentar el cuadro de obesidad (Coleman y Eicher, 1990; Naggert *et al.*, 1995).

La mutación fat se localiza en el cromosoma 8 (Coleman y Eicher, 1990), es un tipo de mutación sin sentido, autosómica recesiva en el gen que codifica para la enzima carboxipeptidasa E (CPE), enzima que se expresa en el sistema nervioso central (SNC). La mutación fat, elimina la actividad enzimática de la CPE en algunos tejidos neuroendocrinos (Naggert *et al.*, 1995). Sin embargo, no se conoce el mecanismo por el cual se genera la obesidad.

Se ha visto que la CPE es necesaria en los procesos proteolíticos en diversas pro-hormonas, tales como la proinsulina y el neuropéptido pro-opiomelanocortina (POMC), siendo este último un precursor de diferentes péptidos que actúan con la familia de receptores de la melanocortina (Cool *et al.*, 1997).

Yeo *et al.*, (2000) observaron que la disfunción de la CPE afecta a varios neuropéptidos que controlan la saciedad entre los que se encuentran el péptido-1 similar al glucagón (GLP1), la neurotensina, el neuropéptido POMC y el neuropéptido Y (NPY).

**Ratón Tubby.** Se ha observado que la mutación *tubby* causa obesidad de manera lenta y progresiva, la cual es evidente al inicio de la edad adulta, los ratones afectados presentan resistencia a la insulina, degeneración de la retina, e infertilidad, características que son aparentes a partir de que adquieren el fenotipo obeso (Coleman y Eicher, 1990; Ohlemiller *et al.*, 1995). El ratón *tubby* presenta una mutación autosómica recesiva localizada en el cromosoma 7, mientras que su homólogo en el ser humano se encuentra en el cromosoma 11p15 (Chung *et al.*, 1996). El cambio de una G→T resulta en un transcrito aberrante donde el carboxilo terminal de 44 aminoácidos es substituido con 24 diferentes aminoácidos. Chung *et al.*, (1996) observaron que el gen *tubby* es miembro de una nueva familia de genes llamada *Tubby like-protein* (TULPS), los cuales tienen funciones desconocidas y son altamente conservados entre especies (North *et al.*, 1997; Nishina *et al.*, 1998). Normalmente, la proteína *tubby* está altamente expresada en el ojo, en el núcleo hipotalámico relacionado con el control central de la homeostasis energética y en menor grado en el tejido adiposo, así como en otros tejidos (Noben-Trauth *et al.*, 1996; Kapeller *et al.*,

1999). La expresión genética de la proteína tubby no se ve alterada en otros modelos de obesidad como el ratón ob o el ratón db (Stubdal *et al.*, 2000).

Por otro lado, el fenotipo tubby recuerda a síndromes humanos como el de Alström's y el de Bardet-Biedl, los cuales se caracterizan por presentar obesidad, y problemas asociados con la retina como la pérdida de fotorreceptores (Kwitek-Black *et al.*, 1993; Bray, 1995).

**Ratón Obeso (ob).** Desde la década de los cincuentas Ingalls *et al.*, (1950) observaron que el ratón ob presentaba un síndrome en el cual se observaba obesidad mórbida temprana, hiperfagia, hipotermia, disminución en el gasto energético, hiperinsulinemia e infertilidad. Sin embargo, no fue hasta que Coleman (1973) por medio de estudios de circulación cruzada (parabiosis) entre un ratón obeso y uno normal, observó que el obeso perdía peso sugiriendo la presencia de un factor circulante adipostático. Décadas más tarde, Zhang *et al.*, (1994) demostraron que el ratón ob presentaba una mutación recesiva sin sentido en el gen que codifica para la leptina. La mutación de CGA a TGA (C→T) resulta en el cambio de una arginina en la posición 105 en el codón de paro, produciendo una proteína sin terminar, la cual no es liberada al torrente sanguíneo (Zhang *et al.*, 1994).

En gen ob fue identificado en el cromosoma 6 en el ratón, mientras que su homólogo en el ser humano se localiza en el cromosoma 7q31.3 (Zhang *et al.*, 1994). La identificación y caracterización del gen ob mostró que codifica un RNAm de 4.5 kb con un marco de lectura de 167 aminoácidos altamente preservado entre especies (Zhang *et al.*, 1994), y comparte una similitud del 84%

con el gen ob del ser humano. El producto de este gen, fue llamado leptina (del griego leptos que significa delgado), debido a que al ser inyectada en ratones disminuye el peso corporal y la cantidad de tejido adiposo (Halaas *et al.*, 1995).

**Ratón Diabético (db).** Los ratones db presentan una mutación autosómica y un fenotipo similar al ob (Coleman, 1978). Experimentos de parabiosis demostraron que el ratón obeso carece de la hormona leptina, mientras que el ratón diabético carece del receptor para esta hormona (Coleman, 1973).

### **1.3 La Participación del Cerdo en Biomedicina**

En las últimas décadas, el cerdo ha tenido un incremento constante en sus aplicaciones en investigación médica, debido a sus similitudes anatómicas, fisiológicas y metabólicas con el ser humano (Rand, 2002; Kues y Niemann, 2004). Su empleo en biomedicina data de los años cincuentas (Bustad, 1968; McIntosh y Pointon, 1981), y ha sido ampliamente utilizado como modelo experimental en el estudio de enfermedades que afectan al ser humano (Robert *et al.*, 1998; Laber-Laird *et al.*, 1992). Al igual que el humano, el cerdo desarrolla patologías similares (Longhurst y Symons, 1993), responde de igual manera a ciertos tipos de drogas, y transporta de manera similar grandes fracciones séricas de colesterol, así como de lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Bollen y Ellegaard, 1996).

Actualmente, el cerdo es una de las especies que más se está utilizando en el desarrollo de biotecnologías aplicadas al bienestar, y la salud del ser humano (Kues y Niemann, 2004), y es una de las principales especies usadas en

procedimientos de xenotransplantes tanto de órganos como de tejidos (Kues y Niemann, 2004).

En EUA se comercializan cerdos miniatura para investigación, siendo los más empleados, el Yucatán miniatura, el Yucatán micro, el Hanford, el Sinclair o Hormel, y el Pitman-Moore (Panepinto y Phillips, 1986; Swindle *et al.*, 1988). Estas razas porcinas se generaron en su mayoría a partir del cruzamiento de cerdos Landrace-Yorkshire con cerdos Pelón Mexicano provenientes del estado de Yucatán. Estos tipos de cerdos, presenta características diferentes dependiendo del área médica en la cual son empleados, pero en general son animales pequeños con pesos corporales que van de los 12 a 45 kg a la edad de 4 meses, por lo que pueden ser empleados durante largos períodos de experimentación (Swindle *et al.*, 1994).

Aunado a sus características fisiológicas y anatómicas, el cerdo presenta otras ventajas que contribuyen a su utilidad en el laboratorio: su ciclo reproductivo es corto, es fácil de criar, tiene camadas numerosas y presenta la madurez sexual a una edad temprana.

#### **1.4 El tejido Adiposo “un Órgano Endocrino”**

Anteriormente, se pensaba que la principal función del tejido adiposo blanco era el almacenamiento de triglicéridos durante un excesivo consumo de energía, y su utilización durante períodos de escasez. Actualmente, el tejido adiposo es considerado un órgano endocrino, paracrino y autocrino; el cual además de tener un papel importante en el balance energético, secreta hormonas, y adipocitocinas

que regulan la homeostasis energética e intervienen en el funcionamiento, y desarrollo de otros sistemas como el inmune y el reproductor (Frühbeck *et al.*, 2001; Havel, 2002). Alteraciones en el crecimiento, y función del tejido adiposo suelen estar implicadas en el desarrollo de la obesidad, la resistencia a la insulina, la diabetes tipo2 y la aterosclerosis (Moreno y Jiménez, 2002).

Las investigaciones realizadas en las últimas décadas han revolucionado los conocimientos sobre los mecanismos fisiológicos y moleculares que regulan la grasa, y el peso corporal. La clonación de genes que desarrollan obesidad monogénica, así como diferentes mediadores hormonales implicados en la regulación del peso corporal ha contribuido al entendimiento de los elementos fisiológicos del tejido adiposo.

### **1.5 Hormonas y Adipocitocinas Relacionadas con la Obesidad**

**Leptina y su receptor.** La hormona leptina está compuesta de 167 aminoácidos con una secuencia señal de 21 aminoácidos que se escinde antes de que pase a la corriente sanguínea (Friedman *et al.*, 1998). En el ser humano, el gen que codifica para la leptina se sitúa en el extremo del cromosoma 2p21, próximo a otros genes probablemente relacionados con la obesidad (Comuzzie *et al.*, 1997). Mientras que en el cerdo, el gen *ob* se localiza en el cromosoma 18, y tiene una similitud del 86% con él del ratón, y del 84% con él del ser humano (Neuenschwander *et al.*, 1996).



El gen *ob* está formado por tres exones, y dos intrones; el exón 1 corresponde a una secuencia no traducida, mientras que las secuencias que codifican para aminoácidos se encuentran en los exones 2 y 3. Ramsay *et al.*, (1998) verificaron que en el cerdo, el gen *ob* codifica un transcrito aproximadamente de 4.4 kb el cual es similar al RNAm del ser humano.

La expresión genética de la leptina, así como sus concentraciones plasmáticas se correlaciona positivamente con el porcentaje de grasa corporal, tanto en seres humanos como en cerdos (Considine *et al.*, 1996; Spurlock *et al.*, 1988; Robert *et al.*, 1988). Asimismo, se ha reportado que existen mayores concentraciones séricas de leptina en cerdos con mayor espesor de grasa dorsal, en comparación con cerdos de la misma raza pero con menor espesor de grasa dorsal (Bidwell *et al.*, 1997).

La leptina se expresa principalmente en el tejido adiposo blanco (Campfield *et al.*, 1995; Pelleymounter *et al.*, 1995). Sin embargo, se han detectado bajos niveles de expresión en la placenta, en el músculo esquelético, en el epitelio gástrico y en la glándula mamaria, así como en el cerebro (Friedman *et al.*, 1998). La leptina es una señal para el sistema nervioso central que indica el estatus de las reservas energéticas acumuladas en forma de triglicéridos (Halaas *et al.*, 1995). Asimismo, actúa como un mecanismo de retroalimentación negativa para el NPY y otras moléculas, permitiendo una homeostasis corporal entre el consumo de alimento y el gasto energético (Friedman, 1997).

El papel de la leptina en la patogénesis de la obesidad puede ser inferido por sus concentraciones plasmáticas y por su expresión genética, medida a través de la concentración de su RNAm en el tejido adiposo, mismos que están

correlacionados positivamente con estimadores de obesidad, como el total de grasa dorsal, el porcentaje de grasa corporal y el índice de masa corporal (IMC) (Ahima y Flier, 2000). En seres humanos magros y/o con peso normal se han reportado niveles séricos de leptina en el rango de 1-15 ng/ml (Sinha *et al.*, 1996), sin embargo, en individuos obesos éstos pueden llegar a ser hasta de 30 ng/ml, los cuales se encuentran circulando en su forma libre (Cumin *et al.*, 1996).

Caro *et al.*, (1996) observaron que la leptina viaja al cerebro mediante un sistema de transporte saturable, siendo esta capacidad baja en individuos obesos, originando un mecanismo de resistencia a esta hormona. No obstante, dentro del contexto de la obesidad, las concentraciones séricas de leptina normales o por abajo indican que existe una disminución en la producción de esta hormona (Friedman y Halas, 1998).

Bai *et al.*, (1996) fueron los primeros en observar *in vitro* que la leptina suprime la síntesis de la enzima acetil CoA carboxilasa, enzima necesaria para la síntesis de ácidos grasos. En ratones, la leptina causa pérdida de peso a través de una acción hipotalámica y de rutas tanto endocrinas como paracrinas en el adipocito (Siegrist-Kaiser *et al.*, 1997); se ha visto que en el tejido adiposo y en el músculo esquelético esta hormona incrementa la lipólisis (Cohen *et al.*, 2001).

Poco tiempo después del descubrimiento de la leptina, el receptor para el gen ob (Ob-R o Lep-R) fue aislado en ratones db/db (Tartaglia *et al.*, 1995). El receptor se encuentra expresado en el plexo coroideo, en diferentes regiones del hipotálamo y en otros tejidos periféricos entre los que se incluyen al músculo esquelético, al hígado, a los islotes pancreáticos y, al mismo adipocito (Tartaglia, 1997; Finn *et al.*, 1998). La presencia del Ob-R en tejidos periféricos relacionados

con el metabolismo intermedio, indica que también son blanco para la acción de la leptina (William *et al.*, 2002). Existen diferentes RNAm del receptor ob que codifican para 6 isoformas, Ob-Ra, Ob-Rb, Ob-Rc, Ob-Rd, Ob-Re y Ob-Rf. Estas variantes presentan un dominio extracelular idéntico, mientras que difieren en el residuo terminal carboxílico (Tartaglia, 1997). De las diferentes isoformas sólo la forma Ob-Rb es capaz de activar una transducción de señal a nivel celular (Ghilardi *et al.*, 1996). El Ob-Rb se expresa en diferentes regiones hipotalámicas implicadas con el consumo de alimento y el balance energético, también se encuentra co-localizado con neuropéptidos mediadores de la acción de la leptina, como el NPY, el POMC, el péptido-relacionado aguti (AgRP) y el transcrito regulado cocaína-anfetamina (CART) (Elmqvist *et al.*, 1999).

**Adiponectina.** La adiponectina, también conocida como Acrp30, AdipoQ, o Apm1 está formada por 247 aminoácidos con un dominio N-terminal del tipo de las colágenas, y un dominio C-terminal globular, es la proteína de origen adiposo más abundante en suero y está exclusivamente expresada en el tejido adiposo (Maeda *et al.*, 1996; Mallamaci *et al.*, 2002; Ravussin, 2002). La adiponectina tiene una papel importante en el metabolismo de lípidos y en la homeostasis de la glucosa (Lord *et al.*, 2005). A diferencia de la leptina, su expresión genética en el tejido adiposo, y sus concentraciones séricas (5-10 µg/ml) están disminuidas en ratones obesos, así como en seres humanos con obesidad o diabetes tipo 2 (Berg *et al.*, 2001), y están inversamente correlacionadas con la presencia de resistencia a la insulina (Weyer *et al.*, 2001).

La adiponectina funciona como un agente sensibilizador para la insulina, por reducir la producción hepática de glucosa, mejorando la acción de la insulina en el

hígado (Berg *et al.*, 2001; Yamauchi *et al.*, 2002). Un moderado incremento en los niveles circulantes de adiponectina inhiben la expresión genética de enzimas hepáticas responsables de la gluconeogéneis (Combs *et al.*, 2001). Asimismo, incrementa la expresión de genes que participan en la oxidación de ácidos grasos (Fruebis *et al.*, 2001; Yamauchi *et al.*, 2002).

Los mecanismos que regulan la producción de la adiponectina aún no están bien determinados. En seres humanos, se ha observado que la pérdida de peso corporal incrementa los niveles séricos de esta proteína, mientras que el TNF- $\alpha$  modula su expresión disminuyendo su síntesis (Hotamisligil, 1999; Fasshauer *et al.*, 2002).

La adiponectina tiene dos tipos de receptores, AdipoR1 y AdipoR2 (Yamauchi *et al.*, 2003). En el cerdo, ambos receptores están expresados en el músculo esquelético, el hígado, el corazón, el tejido adiposo subcutáneo y visceral (Lord *et al.*, 2005). Se ha visto que la similitud de los receptores de la adiponectina en los cerdos, los ratones y el humanos va del 81% al 97%, lo cual sugiere que tienen funciones similares (Ding *et al.*, 2004).

**Factor de Necrosis Tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ).** La importancia del TNF- $\alpha$  en casos de obesidad radica en su capacidad para generar resistencia a la insulina en órganos periféricos y, en el mismo adipocito. En seres humanos obesos y cerdos obesos existen altas concentraciones séricas del TNF- $\alpha$ , así como altos niveles de expresión genética (Hotamisligil *et al.*, 1999; Chen *et al.*, 2004). Asimismo, en cultivos celulares de adipocitos el TNF- $\alpha$  causa resistencia a la insulina por producir fosforilación en el residuo de serina en el receptor del

substrato-1 de la insulina (IRS-1), el cual se vuelve un inhibidor de la enzima tirosina-cinasa en el receptor, resultando en un bloqueo de la acción de la insulina (Hotamisligil, 2000).

Por otro lado, el TNF- $\alpha$  incrementa la producción de ácidos grasos libres (AGL), y la expresión genética de la leptina (Ahima *et al.*, 2000). Se ha observado que tanto la leptina como los AGL son capaces de inducir resistencia a la insulina en otros órganos. La habilidad del TNF- $\alpha$  para estimular lipólisis con el subsecuente incremento en la movilización de AGL del tejido adiposo podría ser un mecanismo indirecto en el desarrollo de la resistencia a la insulina (Arner, 2003). Sin embargo, los factores de esta resistencia aún no están bien identificados (Kubota *et al.*, 1999).

**Receptores Activados por los Proliferadores de Peroxisomas-gama (PPAR- $\gamma$ ).** Los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR) pertenecen a una superfamilia de receptores nucleares capaces de regular la expresión genética de diversos genes. Los subtipos conocidos son el PPAR- $\alpha$ , el PPAR- $\delta$ , y el PPAR- $\gamma$ . Este último está codificado por 3 genes diferentes: el PPAR- $\gamma$  1, PPAR- $\gamma$  2, y PPAR- $\gamma$  3. Las formas del PPAR- $\gamma$  1 y del PPAR- $\gamma$  3 codifican para una misma proteína, mientras que el PPAR- $\gamma$  2 da lugar a un receptor con 30 aminoácidos menos, en el extremo aminoterminal.

El PPAR- $\gamma$  2 es un factor de transcripción, el cual se expresa en el tejido adiposo blanco (Tontonoz *et al.*, 1994), y está situado en el núcleo del adipocito. Se ha visto que el PPAR- $\gamma$  2 está presente en estadios muy tempranos de diferenciación celular, en donde se encuentra altamente expresado y se cree que funciona como

un regulador directo de genes relacionados con la adiposidad, y es un regulador maestro que puede activar el programa completo de adipogénesis (Mueller *et al.*, 2002).

**Insulina.** La insulina es un modulador importante del peso corporal por su acción lipogénica, antilipolítica y por su participación en el desarrollo de la obesidad (Pfeiffer, 1974; Fontana *et al.*, 2001). Bajas concentraciones de insulina facilitan la liberación de AGL a la corriente sanguínea por medio de la enzima lipasa sensible a hormonas (HSL) (Cushman y Wardzala 1980). Sin embargo, altas concentraciones de insulina inhiben a esta enzima, y promueven la síntesis de novo de ácidos grasos (lipogénesis), y su almacenamiento en forma de triglicéridos (Nadler y Attie, 2001). Uno de los mecanismo por los cuales la insulina promueve el proceso de lipogénesis, es a través de la translocación de transportadores de glucosa tipo 4 (GLUT4) del interior del adipocito a la superficie celular (Le Roith *et al.*, 2001).

En el cerdo, se ha observado que el grado de adiposidad está positivamente correlacionado con concentraciones plasmáticas de insulina (Polonsky, 1995).

En cerdos neonatos las concentraciones plasmáticas fisiológicas de insulina pueden estimular la diferenciación celular de preadipocitos, mientras que niveles incrementados promueven la síntesis de novo de ácidos grasos, así como su almacenamiento en forma de triglicéridos en el adipocito y tiene un efecto inhibitorio de la enzima HSL (Flakoll *et al.*, 1996).

Por otro lado, la insulina incrementa el consumo de ácidos grasos provenientes de las lipoproteínas circulantes por estímulo de la actividad de la enzima lipoproteína

lipasa en el tejido adiposo. Asimismo, la liberación de ácidos grasos del adipocito está mediada en parte, por la hormona insulina (Nadler y Attie, 2001).

Estadios de obesidad están relacionados con alteraciones metabólicas en donde se ha observado un desequilibrio en la incorporación de glucosa al músculo y al adipocito, resultando en una sobre producción de glucosa hepática y de insulina por parte de los islotes pancreáticos, llegando a desarrollar resistencia a la insulina (Mitchell *et al.*, 2005). La relación entre obesidad y la homeostasis de insulina se explica porque más del 80% de individuos con diabetes tipo 2 presentan sobrepeso y/o obesidad, y el riesgo de desarrollar esta alteración depende del grado, y de la distribución de la obesidad (Caterson *et al.*, 2004).

Sin embargo, los mecanismos que determinan la resistencia a la insulina aún no están completamente claros. Se ha especulado que la gran actividad lipolítica que se observa en estadios de obesidad incrementa las concentraciones de AGL liberados a la circulación portal, así como de ciertas adipocitocinas, las cuales tienen un papel importante en el desarrollo de esta alteración metabólica (Misra y Vikram, 2003; Grundy, 2004).

## **1.6 Metabolismo de Lípidos y Obesidad**

La obesidad se caracteriza por generar un metabolismo anormal de lípidos (WHO 2000; Grundy, 2004), presentándose incrementos en las concentraciones de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), de baja densidad (LDL) (WHO, 2000) y de triglicéridos; estos últimos como resultado del incremento en la producción de AGL (Ginsberg, 2003; Grundy, 2004). Asimismo, la sobreproducción de

triglicéridos y de VLDL disminuye la producción de lipoproteínas de alta densidad (HDL) (Misra y Vikram, 2003), y el tamaño de las LDL (Sonnenberg *et al.*, 2004). También, se ha reportado que existe una disminución en la eficiencia de absorción intestinal de colesterol, lo que resulta en un incremento endógeno por parte del hígado (Miettinen y Gylling, 2000).

### **1.7 Obesidad y el Genotipo Ahorrativo**

Médicamente, la obesidad es un estado en el cual existe un incremento en el peso corporal, particularmente de tejido adiposo que puede producir consecuencias adversas a la salud (Spiegelman y Flier, 2001).

La propensión a la obesidad ha existido a través de la evolución del ser humano; sin embargo, la presencia de esta alteración ha emergido a gran escala, como resultado de los cambios en el medioambiente, en particular, la disponibilidad y composición de los alimentos aunado a la reducción de la actividad física.

La idea de que los humanos evolucionaron eficientemente para almacenar los excesos de energía en forma de grasa, ha recibido el nombre hipótesis del genotipo ahorrativo "thrifty gene hypothesis". Esta hipótesis, propone que la obesidad, así como sus consecuencias metabólicas es producto de una adaptación evolutiva para enfrentar períodos impredecibles de alimentación, por lo que se fijaron genes que favorecen el almacenamiento de energía en forma de grasa, la cual era utilizada para sobrevivir en periodos de penuria alimenticia. Es probable que la habilidad para almacenar grasa en tiempos de abundancia nutricional, haya sido un rasgo positivo para el cual se haya seleccionado por miles de años de evolución. Sin embargo, en sociedades en las cuales la abundancia de alimento es constante, este genotipo se vuelve una desventaja,



conduciendo a un incremento en el riesgo para desarrollar diabetes tipo 2, así como otras alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad, como el síndrome metabólico (Neel, 1999).

### **1.8. El Síndrome Metabólico**

El síndrome metabólico es un grupo de factores de riesgo que se caracteriza por dos o más de los siguientes componentes: resistencia a la insulina, hiperinsulinemia, obesidad abdominal, concentraciones incrementadas de triglicéridos, reducción en las concentraciones de lipoproteínas de alta densidad (HDL), incremento en las concentraciones de lipoproteínas de baja densidad (LDL) e hipertensión (Alberti *et al.*, 2005; Kahn *et al.*, 2005). Estos factores, aumentan el riesgo de desarrollar, enfermedades coronarias, y diabetes tipo 2 (Ford *et al.*, 2004), los cuales son causas principales de muerte.

## **CAPÍTULO 2**

### **HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

---

## 2.1 HIPÓTESIS

1. Las concentraciones séricas de leptina son mayor en cerdos Pelón Mexicano que en cerdos Landrace-Yorkshire.
2. Los perfiles lípidicos son diferentes entre cerdos Pelón Mexicano y cerdos Landrace-Yorkshire.
3. Los cerdos Pelón Mexicano desarrollan diabetes tipo2.
4. La expresión genética de leptina, Ob-R, TNF- $\alpha$  y PPAR- $\gamma$  es mayor en cerdos Pelón Mexicano que en cerdos Landrace-Yorkshire.
5. La expresión genética de adiponectina es menor en cerdos Pelón Mexicano que en cerdos Landrace-Yorkshire.

## **2.2 OBJETIVO GENERAL**

El objetivo general de esta tesis, fue estudiar factores genéticos, moleculares y fisiológicos que participan en la adiposidad del cerdo Pelón Mexicano, como paso inicial en la valoración de este tipo de cerdo, como modelo de estudio en la obesidad humana, así como sus complicaciones metabólicas.

### **2.2.1 Objetivos específicos**

1. Evaluar el desarrollo de la obesidad en cerdos Pelón Mexicano en comparación con cerdos Landrace-Yorkshire.
2. Comparar en las poblaciones de cerdos bajo estudio, las concentraciones séricas de ácidos grasos libres, colesterol total, lipoproteínas de baja densidad (LDL), lipoproteínas de alta densidad (HDL), glucosa, insulina, leptina y hormona del crecimiento.
3. Comparar la expresión génica de genes que codifican para la adiponectina, la leptina, el receptor de la leptina y el receptor activado por el proliferadores de peroxisomas-gama (PPAR- $\gamma$ ), en cerdos Pelón Mexicano y cerdos Landrace-Yorkshire.

## **CAPÍTULO 3**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

---

## **3.1 MATERIALES Y MÉTODOS**

### **3.1.1 Lugar de Trabajo**

La fase de campo se realizó en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Porcina (CEIEPP) de la FMVZ-UNAM. Mientras que los estudios de laboratorio se llevaron a cabo en el Laboratorio de Genética Molecular del Depto. de Genética y Bioestadística, y el Depto. de Reproducción de la misma entidad académica, así como en el Laboratorio de Análisis Clínicos Jilotepec y la Unidad de Investigación Médica en Medicina Reproductiva, Luis Castelazo Ayala, IMSS.

### **3.2 Material Biológico y Diseño del Experimento**

La presente tesis se dividió en dos estudios: En el primero, se compararon rasgos endocrinos, y de crecimiento en cerdos Pelón Mexicano y en cerdos Landrace-Yorkshire; se midieron concentraciones séricas de hormonas, lípidos y metabolitos a partir del primer mes de edad hasta los 9 meses de edad. En el segundo estudio, se utilizaron cerdos Pelón Mexicano y cerdos Landrace-Yorkshire adultos de 2 años de edad, en los cuales se evaluó la expresión genética de genes relacionados con la obesidad y con las complicaciones metabólicas asociadas a esta alteración.

### **3.3 Estudio de Rasgos Endocrinos y de Crecimiento**

#### **Animales**

Doce cerdos Pelón Mexicano de 28 días de edad fueron agrupados en dos corraletas elevadas, en cada corraleta se alojaron seis animales con un peso promedio de  $5.60 \pm 1.03$  kg. De la misma forma, catorce cerdos Landrace-Yorkshire con edad semejante y con un peso promedio de  $7.67 \pm 0.95$  fueron agrupados en dos corraletas elevadas, cada una alojó siete cerdos.

Los cerdos permanecieron en una sala de destete con ambiente controlado por medio de calentadores de gas hasta las doce semanas de edad, posteriormente fueron llevados a una sala de crecimiento y se alojaron en corrales con piso de cemento. Ambas instalaciones estuvieron equipadas con comederos de tolva, bebederos de chupón y ventilación natural. Los animales fueron alimentados a libre acceso con una dieta a base de sorgo y soya, tomando como referencia lo recomendado por el NRC (1998; Cuadro1).

#### **Toma de muestras de sangre y perfil hormonal**

Cada 15 días entre las 0700 y 0800 hrs se tomaron 10 mL de sangre de la vena yugular externa de cada cerdo, el cual tuvo un ayuno previo de 12 hrs. El suero se separó del paquete celular por medio de centrifugación a  $3000 \times g$  a  $4^{\circ} C$  durante 15 min, fue transferido a tubos eppendorf y mantenido a  $-20^{\circ}C$  hasta su análisis.

Se determinaron concentraciones séricas de insulina, leptina y hormona del crecimiento por medio de la técnica de radioinmunoanálisis (RIA) y empleando kits comerciales de Linco (Linco Research, USA).

Las concentraciones séricas de insulina fueron determinadas mensualmente hasta los 9 meses de edad, usando el kit porcín insulin RIA, el cual tuvo un límite de sensibilidad de 2 $\mu$ U/ml. El coeficiente de variación intra-e inter-ensayo fue de 6.7 % y 9.2 % respectivamente.

Las concentraciones séricas de leptina se midieron a los 1, 3, 6, y 9 meses de edad, empleando el kit comercial leptin multispecies, el cual tiene un anticuerpo anti-leptina humana con 67% de reactividad cruzada con la leptina porcina y un límite de sensibilidad de 1.0 ng/ml. El coeficiente de variación intra-ensayo fue de 6.7 %.

Finalmente, las concentraciones séricas de la hormona del crecimiento se determinaron a los 1, 3, 6, y 9 meses de edad con el kit comercial porcine/canine growth hormon, el cual tuvo un límite de sensibilidad de 1 ng/ml.

El coeficiente de variación intra-e inter-ensayo fue de 7.9 % y 9.4 % respectivamente.

### **Perfil de lípidos y ácidos grasos libres**

El perfil de lípidos se evaluó cada 15 días e incluyó: concentraciones séricas de AGL, colesterol total, de lipoproteínas de baja densidad (LDL), de lipoproteínas de alta



densidad (HDL), y de triglicéridos. Para medir estas concentraciones, se utilizó un analizador automatizado para química clínica Spinlab 180, Spinreact<sup>MR</sup> (Sant Esteve de Bass, España). Se utilizaron kits comerciales, específicos para cada determinación, producidos por Spinreact<sup>MR</sup>.

Las concentraciones séricas de colesterol total se evaluaron por un método enzimático colorimétrico, utilizando el kit CHOP-POD. En este método, el colesterol presente en el suero reacciona con las enzimas: colesterol esterasa y peroxidasa, y con un cromógeno, el 4 aminofenazona para producir un compuesto coloreado, en donde la intensidad de la coloración es proporcional a la concentración de colesterol presente en la muestra. Se realizó la lectura a una longitud de onda de 505 nm y se expresó en mg/dl.

Las concentraciones de lipoproteínas de baja densidad (LDL) se determinaron con un kit comercial enzimático colorimétrico/líquido, en donde la concentración de LDL se evalúa en dos pasos; en el primero, se eliminan los quilomicrones, las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y las lipoproteínas de alta densidad (HDL) presentes en el suero. El colesterol liberado de estas lipoproteínas, con excepción del presente en las LDL, es oxidado a colesteno y peróxido de hidrógeno y son degradados por la enzima catalasa. En el segundo paso, se valora específicamente a las LDL, las cuales reaccionan con la enzima peroxidasa para formar una quinona que desarrolla una coloración rosa, la cual es proporcional al colesterol asociado a LDL presente en la muestra. Se realizó la lectura a una longitud de onda de 505 nm y la concentración se expresó en mg/dl.

Las concentraciones de HDL fueron evaluadas con el método enzimático colorimétrico/líquido; en donde enzimas modificadas: colesterol esterasa, colesterol oxidasa y peroxidasa reaccionan en presencia de un detergente polianiónico, reduciendo la actividad del colesterol presente en los quilomicrones y en las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Las lipoproteínas de baja densidad (LDL), las VLDL y los quilomicrones son inhibidos debido a la adsorción del detergente a sus superficies, haciéndolas resistentes a las enzimas modificadas. Se forma un compuesto coloreado, en el cual la intensidad del color es proporcional a la concentración del colesterol asociado a las lipoproteínas de alta densidad presente en la muestra. La longitud de onda utilizada para la lectura fue de 600 nm y la concentración de HDL se expresó en mg/dl.

La concentración de triglicéridos se realizó con el método enzimático colorimétrico GPO-PAP, en el cual los triglicéridos son hidrolizados enzimáticamente a glicerol, y mediante las enzimas glicerol kinasa (GK) y la glicerol-P-oxidasa, (GPO) libera el peróxido de hidrogeno que se valora mediante la reacción de Trinder (Trinder, 1984), la cual finaliza con la producción de quinona, que es proporcional a la concentración de triglicéridos en el suero. La longitud de onda utilizada para la lectura fue de 505 nm y la concentración de triglicéridos se expresó en mg/dl.

La determinación de ácidos grasos libres se realizó a los 1, 3, 6, y 9 meses de edad por medio de un ensayo colorimétrico usando el kit comercial de EFA-C (Wako Chemicals Inc, USA).

### **Concentraciones séricas de glucosa**

Las concentraciones séricas de glucosa se midieron cada 15 días durante los nueve meses de edad, utilizando el método enzimático glucosa oxidasa/peroxidasa (GOP-PAD) utilizando un kit comercial de Spinreact.

La enzima glucosa oxidasa (GOP) cataliza la oxidación de la glucosa a ácido glucónico. El peróxido de hidrógeno producido, se detecta mediante un aceptor cromogénico de oxígeno, fenol-ampirona, en presencia de la enzima peroxidasa (POD). La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra. La lectura se realizó con una longitud de onda de 510 nm y la concentración de glucosa se expresó en mg/dl.

### **Comportamiento productivo**

Cada catorce días se evaluaron las variables productivas: consumo de alimento, espesor de grasa dorsal y peso corporal.

El consumo de alimento se midió a través de la diferencia entre la cantidad de alimento ofrecida, y la cantidad de alimento rechazada, y fue evaluado en kilogramos y como la proporción con relación al peso corporal de los animales; esto último debido a la diferencia en talla que tienen los cerdos bajo estudio.

El peso corporal de los animales fue registrado cada catorce días. Los animales fueron pesados por la mañana, empleando una báscula de cajón con un indicador digital braunker modelo yp100 (Braunker, S.A. de C.V., Mexico).

El espesor de la grasa dorsal se midió a la altura de la última costilla del lado izquierdo del animal a 5-7 cm a partir de la columna vertebral. Se utilizó un equipo de ultrasonido de tiempo real Aloka 500V (Corometrics Medical Systems, Inc., CT, USA) con un transductor lineal de 3.5 Mhz, y utilizando gel como interfase entre la piel del animal y el transductor. El espesor de grasa dorsal fue utilizado como indicador de la adiposidad de los cerdos; debido a que este parámetro sigue siendo el estimador *in vivo* más utilizado en la práctica para determinar la composición corporal del cerdo (Lloveras, 1990).

### **3.4 Estudio de Expresión de Genes Asociados a la Obesidad**

#### **Animales**

Para el estudio de expresión genética, se tomaron biopsias de tejido adiposo de tres cerdos Landrace-Yorkshire y cuatro cerdos Pelón Mexicano, ambos de 2 años de edad; quienes pertenecieron a los mismos grupos de animales utilizados en el primer estudio.

**Biopsias de tejido adiposo subcutáneo.** Para realizar la toma de biopsias, los animales fueron anestesiados con Zoletil 50<sup>®</sup> (Tiletamina 125 mg, Zolazepam 125 mg) a una dosis de 6 mg/kg de peso vivo. El área quirúrgica se preparó asépticamente y de la base del cuello se tomó una biopsia de tejido adiposo subcutáneo. El tejido se congeló en nitrógeno líquido y transportó al laboratorio, en donde se mantuvo a -80°C hasta el momento de la extracción de RNA. La incisión fue cerrada con Atramat<sup>®</sup> (Nylon 1-0) con puntos en cruz y la

zona quirúrgica fue cubierta con un cicatrizante en aerosol (Topazone® Furazolidona).

**Extracción de RNA total.** La extracción de RNA se realizó empleando el método descrito por Chomezynki y Sacchi (1987), en el que 1g de tejido fue homogenizado en 4M de tiocianato de guanidina, seguido por 0.1 volumen de 2M de acetato de sodio (pH 5.0). El RNA se extrajo con 10 ml de fenol ácido saturado y cloroformo/alcohol isoamílico (49:1); la fracción acuosa se precipitó con isopropanol. Después de un lavado con etanol al 70%, el RNA fue resuspendido en agua dietilpirocarbonatada (DEPC) y fue cuantificado por espectrofotometría, midiendo la absorbancia a 260 nm. La pureza del RNA se determinó evaluando la relación 260 nm/280 nm.

**Integridad del RNA.** La integridad del RNA se evaluó visualizando las bandas de RNA ribosomal 28S (5kb) y 18S (1.9 kb), en un gel de agarosa al 1.0 % teñido con bromuro de etidio, y empleando un transiluminador de luz UV (Transilluminator UVP, TM-20, UVP Ltd CA, USA).

**Oligo-nucleótidos de iniciación.** Los oligo-nucleótidos de iniciación que codifican para el RNAm del gen que codifica para la leptina, el receptor de la leptina, la adiponectina y el receptor activado por proliferadores de peroxisomas-gama (PPAR- $\gamma$ ) fueron diseñados usando el software Primer3 ([http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3\\_www.cgi](http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi)) (Cuadro 2). Posterior al diseño de los iniciadores, se realizó un alineamiento en BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>) para confirmar que éstos no amplificaran regiones homólogas en otros genes. La cuantificación de la expresión génica se

llevó a cabo por PCR de tiempo real, usando el equipo ABI Prism 7000 (Applied Biosystems, CA, USA). Se utilizó Syber green<sup>®</sup> como fluorocromo de detección y  $\beta$ -actina como control interno. Cada muestra fue analizada por duplicado y se incluyeron dos controles sin templado. Las condiciones de reacción fueron las siguientes: 95°C por 10 min, seguido de 40 ciclos a 95°C por 15 seg y 60°C por 1 min. El número de copias de cada gene se determinó mediante el uso de una curva estándar, construida con el plásmido pCR 4-TOPO (Invitrogen, USA), el cual contuvo el mismo fragmento que se amplificó en cada muestra, y como lo describió García *et al.*, (2003).

### **3.5 Análisis Estadísticos**

Las diferencias entre genotipos, en las concentraciones séricas de hormonas y lípidos, así como las variables productivas fueron analizadas por medio de un Análisis de varianza bajo un modelo de Mediciones Repetidas a través del Tiempo. La unidad experimental para las concentraciones de hormonas, lípidos, metabolitos y del peso corporal, así como para el espesor de grasa dorsal fue el cerdo, mientras que para el consumo de alimento la unidad experimental fue el corral. Se realizaron transformaciones en las variables que no presentaron una distribución normal: las concentraciones de insulina, leptina, triglicéridos y el espesor de grasa dorsal se transformaron logarítmicamente, mientras que las concentraciones de glucosa se transformaron utilizando el inverso de la raíz cuadrada de la variable, y para el caso de los AGL y las HDL la transformación se realizó, elevando al cuadrado cada variable. Los resultados son mostrados como medias de mínimos cuadrados  $\pm$  error estándar.

Se realizó un análisis para estimar correlaciones de leptina e insulina con el espesor de la grasa dorsal a los 1, 3, 6 y 9 meses de edad.

Los datos obtenidos de la expresión genética de los genes que codifican para la leptina, el receptor de la leptina, la adiponectina y el PPAR- $\gamma$  fueron analizados mediante una prueba de rangos Wilcoxon-Mann-Whitney para dos muestras, con la finalidad de detectar diferencias entre los dos tipos de cerdos. Las diferencias estadísticas fueron consideradas como significativas con una  $P < 0.05$ .

**CAPÍTULO 4**  
**RESULTADOS**

---



## 4.1 RESULTADOS

### 4.1.1 Comportamiento Productivo

**Consumo de alimento** El consumo de alimento expresado en kilogramos fue mayor ( $P < 0.05$ ) en los cerdos Landrace-Yorkshire (Figura 1). Sin embargo, cuando fue evaluado en relación al peso corporal, éste no tuvo diferencias entre genotipos ( $P > 0.05$ ) (Figura 2).

**Peso corporal** Desde el inicio del estudio, el peso corporal en los cerdos Landrace-Yorkshire fue mayor en comparación con los cerdos Pelón Mexicano (Figura 3), esta diferencia se mantuvo constante a través del desarrollo del estudio ( $P < 0.05$ ).

**Espesor de grasa dorsal** Al inicio del estudio en ambos genotipos el espesor de la grasa dorsal fue similar. Sin embargo, al llegar a las 12 semanas de edad, los cerdos Pelón Mexicano empezaron a tener una mayor deposición de tejido adiposo dorsal, mismo que fue más aparente conforme avanzó el estudio ( $P < 0.01$ ), y al finalizar éste, el espesor de la grasa dorsal en los cerdos Pelón Mexicano fue casi el doble del observado en los cerdos Landrace-Yorkshire (Figura 4).

### 4.1.2 Perfil Hormonal

**Insulina.** Se observó que los cerdos Pelón Mexicano tuvieron una mayor concentración de insulina a través de todo el estudio ( $P < 0.01$ ). En el primer mes de edad, las concentraciones de insulina fueron semejantes en ambos genotipos.

Sin embargo, durante el desarrollo de los cerdos y hasta los 5 meses de edad los cerdos Pelón Mexicano desarrollaron hiperinsulinemia. Sin embargo, este incremento no se mantuvo constante a través del estudio y las concentraciones de insulina empezaron a disminuir después de los 5 meses de edad hasta llegar a niveles fisiológicos. Asimismo, sólo en los cerdos Pelón Mexicano se observó que las concentraciones de insulina tuvieron una correlación positiva con el espesor de grasa dorsal ( $r=0.43$ ,  $n=48$ ,  $P<0.05$ ) (Figura 5).

**Leptina.** Con relación a los cerdos Landrace-Yorkshire, las concentraciones de leptina fueron significativamente mayores en los cerdos Pelón Mexicano ( $P<0.05$ ), siendo más aparente esta diferencia, a partir de los tres meses de edad. A diferencia de la insulina, el incremento en las concentraciones de leptina fue constante durante todo el estudio, con excepción del último mes de edad (Figura 6).

Se observó una correlación positiva de la leptina con el espesor de grasa dorsal, tanto en los cerdos Pelón Mexicano ( $r=0.73$ ,  $n=38$ ,  $P<0.01$ ) como en los cerdos Landrace-Yorkshire ( $r=0.75$ ,  $n=49$ ,  $P<0.01$ ).

**Hormona del crecimiento.** Las concentraciones de hormona del crecimiento se mantuvieron constantes durante el desarrollo del estudio (3 ng/mL) y sin mostrar diferencias entre genotipos ( $P>0.05$ ).

#### 4.1.3 Metabolitos y Perfil de Lípidos

**Concentraciones séricas de glucosa.** Las concentraciones séricas de glucosa en ayunas no difirieron entre los cerdos Pelón Mexicano y los cerdos Landrace-Yorkshire ( $P>0.05$ ). En ambos genotipos, las concentraciones más altas se observaron a una edad temprana para posteriormente disminuir, manteniéndose en rangos fisiológicos (Figura 7).

**Colesterol.** El perfil de lípidos mostró que los cerdos Pelón Mexicano tuvieron una mayor concentración de colesterol total en comparación con los cerdos Landrace-Yorkshire ( $P<0.05$ ), siendo este incremento más aparente a partir de los 6 meses de edad (Figura 8).

**Lipoproteínas de alta y baja densidad.** Los cerdos Pelón Mexicano tuvieron una mayor concentración de lipoproteínas de baja densidad ( $P<0.05$ ) durante todo el estudio (Figura 9). Sin embargo, no existieron diferencias significativas ( $P>0.05$ ) en las concentraciones de lipoproteínas de alta densidad (Figura 10).

**Triglicéridos.** Las concentraciones de triglicéridos desde el inicio del estudio fueron significativamente mayores en los cerdos Pelón Mexicano ( $P<0.05$ ), llegando a ser esta diferencia más aparente después de los 6 meses de edad (Figura 11).

**Ácidos grasos libres.** Desde el inicio del estudio se observó que los cerdos Pelón Mexicano tuvieron una mayor concentración de AGL ( $P<0.05$ ) con

excepción del sexto mes de edad en donde se pudo observar una ligera disminución (Figura 12).

#### **4.1.4. Expresión Genética**

Los resultados de expresión genética mostraron que los cerdos Pelón Mexicano tienen un mayor número de copias del RNAm de la leptina ( $T=17$ ;  $n_1=3$ ;  $n_2=4$ ;  $P<0.05$ ) (Figura 13), el receptor de la leptina ( $T=18$ ;  $n_1=3$ ;  $n_2=4$ ;  $P<0.05$ ) (Figura 14), y la adiponectina ( $T=18$ ;  $n_1=3$ ;  $n_2=4$ ;  $P<0.05$ ) (Figura 15); sin embargo, no existieron diferencias entre genotipos en el número de copias del RNAm del PPAR- $\gamma$  ( $T=15$ ;  $n_1=3$ ;  $n_2=4$ ;  $P>0.05$ ) (Figura 16).

## **5.2 CONCLUSIÓN**

El genotipo ahorrativo de los cerdos Pelón Mexicano favorece el desarrollo de componentes del síndrome metabólico: incremento en las concentraciones de colesterol, triglicéridos, HDL, así como la presencia de hiperinsulinemia, lo cual es sugestivo de resistencia a la insulina. Estas observaciones indican que este tipo de cerdo en comparación con el cerdo Landrace-Yorkshire, puede ser un modelo adecuado de estudio para la obesidad humana, así como sus complicaciones metabólicas.

## 6.1 REFERENCIAS

Ahima RS, Flier JS. Leptin. *Annu Rev Physio* 2000; 62: 413-34.

Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome a new worldwide definition. *Lancet* 2005;366 (9491):1059-62.c

Arner P. Obesity a genetic disease of adipose tissue? *Br J Nut* 2000;83:9S-16S.

Arner P. The adipocyte in insulin resistance: key molecules and the impact of the thiazolidinediones. *Trends Endocrinol Metab* 2003;14 (3):137-45.

Bai Y, Zahng S, Kim KS, LeeJK, Kim KH. Obese gene expression alters the ability of 30A5 preadipocytes to respond to lipogenic Hormones. *J Biol Chem* 1996;271:13939-942.

Berg A H, Combs TP, Du X, Brownlee M, Scherer PE. The adipocytes-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med* 2001;(7)8: 947-53.

Bhathena SJ, Berlin E, Johnson WA. The minipig as a model for the study of aging in humans: selective responses of hormones involved in carbohydrate and lipid metabolism in different sexes. In: *Advances in Swine in Biomedical Research*, edited by Tumbleson ME and Schook LB. New York: Plenum. 1996;(2):571–580.

Bidwell CA, Ji S, Frank GR, Cornelius SG, Willis G M, Spurlock M. Cloning and expression of the porcine obese gene. *Anim Biotech*1997;8(2):191-206.

Bikker P, Verstegen MWA, Kemp B, Bosch MW. Performance and body composition of finishing gilts (45 to 85 Kilograms) as affected by energy intake and nutrition in earlier life: I. growth of the body and body Components. *J Anim Sci* 1996;74:806–16.

De Lange CFM, Morel PCH, Birkett SH. Modeling chemical and physical body composition of the growing pig. *J Anim Sci* 2003;81(Suppl. 2):E159–65.

Bollen P, Ellegaard L. Developments in breeding Go'ttingen minipigs. In: Tumbleson ME, Schook LB, eds. *Advances in Swine in Biomedical Research*. New York: Plenum Press. 1996;pp 59-66.

Bloor CM, White FC, Roth DM. The pig as a model of myocardial ischemia and gradual coronary artery occlusion. In: *Swine as Models in Biomedical Research*, M. M. Swindle, ed. Ames, Iowa: Iowa State University Press. 1992;pp163-75.

Brameld JM, Fahey AJ, Langley-Evans SC, Buttery PJ. Nutritional and hormonal control of muscle growth and fat deposition. *Arch Tierz Dummerstorf* 2003;46:143-56.

Bray GA, Laurence, Moon, Bardet, Biedl. Reflections on a syndrome. *Obesity Research* 1995;3:383-86.

Bray GA. Medical Consequences of Obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:2583-89.

Brockmann GA, Bevova MR. Using mouse models to dissect the genetics of obesity. *Trends Genet* 2002;18(7):367-76.

Bultman SJ, Michaud EJ, Woychik RP. Molecular characterization of the mouse agouti locus. *Cell* 1992;71:1195-1204.

Buonomo FC, Klindt J. Ontogeny of growth hormone (GH), insulin-like growth factors (IGF-I and IGFII) and IGF binding protein-2 (IGFBP-2) in genetically lean and obese swine. *Domest Anim Endocrinol* 1993;10:257-65.

Bustad LK, Mc Clellan RO. Miniature swine: development, management and utilization. *Lab Anim Care* 1968;(18)2:280-87.

Campfield LA, Smith FJ, Guisez Y, Devos R, Burn P. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science* 1995;269:546-49.

Campfield LA. Central mechanisms responsible for the actions of OB protein (leptin) on food intake, metabolism and body energy storage. *Front Horm Res* 2000;26:12–20.

Cárdenas PC. Introducción al estudio zoométrico del cerdo Pelón Veracruzano. Tesis de licenciatura de la FNVZ-UNAM 1966. México, DF.



Caro JF, Kolacynski JW, Nyce MR, Ohannesian JP. Decreased cerebrospinal-fluid serum leptin ration in obesity: A possible mechanism for leptin resistance. *Lancet* 1996;348:159-61.

Carroll KK. Obesity as a risk factor for certain types of cancer. *Lipids* 1998;33:1055–59.

Caterson ID, Hubbard V, Bray GA, Grunstein R, Hansen BC, Hong Y, Labarthe D, Seidell JC, Smith SC Jr. Prevention Conference VII: Obesity, a worldwide epidemic related to heart disease and stroke: Group III: worldwide comorbidities of obesity. *Circulation* 2004;110(18):e476-83.

Chen XD, Lei T, Xia T, Gan L, Yang ZQ. Increased expression of resistin and tumour necrosis factor-alpha in pig adipose tissue as well as effect of feeding treatment on resistin and cAMP pathway. *Diabetes Obes Metab* 2004;6:271–79.

Chomezynki P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidine thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 1987;162:156-59.

Chung W, Goldberg-BermanJ, Power-Kehoe L, Leibe RL. Molecular mapping of the tubby (tub) mutation on mouse chromosome 7. *Genomics* 1996;32:210-17.

Cohen P, Zhao C, Cai X, Montez JM, Rohani SC, Feinstein P, Mombaerts P, Friedman JM. Selective deletion of leptin receptor in neurons leads to obesity. *J Clin Invest* 2001;108:1113–121.

Coleman DL. Effects of parabiosis of obese with diabetes and normal mice.

Diabetologia 1973;9:294–98.

Coleman DL. Obese and diabetes: two mutant genes causing diabetes-obesity syndromes in mice. *Diabetologia* 1978;14:141–48.

Coleman DL, Eicher EM. Fat (fat) and tubby (tub): two autosomal recessive mutations causing obesity syndromes in the mouse. *J Hered* 1990;81:424-27.

Comuzzie AG, Hixson JE, Almasy L, Mitchell BD, Mahaney MC, Dyer TD, Stern MP, MacCluer JW, Blangero J. A major quantitative trait locus determining serum leptin levels after fat mass is located on human chromosome 2. *Nat Genet* 1997;15(3):273-76.

Combs TP, Berg AH, Obici S, Scherer PE, Rossetti L. Endogenous glucose production is inhibited by the adipose-derived protein Acrp30. *J Clin Invest* 2001;108:1875–81.

Considine RV, Shina MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, . Ohannesian JP Marco CC, McKee LJ, Baue TL. Caro JF. Serum immunoreactive leptin concentrations in normal weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996;334:292-95.

Cool DR, Normant E, Shen F, Chen H, Pannell L, Zhang Y, Loh YP. Carboxypeptidase E is a regulated secretory pathway sorting receptor: genetic obliteration leads to endocrine disorders in *Cpe/fat* mice. *Cell* 1997;88:73–83.

Cumin F, Braum HP, Levens N. Leptin is cleared from the circulation primarily by the kidney. *Int J Obesity* 1996;20:1120-26.

Cushman SW, Wardzala LJ. Potential mechanism of insulin action on glucose transport in the isolated rat adipose cell. Apparent translocation of intracellular transport systems to the plasma membrane. *J Biol Chem* 1980;255:4758–62.

DeFronzo RA. Dysfunctional fat cells, lipotoxicity and type 2 diabetes. *Int J Clin Pract.*;2004:143 ( Suppl):9-21.

Ding ST, Liu BH, Ko YH. Cloning and expression of porcine adiponectin and adiponectina receptor 1 and 2 genes in pigs1. *J Anim Sci* 2004;82:3162–74.

Duhl DM, Stevens ME, Vrieling H, Saxon PJ, Miller MW, Epstein CJ, Barsh GS. Pleiotropic effects of the mouse lethal yellow (Ay) mutation explained by deletion of a maternally expressed gene and the simultaneous production of agouti fusion RNAs. *Development* 1994;120:1695-708.

Elmquist JK, Elias CF, Saper CB. From lesions to leptin: hypothalamic control of food intake and body weight. *Neuron* 1999;22:221-32.

Elsaesser F, Pfaffl MW, Meyer HHD, Serpekand B, Sauerwein H. Differences in the somatotrophic axis, in blood cortisol, insulin and thyroid hormone concentrations between two pig genotypes with markedly divergent growth rates and the effects of growth hormone treatment. *Anim Sci* 2002;74:423-30.

FAO. Agricultura y la Alimentación. Conservación de los recursos genéticos en la ordenación de los bosques tropicales. Serie Montes. Monografía No. 107. Roma: FAO 1995; p.37.

Farriol, R. Nogues y G. Benarroch. Etiopatogenia de la obesidad: actualidad y futuro. *Nutr Hosp XVI* 2001;(4):113-14.

Fasshauer M, Klein J, Neumann JS, Eszlinger M, Paschke R. Hormonal regulation of adiponectin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;290:1084–89.

Finn PD, Cunningham MJ, Pau KY. The stimulatory effect of leptin on the neuroendocrine reproductive axis in the monkey. *Endocrinology* 1998;139:4652-62.

Flakoll P, Carlson M, Cherrington A. Physiologic actions of insulin. In *Diabetes Mellitus: A Fundamental and Clinical Text* (LeRoith, D., Taylor, S. & Olefsky, J., eds.). Lippincott-Raven, Philadelphia, PA. 1996.

Flores MJ. Síntesis histórica y breve análisis de la especie porcina en la Republica Mexicana. "El libro azul" para el Médico Veterinario. Química Hoechst de México, 1970.

Flores, 1978. Distribución probable de los cerdos mexicanos de acuerdo a sus diferentes razas tipos y variedades. *Porcira* 1978;6(63):8-10.

Fontana E, Boucher J, Marti L, Lizcano JM, Testar X, Zorzano A, Carpe C. Amine oxidase substrates mimic several of the insulin effects on adipocyte differentiation in 3T3 F442A cells. *Biochem J* 2001;356:769-77.

Ford ES, Giles WH, Mokdad AH. Increasing prevalence of the metabolic syndrome among U.S. adults. *Diabetes Care* 2004;27:2444-449.

Friedman JM. The alphabet of weight control. *Nature* 1997;385:119-20.

Friedman JM, Halas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 1998;395:763-70.

Friedman JM. Obesity in the new millennium. *Nature* 2000;404:632-34.

Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, Ebbets-Reed D, Erickson MR, Yen FT, Bihain BE, Lodish HF. Proteolytic cleavage product of 30-kD an adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:2005-10.

Frühbeck G, Gómez-Ambrosi J, Murazábal FJ, Burrelil MA. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001;280:E827-47.

Gagnon J, Mauriege P, Roy S, Sjostrom D, Chagnon YC, Dionne FT, Oppert JM, Perusse L, Sjostrom, Bouchard C. The Trp64Arg mutation of the beta 3 adrenergic

receptor gene has no effect on obesity phenotypes in the Québec Family Study and Swedish Obese Subjects cohorts. *J Clin Invest* 1996;(98)9:2086-93.

Garcia JR, Krause A, Schulz S, Rodríguez-Jimenez FJ, Kluver E, Adermann K, Forssmann UL, Frimpong-Boateng D, Bals R, Forssmann W. Human beta-defensin 4: a novel inducible peptide with a specific salt-sensitive spectrum of antimicrobial activity. *Faseb J* 2001;15:1819-21.

Ghilardi N, Ziegler S, Wiestner A, Stoffel R, Heim MH, Skoda RC (1996) Defective STAT signaling by the leptin receptor in diabetic mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93:6231-5

Ginsberg H.N. Treatment for patients with metabolic syndrome. *Am J Cardiol* 2003;91suppl:29E-39.

Gotto AM Jr, Pownall HJ, Havel RJ. Introduction to the plasma lipoproteins. *Methods Enzymol* 1986;128:3-41.

Grol ME, Eimers JM, Alberts JF, Bouter LM, Gerstenbluth I, Halabi Y, van Sonderen E, van den Heuvel WJ. Alarming high prevalence of obesity in Curacao: data from an interview survey stratified for socioeconomic status. *Int J Obes & Relat Metab Disor* 1997;21:1002-9.

Grundy SM. Obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(6):2595-600.

Gu Y, Schinkel AP, Martin TG. Growth, development, and carcass composition in five genotypes of swine. *J Anim Sci* 1992;70:1719-29.

Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, Cohen SL, Chait BT, Rabinowitz D, Lallone RL, Burley SK, Friedman JM: Weight reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* 1995;269:543-46.

Havel RJ, Kane JP. Introduction: Structure and metabolism of plasma lipoproteins. In: *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. McGraw-Hill, New York. 2001;pp 2705-716.

Havel PJ. Control of energy homeostasis and insulin action by adipocyte hormones: Leptin, acylation stimulating protein, and adiponectin. *Curr Opin Lipidol* 2002;13:51-9.

Hill JO. Physical activity, body weight and body fat distribution. In: Leon A, ed. *Physical Activity and Cardiovascular Health: A National Consensus*. Champaign, Ill: Human Kinectis;1997:272.

Hirsch J, Hudgins LC, Leiber RL, Rosenbaum M. Diet composition and energy balance in humans. *Anim J Clin Nutr* 1998;67:551-55.

Hotamisligil GS. The role of TNF- $\alpha$  and TNF receptors in obesity and insulin resistance. *J Intern Med* 1999;245:621-25.

Hotamisligil GS. Molecular mechanisms of insulin resistance and the role of the adipocyte. *Int J Obes Relat Matab Disord* 2000;4:S23-7.

Ingalls AM, Dickie MM, Snell GD. Obese, a new mutation in the house mouse. *J Hered* 1950;41:317–18.

Jensen MD, Haymond MW, Rizza RA, Cryer PE, Miles JM. Influence of body fat distribution on free fatty acid metabolism in obesity. *J Clin Invest* 1989;83:1168-73.

Kahn R, Buse J, Ferrannini E, Stern M. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal Joint Statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetologia* 2005;48(9):1684-899.

Kapeller R, Moriarty A, Strauss A, Stubdal H, Theriault K, Siebert E, Chickering T, Morgenstern JP, Tartaglia LA, Lillie J. Tyrosine phosphorylation of tub and its association with Src homology 2 domain-containing proteins implicate tub in intracellular signaling by insulin. *J Biol Chem* 1999;274:24980-986.

Keightley PD, Hardge T, May L, Bulfield G. A genetic map of quantitative trait loci for body weight in the mouse. *Genetics* 1996;142: 227–35.

Kopelman PG. Obesity as a medical problem. *Nature* 2000;404:635–643.

Kues WA, Niemann H. The contribution of farm animals to human health. *Trends Biotechnol* 2004; (22)6: 286-94.

Kwitek-Black AE, Carmi R, Duyk GM, Buetow KH, Elbedour K, Parvari R, Yandava CN, Stone EM, Sheffield VC. Linkage of Bardet-Biedl syndrome to chromosome



16q and evidence for non-allelic genetic heterogeneity. *Nature Genetics* 1993;5:392-96.

Kwon HY, Bultman SJ, Loffler C, Chen WJ, Furdon PJ, Powell JG, Usala AL, Wilkison W, Hansmann I, Woychik RP. Molecular structure and chromosomal mapping of the human homolog of the agouti gene. *Proc Nat Acad Sci USA*. 1994;91:9760-64.

Laber-Laird, K., A. C. Smith, M. M. Swindle, and J. Colwell. Effects of isoflurane anesthesia on glucose clearance in Yucatan minipigs. *Lab Anim Sci* 1992;42(6):579-81.

Le Roith D, Zick Y. Recent advances in our understanding of insulin action and insulin resistance. *Diabetes Care* 2001;243:588-97.

Leibel RL, Chung WK, Chua SC Jr. The molecular genetics of rodent single gene obesities. *J Biol Chem* 1997;272:31937–940.

Lemus-Flores C, Ulloa-Arvizu R, Ramos-Kuri M, Estrada FJ, Alonso RA. Genetic analysis of Mexican hairless pig populations. *J Anim Sci* 2001;79:3021–26.

Lindsay RS, Bennett PH. Type 2 diabetes, the thrifty phenotype an overview. (A critical review of diabetes among Pima). *Br Med Bull* 2001;60:21–31.

LLoveras M, Carden A, Borrás F. Comparación de predictores de la composición corporal en cerdos vivos. Informe Técnico N° 234. INTA. Estación Experimental Agropecuaria Pergamino. Pergamino, Argentina. 1990.

Longhurst JC, Symons JD. Function and development of coronary collateral vessels. In *Collateral Circulation*. W. Schaper and J. Schaper, editors. Kluwer Academic Publishers, Boston. 1993;p195-214.

Lonergan RP 3<sup>rd</sup>, Ware JC, Atkinson RL, Winter WC, Stuart PM. Sleep apnea in obese miniature pigs. *J Appl Physiol* 1998;84(2):531-36.

López MJ, Salinas Ramos G, Martínez Gamba R. El cerdo Pelón Mexicano Antecedentes y Perspectivas. JGH Editores, 1<sup>ra</sup> Ed. 1999;p.17.

Lord E, Ledoux S, Murphy BD, Beaudry D, Palin M.F. Expression of adiponectin and its receptors in swine. *J Anim Sci* 2005;83:565–78.

Lu D, Willard D, Patel IR, Kadwell S, Overton L, Kost T, Luther M, Chen W, Woychik RP, Wilkison WO, Cone RD. Agouti protein is an antagonist of the melanocyte-stimulating-hormone receptor. *Nature* 1994;371:799–802.

Lucarini N, Antonacci E, Bottini N, Bottini GF. Low molecular weight acid phosphatase (ACP1), obesity, and blood lipid levels in subjects with non insulin dependent diabetes mellitus. *Hum Biol* 1997;69(4)509-15.

Macho T, Martí A, Martínez JA. Estudios genéticos de la obesidad en humanos. *Med Clin (Barc)* 2000;115:103-09.

Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K. cDNA cloning and expression of a novel adipose-specific collagen-like factor, apM1

(AdiPose Most abundantGene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun* 1996;221:286-89.

Mallamaci F, Zoccali C, Cuzzola F, Tripepi G, Cutrupi S, Parlongo S, Tanaka S, Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Adiponectin in essential hypertension. *J Nephrol* 2002;15:507-11.

Michaud EJ, Bultman SJ, Klebig ML, Van Vugt MJ, Stubbs LJ, Russell LB, Woychik RP. A molecular model for the genetic and phenotypic characteristics of the mouse lethal yellow (Ay) mutation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1994;91:2562-566.

Mcintosh GH, Pointon H. The Kangaroo Island strain of pig in biomedical research *Aust Vet J* 1981;57:182-90.

McNeel RL, Ding ST, Smith EO, Mersmann HJ. Effect of feed restriction on adipose tissue transcript concentrations in genetically lean and obese pigs. *J Anim Sci* 2000;78:934-42.

Miettinen TA, Gylling H. Cholesterol absorption efficiency and sterol metabolism in obesity. *Atherosclerosis* 2000;153:241-48.

Milan D, Jeon JT, Looft C, Amarger V, Robic A, Thelander M, Rogel-Gaillard C, Paul S, Lannuccelli N, Rask L, Ronne H, Lundström K, Reinsch N, Gellin J, Kalm E, Le Roy P, Chardon P, Andersson L. A mutation in PRKAG3 associated with excess glycogen content in pig skeletal muscle. *Science* 2000 (5469)288:1248-451.

Miller MW, Duh DM, Vrieling H, Cordes SP, Ollmann MM, Winkes BM, Barsh GS. Cloning of the mouse agouti gene predicts a secreted protein ubiquitously expressed in mice carrying the lethal yellow mutation. *Genes & Development* 1993;7:454-67.

Misra A, Vikram NK. Clinical and pathophysiological consequences of abdominal adiposity and abdominal adipose tissue depots. *Nutrition* 2003(19)5:457-66.

Mitchell M, Armstrong DT, Robker RL, Norman RJ. Adipokines: implications for female fertility and obesity. *Reproduction* 2005;130:583–97.

Moreno y Jiménez. El tejido adiposo: órgano de almacenamiento y órgano secretor. *ANALES Sis San Navarra* 2002;25Supl(1):29-39.

Mountjoy KG, Mortrud MT, Low MJ, Simerly RB, Cone RD: Localization of the melanocortin-4 receptor (MC4-R) in neuroendocrine and autonomic control circuits in the brain. *Mol Endocrinol* 1994;8:1298–1308.

Moyes CD. Using humans to study the physiological evolution of energy metabolism: a tribute to Peter Hochachka. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 139 (2004) 487–494. cc

Mueller E, Drori S, Aiyer A, Yie J, Sarraf P, Chen H, Hauser S, Rosen ED, Ge K, Roeder RG, Spiegelman BM. Genetic Analysis of Adipogenesis through Peroxisome Proliferator-activated Receptor  $\gamma$  Isoforms. *J Biol Chem* 2002;(277)44:41925–930.

Nadler ST, Attie AD. Please Pass the Chips: Genomic Insights into Obesity and Diabetes1. *J Nutr* 2001;131:2078–081.

Naoto Kubota, Yasuo Terauchi, Hiroshi Miki, Hiroyuki Tamemoto, Toshimasa Yamauchi, Kajuro Komeda, Shinobu Satoh; Ryosuke Nakano, Chikara Ishii, Takuya Sugiyama, Kazuhiro Eto, Yoshiharu Tsubamoto, Akira Okuno, Koji Murakami, Hisahiko Sekihara, Go Hasegawa, Makoto Naito, Yasushi Toyoshima, Satoshi Tanaka, Kunio Shiota, Toshio Kitamura, Toshiro Fujita, Osamu Ezaki, Shinichi Aizawa, Ryoza Nagai, Kazuyuki Tobe, Satoshi Kimura, Takashi Kadowaki. PPAR-g Mediates High-Fat Diet-Induced Adipocyte Hypertrophy and Insulin Resistance. *Molecular Cell* 1999;(4):597–609.

Naggert JK, Fricker LD, Varlamov O, Nishina PM, Rouille Y, Steiner DF, Carrol RJ, Paigen BJ, Leiter EH. Hyperproinsulinaemia in obese fat/fat mice associated with a carboxypeptidase E mutation which reduces enzyme activity. *Nat Genet* 1995;10:135–42.

Naggert J, Harris T, North M. The genetics of obesity *Current Opinion in Genetics & Development* 1997;7:398–404. VER ABREVIACION DEL JOURNAL

National Research Council. *Nutrient Requirements of Swine*. 10 ed. Washington, D.C. National Academy Press; 1998.

Neel JV. The “thrifty genotype” in 1998. *Nutr Rev* 1999;57:S2–S9.

Neel JV. Diabetes mellitus: a thrifty genotype rendered detrimental by 'progress'? *Am J Hum Genet* 1962;14:353-62.

Neuenschwander S, Rettenberger G, Meijerink E, Jörg H, Stranzinger G. Partial characterization of porcine obesity gene (OBS) and its localization to chromosome 18 by somatic cell hybrids. *Animal Genetics* 1996;27:275-78.

Nishina PM, North MA, Ikeda A, Yan Y, Naggert JK. Molecular characterization of a novel tubby gene family member, TULP3, in mouse and humans. *Genomics* 1998;54:215–20.

Noben-Trauth K, Naggert JK, North MA, Nishina PM. A candidate gene for the mouse mutation tubby. *Nature* 1996;380:534–38.

North MA, Naggert JK, Yan Y, Noben-Trauth K, Nishina PM. Molecular characterization of TUB, TULP1, and TULP2, members of the novel tubby gene family and their possible relation to ocular diseases. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:3128–133.

Ohlemiller KK, Hughes RM, Mosinger-Ogilvie J, Speck JD, Grosfeld DH, Silverman MS. Cochlear and retinal degeneration in the tubby mouse. *Neuro report* 1995;6:845–49.

Panepinto LM, Phillips RW. The Yucatan miniature pig: characterization and utilization in biomedical research. *Lab Anim Sci* 1986;36:344–47.

Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, Collins F. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* 1995;269:540-43.

Pfeiffer EF. Obesity, islet function and diabetes mellitus. *Horm Metab Res* 1974;Suppl 4:143.

Pi-Sunyer FX. Medical hazards of obesity. *Ann Intern Med* 1993;119:655-60.

Pi-Sunyer FX. Energy balance: role of genetics and activity. *Ann NY Acad Sci* 1997;819:29-36.

Polonsky KS. The  $\beta$ -cell in diabetes: From molecular genetics to clinical research. *Diabetes* 1995;44:705-17.

Puigserver, P., Spiegelman, B.M., 2003. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1alpha (PGC-1alpha): transcriptional coactivator and metabolic regulator. *Endocr Rev* 2003;24:78– 90.

Ramsay TG, Yan X, Morrison C. The Obesity Gene in Swine: Sequence and Expression of Porcine Leptin. *J Anim Sci* 1998;76:484–90.

Rand MS. Farm animals as models for biomedical research. VSC 443/543. 2002. Lecture Notes.

Ravussin. Adonectin enhances insulin action by decreasing ectopic fat deposition. *Pharmacogenomics J* 2002;2:4-7.

Reaven GM, Hollenbeck C, Jeng CY, Wu MS, Chen YDI. Measurement of plasma glucose, free fatty acid, lactate and insulin for 24 h in patients with NIDDM. *Diabetes* 1988;37:1020-024.

Robert C, Palin M-F, Coulombe N, Roberge C, Silversides FG, Benkel BF, McKay, RM, Pelletier G. Backfat thickness in pigs is positively associated with leptin mRNA levels. *Canadian Journal of Animal Science* 1998;78:473-482.

Robinson S.W, Dinulescu, D.M, Cone R.D. Genetic models of obesity and energy balance in the mouse. *Annu Rev Genet* 2000;34:687–745.

Robles RT. Contribución al estudio de los cerdos lampiños o pelones mexicanos (costa de Jalisco). Tesis de licenciatura. Fac. de Med. Vet. y Zoot. Universidad Nacional Autónoma de México 1967.

Rolls BJ, Hammer VA. Fat, carbohydrate, and the regulation of energy intake. *Am J Clin Nutr.* 1995;62:1086S-1095S.

Sakane N, Yoshida T, Umekawa T, Kondon M, Sakai Y, Takahashi T. Beta 3-adrenergic receptor polymorphism: a genetic marker for visceral fat obesity and the insulin resistance syndrome. *Diabetologia* 1997;40(2):200-04.

Shields R G, Mahan DC Jr, Graham PL. Changes in swine body composition from birth to 145 kg. *J Anim Sci* 1983;57(1):43-54.

Shina MK, Ohannesian JP, Heiman MI, Kriauciunas A, Stephens TW, Caro JF. Nocturnal rise of leptin in lean, obese and non-insulin-dependent diabetes mellitus subjects. *J Clin Invest* 1996;97:1344-347.



Shmulewitz D, Auerbach SB, Lehner T, Blundell ML, Winick JD, Youngman LD, Skilling V, Heath SC, Ott J, Stoffel M, Breslow JL, Friedman JM. Epidemiology and factor analysis of obesity, type II diabetes, hypertension, and dyslipidemia (syndrome X) on the Island of Kosrae, Federated States of Micronesia. *Hum Hered* 2001;51(1-2):8–19.

Siegrist-Kaiser CA, Pauli V, Juge-Aubry CE, Boss O, Pernin A, Chin WW, Cusin I, Rohner-Jeanrenaud F, Burger AG, Zapf J, Meier CA. Direct effects of leptin on brown and white adipose tissue. *J Clin Invest* 1997;100(11):2858-864.

Simon E, Del Barrio AS. Leptina y obesidad. *ANALES sis Navarra* 2002;25(supl.1):53-64.

Spiegelman, B.M., Flier, J.S., 2001. Obesity and the regulation of energy balance. *Cell* 104, 531– 543.

Sipiläinen R, Uusitupa M, Heikkinen S, Rissanen A, Laakso M. Polymorphism of the beta 3-adrenergic receptor gene affects basal metabolic rate in obese Finns. *Diabetes* 1997;46(1): 77-80.

Sonnenberg GE, Krakower GR, Martin LJ, Olivier M, Kwitek AE, Comuzzie AG, Blangero J, Kissebah AH. Genetic determinants of obesity-related lipid traits. *J Lipid Res* 2004;45:610-15.

Snyder ER, Walts B, Perusse L, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Rankinen T, Claude Bouchard C. The human obesity gene map: the 2003 update. *Obes Res* 2004;12:369-439.

Spiegelman BM, Flier JF. Obesity and the regulation review of energy balance. *Cell* 2001;104, 531–43.

Spurlock ME, Frank GR, Cornelius SG, Ji S, Willis GM, Bidwell CA. Obese gene expression in porcine adipose tissue is reduced by food deprivation but not by maintenance or submaintenance intake. *J Nutr* 1998;128(4):677-82.

Strosberg AD. Structure and function of the beta 3-adrenergic receptor. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1997;37:421-50.

Stubdal H, Lynch CA, Moriarty A, Fang Q, Chickering T, Deeds JD, Fairchild-Huntress V, Charlat O, Dunmore JH, Kleyn P, Huszar D, Kapeller R. Targeted deletion of the tub mouse obesity gene reveals that tubby is a loss-of-function mutation. *Mol Cell Biol* 2000;20:878-82.

Swindle MM, Smith AC, Hepburn BJ. Swine as models in experimental surgery. *J Invest Surg* 1988;1:65–79.

Swindle MM, Smith AC, Laber-Laird K, Dungan L. Swine in biomedical research: management and models. *ILAR News* 1994;36(1):1-5.

Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, Richards GJ, Campfield LA, Clark FT, Deeds J, Muir G, Sanker S, Moriarty A, Moore KJ, Smutko JS, Mays GG, Woolf EA, Monroe CA, Tepper RI. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* 1995;83:1263-671.

Tartaglia LA. The leptin receptor. *J Biol Chem* 1997;272(10):6093-096.

Theuring F, Thuncke M, Kosciessa U, Turner JD. Transgenic animals as models of neurodegenerative disease in humans. *Trends Biotechnol* 1997;15(8):320–25.

Tontonoz P, Hu E, Graves RA, Budavari AI, Spiegelman BM. mPPAR $\gamma$ 2: tissue-specific regulator of an adipocyte enhancer. *Genes Dev* 1994;8:1224 –234.

Trinder P. Enzymatic Methods. *Ann Clin Biochem* 1984;6: 24-7.

Wangsness PJ, Martin RJ, Gahagan JH. Insulin and growth hormone in lean and obese pigs. *Am J Physiol* 1977;233(2):E104-E08.

West DB, Boozer CN, Moody DL, Atkinson RL. Dietary obesity in nine inbred mouse strains. *Am J Physiol* 1992;262:R1025–032.

West D.B, Goudey-Lefevre J, York B, Truett GE. Dietary obesity linked to genetic loci on chromosomes 9 and 15 in a polygenic mouse model. *J Clin Invest* 1994;(4):1410–416.

Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, Tataranni PA. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1930–935.

William WN, Ceddia RB, Curi R. Leptin controls the fatty acids in isolated rat white adipocytes. *J Endocrinology* 2002;175:735-44.

WHO. *Physical Status: The Use and Interpretation of Anthropometry*: WHO Technical Reports Series no. 854. World Health Organization Expert Committee, Geneva. 1995.

WHO. *Consultation on Obesity*, Geneva 3-5, June. World Health Organization Technical Report Series.Vol.210. World Health Organization, Geneva 1997.

World Health Organization. *Obesity: preventing and managing the global epidemic*. World Health Organization, Geneva 1998.

World Health Organization. *Obesity: preventing and managing the global epidemic*. Report of a WHO consultation. Geneva, 3-5 June. Geneva: WHO; 2000.

Wolk A, Gridley G, Svensson M, Nyren O, McLaughlin JK, Fraumeni JF, Adam HO. A prospective study of obesity and cancer risk (Sweden). *Cancer Causes Control* 2001;12(1):13–21

Wolf GL. Obesity as a pleiotropic effect of gene action. *J Nutr* 1997;127:1897S-1910 S.

Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Kaki H, Uchida S, Yamashita S, Noda M, Kita S, Ueki K, Eto K, Akanuma Y, Froguel P, Foufelle F, Ferre P, Carling D, Kimura S, Nagai R, Kahn BB, Kadowaki T. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med* 2002;8(11):1288–295.

Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, Sugiyama T, Miyagishi M, Hara K, Tsunoda M, Murakami K, Ohteki T, Uchida S, Takekawa S, Waki H, Tsuno NH, Shibata Y, Terauchi Y, Froguel P, Tobe K, Koyasu S, Taira K, Kitamura T, Shimizu T, Nagai R & Kadowaki T. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature* 2003;423 (6941):762–69.

Yang WS, Lee WJ, Funahashi T, Tanaka S, Matsuzawa Y, Chao CL, Chen CL, Tai TY, Chuang LM. Weight reduction increases plasma levels of an adipose-derived anti-inflammatory protein, adiponectin. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:385-859.

Yang YK, Ollmann MM, Wilson BD, Dickinson C, Yamada T, Barsh GS, Gantz I. Effects of recombinant agouti-signaling protein on melanocortin action. *Molecular Endocrinology* 1997;11:274-80.

Yen TY, Gill AM, Frigeri LG, Barsh GS, Wolff GL: Obesity, diabetes, and neoplasia in yellow *Avy*<sup>-/-</sup> mice: ectopic expression of the agouti gene. *FASEB J* 1994;8:479–88.

Yeo GSH, Farooqi IS, Challis BG, Jackson RS, O'Rahilly S. The role of melanocortin signalling in the control of body weight: evidence from human and

murine genetic models. Qjm Monthly. Journal of the Association of Physicians QJM 2000;93(1):7-14.

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.

## **LISTA DE CUADROS**

**LISTA DE CUADROS**

**Cuadro 1.** Ingredientes y composición química de las dietas empleadas.

Análisis ingredientes	Rangos de Peso (kg)			
	10-20	20-50	50-80	80-100
Sorgo 8%	764	783	738	801.737
Concentrado de soya	88.66	-----	20.861	
Concentrado proteico de pescado	50.00	49.457	-----	-----
Pasta de soya 44%	49.67	123.099	184.438	143.527
Grasa en polvo	24.00	25.000	35.000	35.000
Fosfato dicálcico 18/20	8.595	4.140	5.496	4.122
Carbonato de Ca 36%	7.818	7.763	8.357	8.245
Sal	2.500	2.500	2.500	2.500
Vitaminas C2	2.500	2.500	2.500	2.500
Minerales Cl	1.500	1.500	1.500	1.500
Colina 60%	0.400	0.400	0.400	-----
Lisina	-----	-----	-----	.469
<b>Análisis de nutrientes</b>				
Energía metabolizable kcal/kg	3400	3400	3400	3400
Lisina total	1.00	0.830	0.750	0.600
Treonina total	0.719	0.600	0.575	0.463
Valina total	0.987	0.840	0.793	0.661
Metionina digestible	0.305	0.274	0.207	0.175
Trionina digestible	0.190	0.158	0.162	0.129
Calcio	0.7	0.600	0.500	0.450
Fibra cruda	2.20	2.509	2.774	2.625
Materia seca	88.714	88.642	88.730	88.594
Proteína cruda %	16	15.29	15.36	12.79
Metionina total (%)	0.340	0.328	0.248	0.214
Treonina total (%)	0.190	0.189	0.194	0.157
Lisina digestible	0.856	0.692	0.635	0.497
Treonina digestible	0.597	0.482	0.462	0.362
Valina digestible	0.821	0.687	0.650	0.530
Fósforo total	0.6	0.500	0.450	0.400
Extracto etéreo	5.31	5.301	5.632	5.690



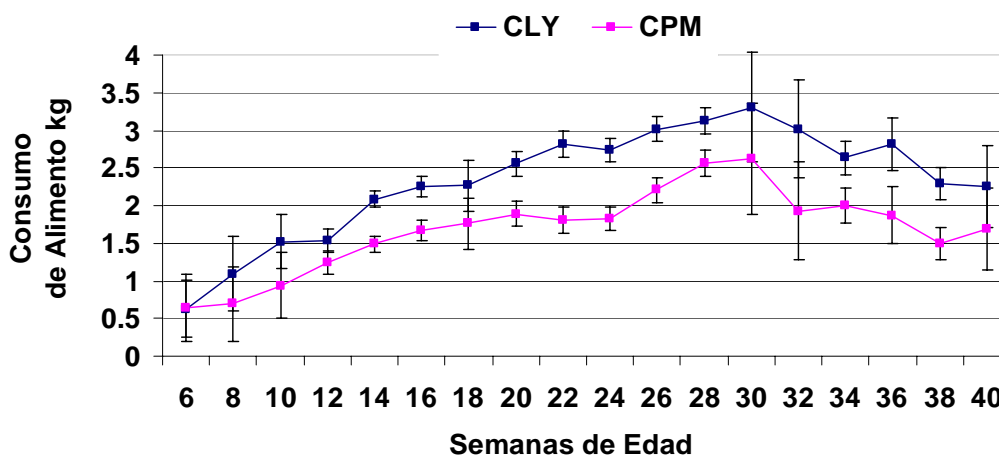
**Cuadro 2** Secuencia de oligo-nucleótidos de iniciación utilizados en RT-PCR

Gen	Acceso GenBank	Secuencia	Posición	Amplicón pb
Lep	NM_213840	F TCAGTCACATTTACACATGCAG	951	100
		R ATCTTGGACAAACTCAGGACAGG	1050	-
Lep-R	NM_001024587	F TATGATGTTGTGGGTGACCATGT	1156	99
		R GCAGCAGTACACTGCATCATAGG	1254	-
PPAR- $\gamma$	AF_103946	F CGACCTGGCGATATTTATAGCTG	1242	100
		R TTGCAGCAAATTGTCTTGAATGT	1341	-
Adipo	NM_214370	F GGTCAGCCTCTACAAGAAGGACA	602	103
		R CTCCAGATAGAGGAGCACAGAGC	704	-

Lep=Leptina; Lep-R= Receptor de leptina; PPAR-  $\gamma$ = Receptor activado por proliferadores de peroxisomas gama;  
Adipo= Adiponectina

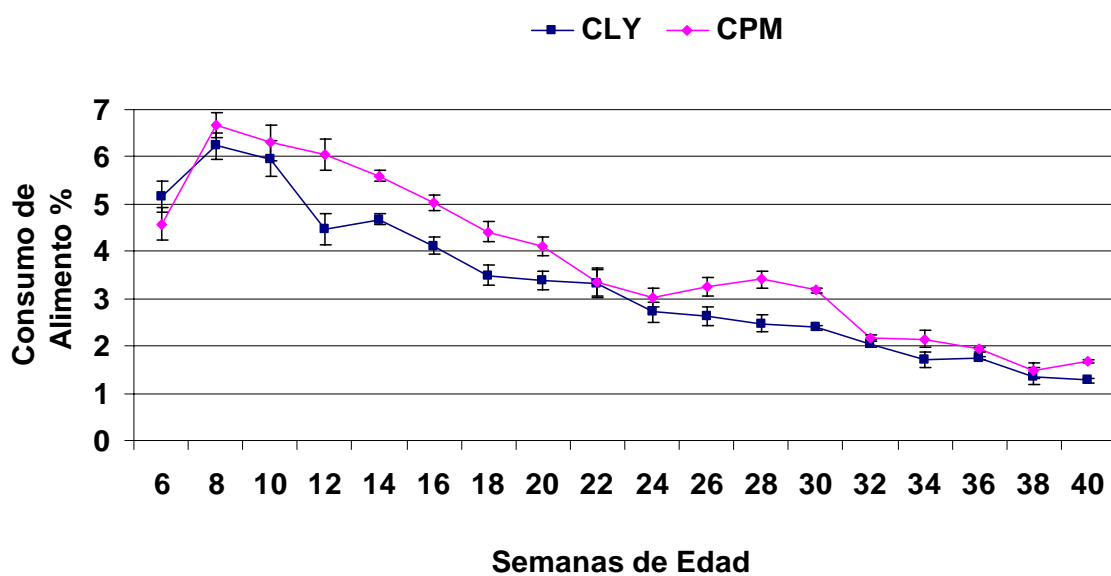
## **LISTA DE FIGURAS**

Consumo de Alimento Expresado en Kg

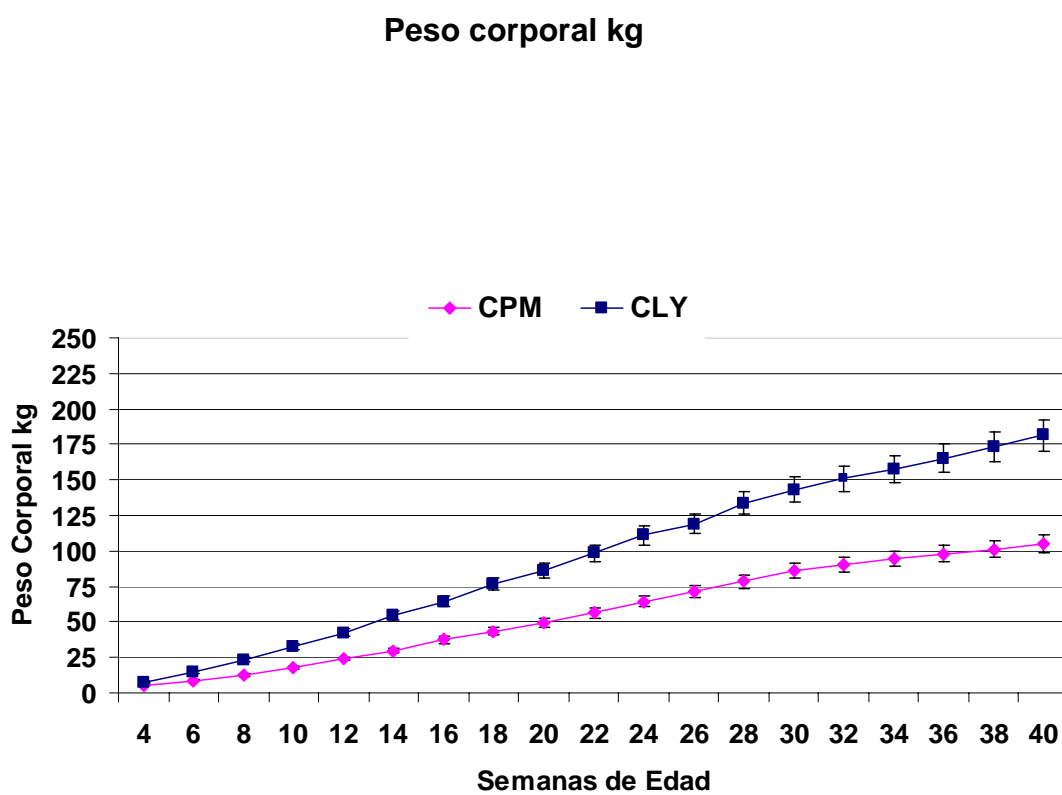


**Figura 1.** Medias y EE del consumo de alimento en cerdos Pelón Mexicano (CPM n= 12 y cerdos Landrace-Yorkshire (CLY n=14)

### Consumo de Alimento en Relación al Peso Corporal

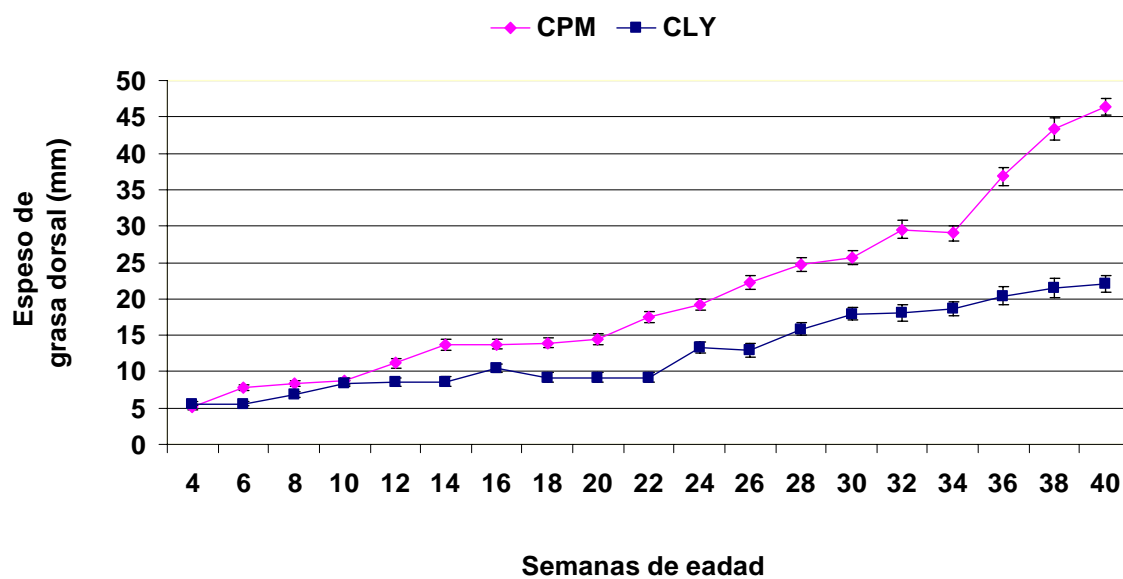


**Figura 2.** Media  $\pm$  error estándar del consumo de alimento en relación al peso corporal en cerdos Pelón Mexicano (n=12 CPM) y cerdos Landrace-Yorkshire (n=14 CLY).

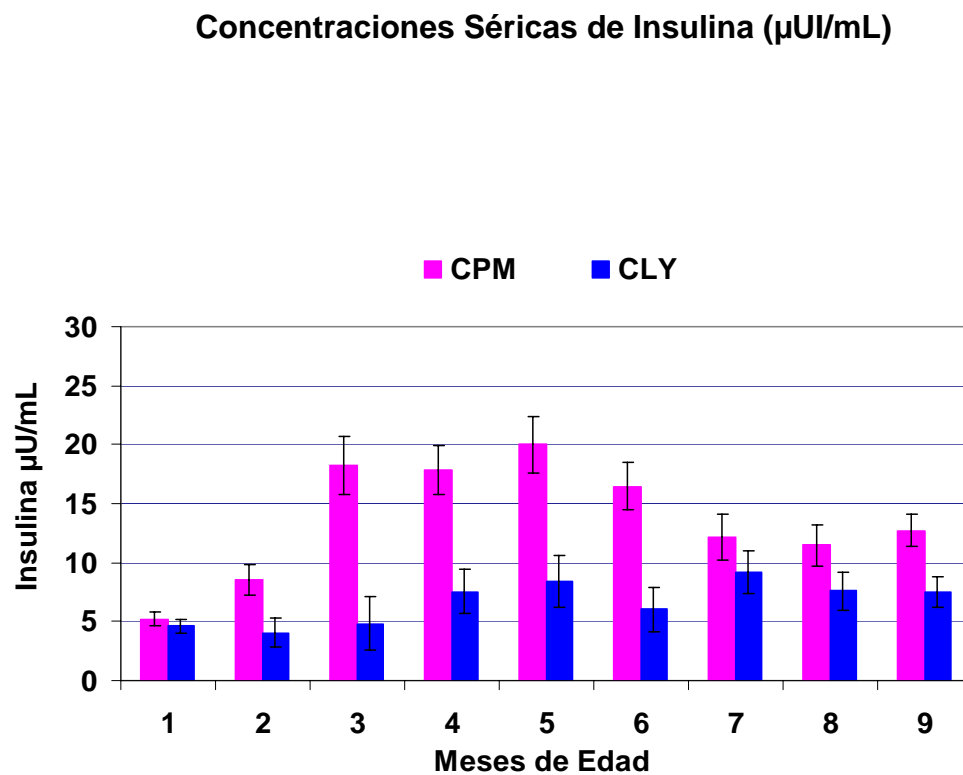


**Figura 3.** Media  $\pm$  error estándar del peso corporal Pelón Mexicano (n=12 CPM) y cerdos Landrace-Yorkshire (n=14 CLY).

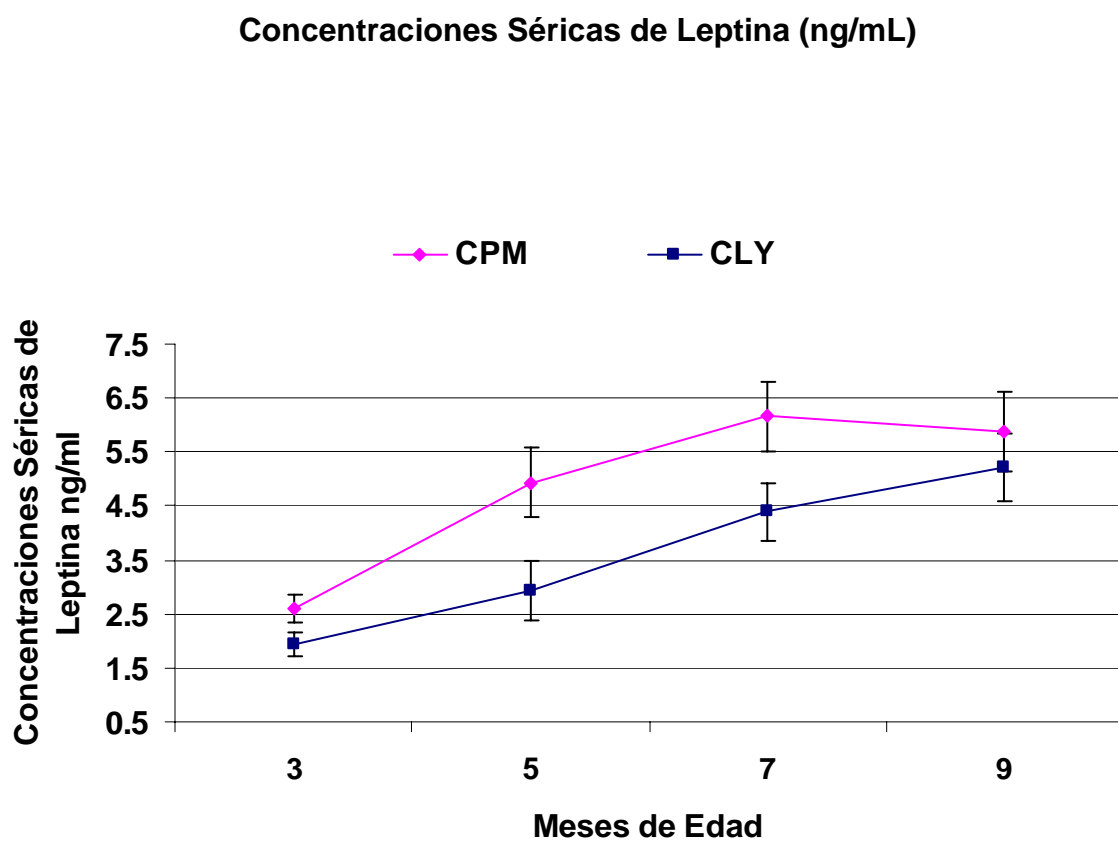
**Espesor de la Grasa Dorsal (mm)**



**Figura 4.** Media  $\pm$  error estándar del espesor de grasa dorsal de los cerdos CPM=cerdo Pelón Mexicano (n12); CLY= cerdo Landrace-Yorkshire(n=14).

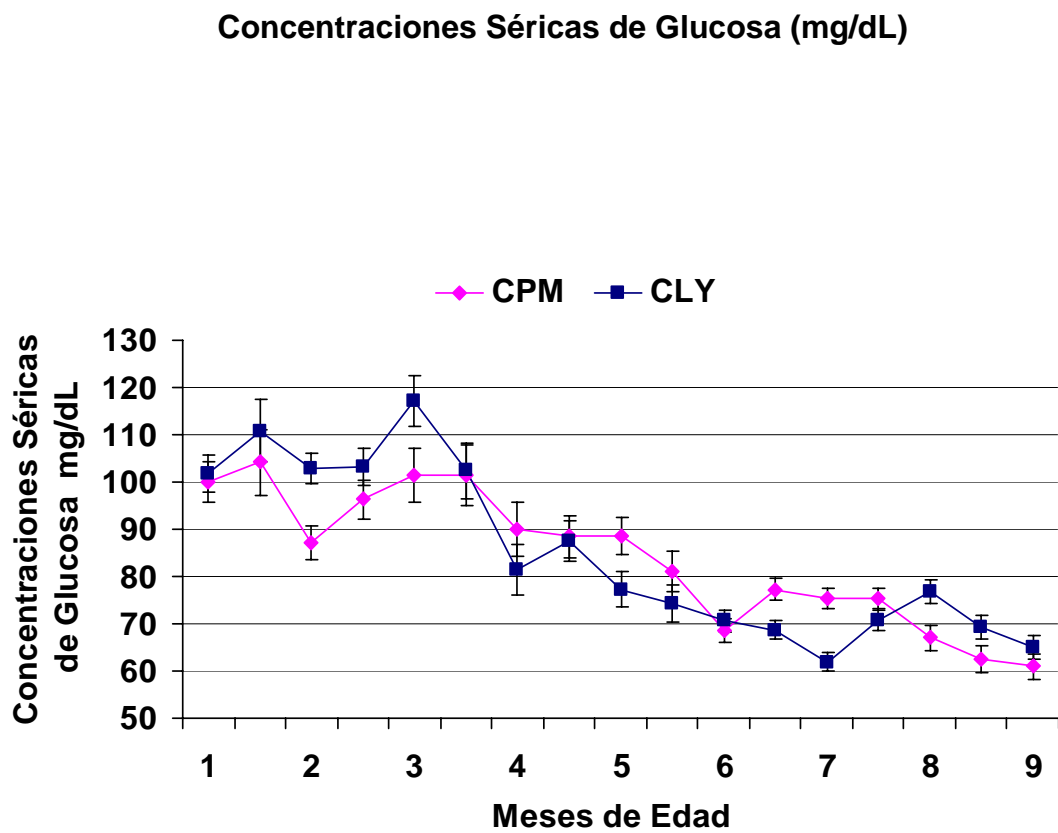


**Figura 5.** Media  $\pm$  error estándar de las concentraciones séricas de insulina en cerdos Pelón Mexicano (n=12 CPM) y cerdos Landrace-Yorkshire (n=14 CLY).

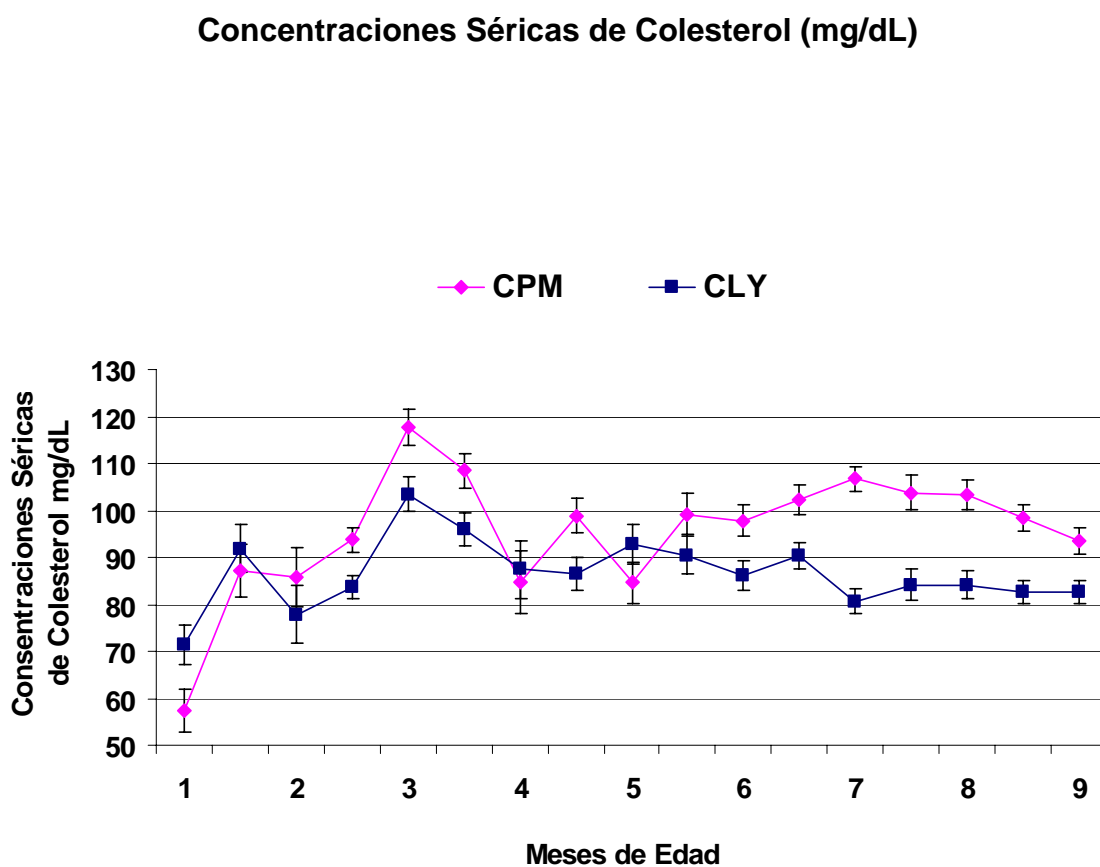


**Figura 6.** Media  $\pm$  error estándar de las concentraciones séricas de leptina en cerdos Pelón Mexicano (n=12 CPM) y cerdos Landrace-Yorkshire (n=14 CLY).

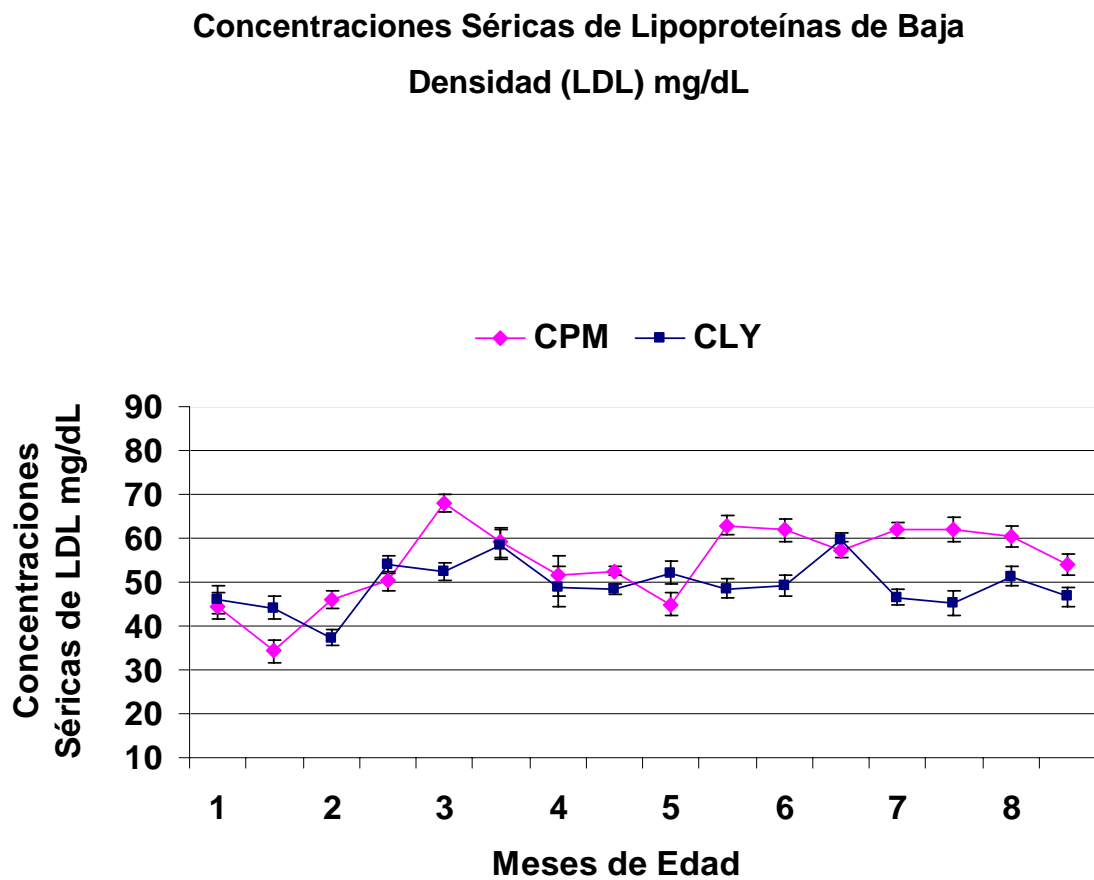




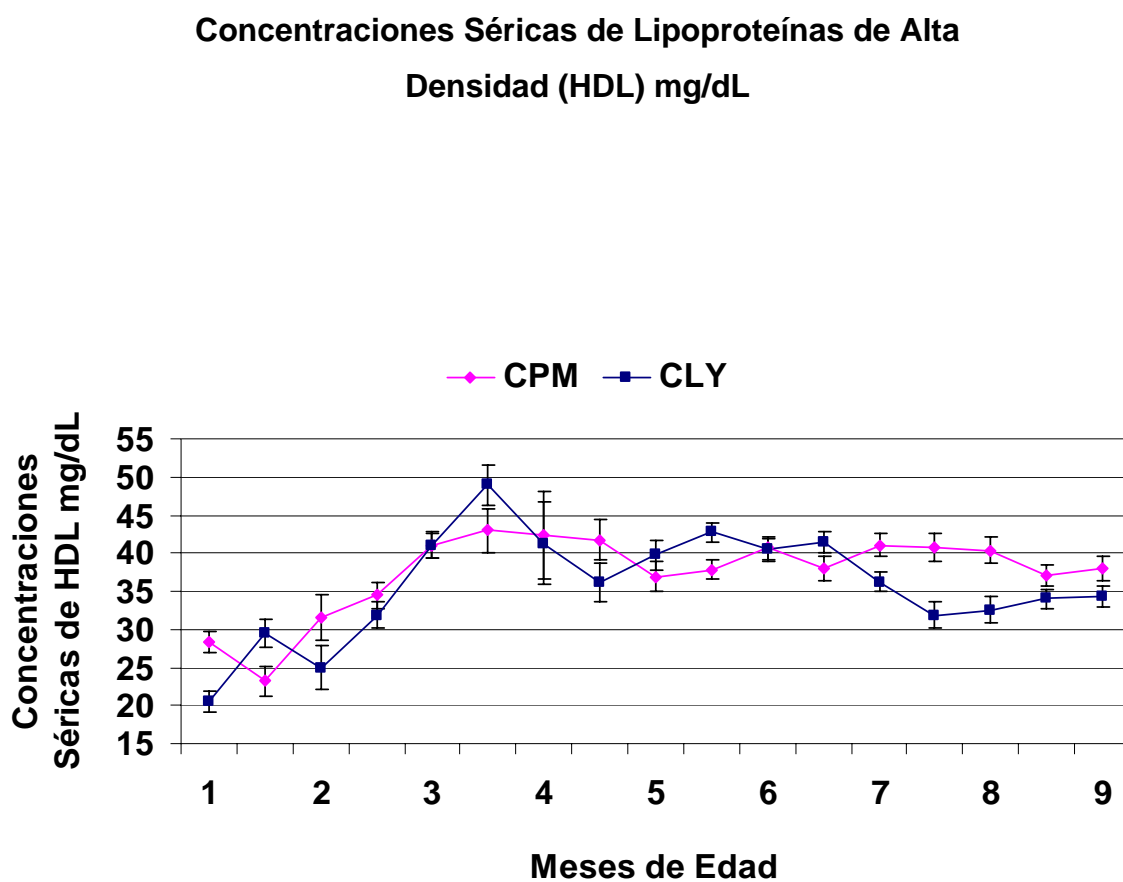
**Figura 7.** Media  $\pm$  error estándar de las concentraciones séricas de glucosa en cerdos Pelón Mexicano (n=12 CPM) y cerdos Landrace-Yorkshire (n=14 CLY).



**Figura 8.** Media  $\pm$  error estándar de las concentraciones séricas de colesterol en cerdos Pelón Mexicano (n=12 CPM) y cerdos Landrace-Yorkshire (n=14 CLY).

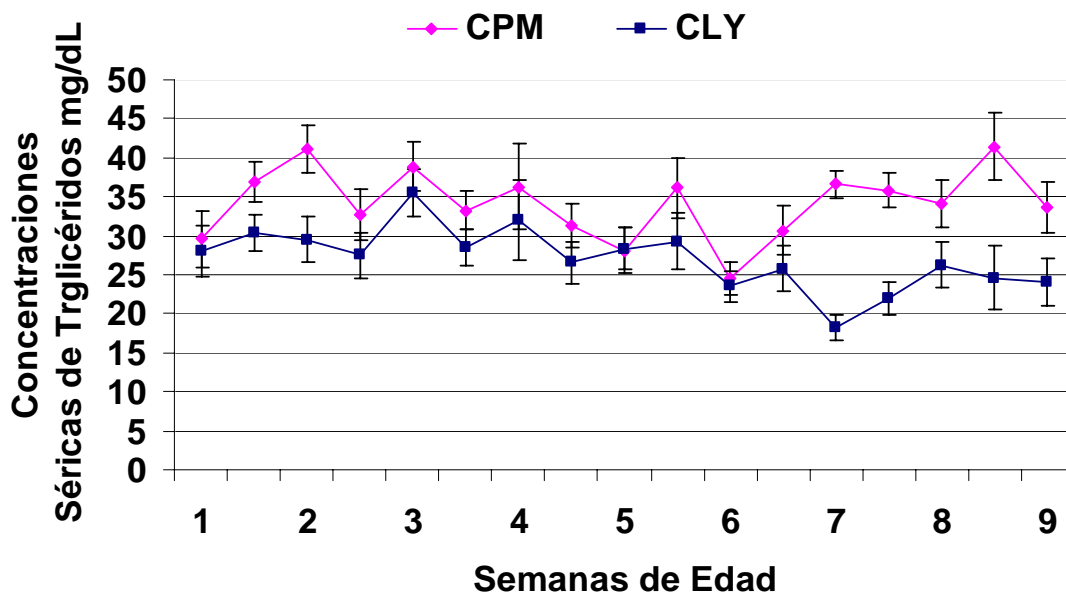


**Figura 9.** Media  $\pm$  error estándar de las concentraciones séricas de LDL en cerdos Pelón Mexicano (n=12 CPM) y cerdos Landrace-Yorkshire (n=14 CLY).

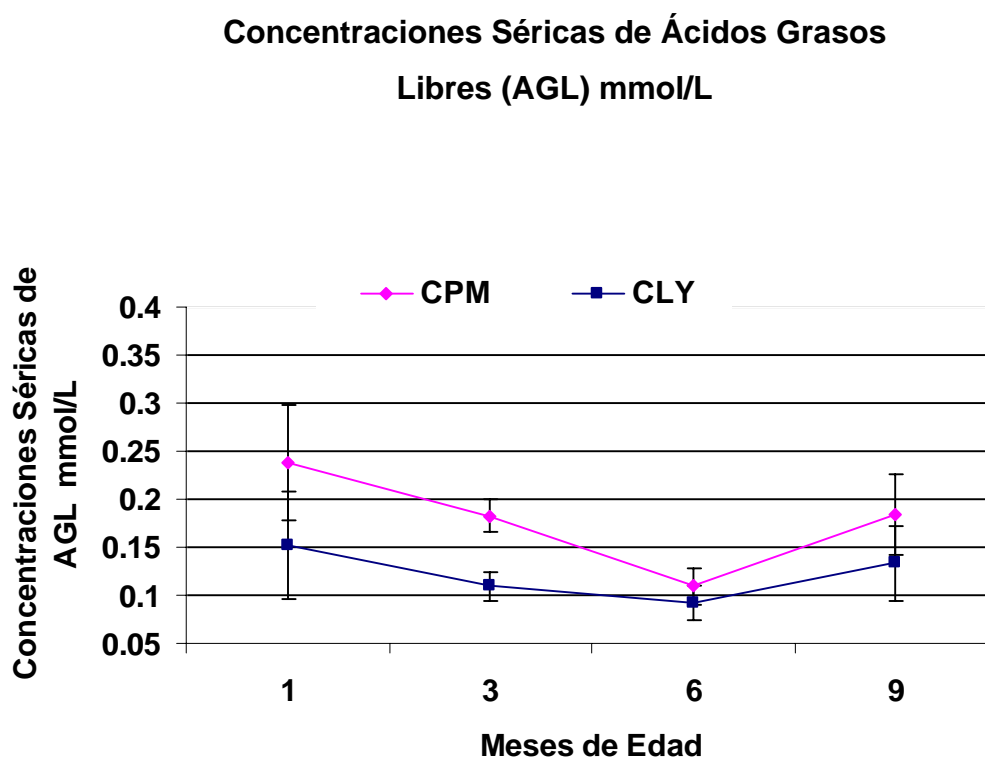


**Figura 10.** Media  $\pm$  error estándar de las concentraciones séricas de HDL en cerdos Pelón Mexicano (n=12 CPM) y cerdos Landrace-Yorkshire (n=14 CLY).

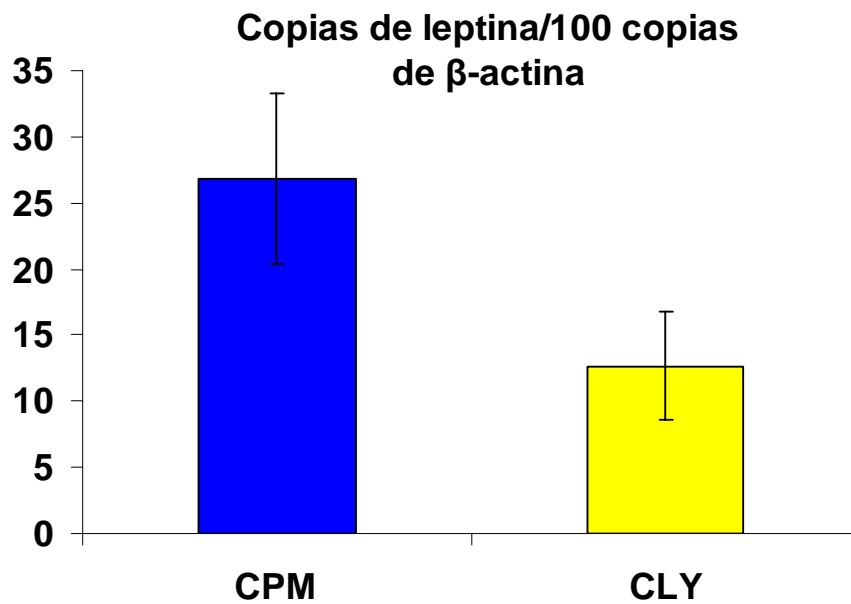
Concentraciones Séricas de Triglicéridos mg/dL



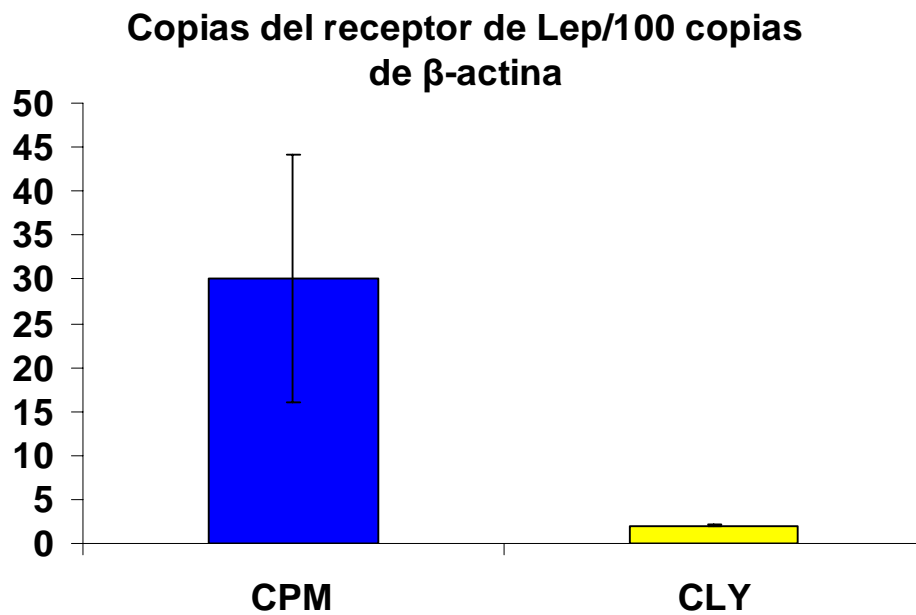
**Figura 11.** Media  $\pm$  error estándar de las concentraciones séricas de triglicéridos en cerdos Pelón Mexicano (n=12 CPM) y cerdos Landrace-Yorkshire (n=14 CLY).



**Figura 12.** Media  $\pm$  error estándar de las concentraciones séricas de AGL en cerdos Pelón Mexicano (n=12 CPM) y cerdos Landrace-Yorkshire (n=14 CLY).

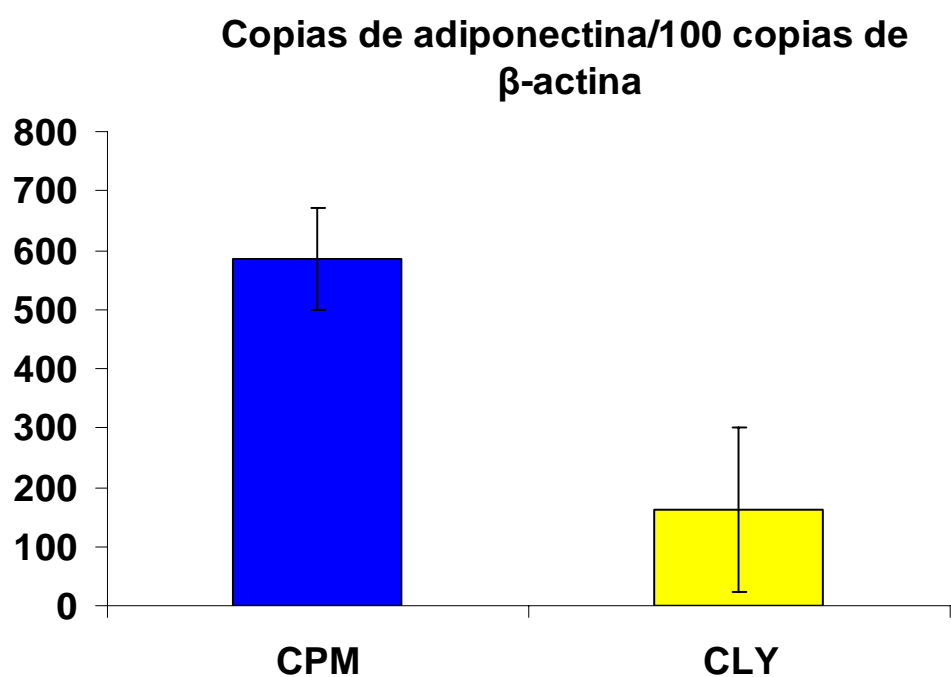


**Figura. 13** Media  $\pm$  error estándar del número de copias de RNAm de leptina en tejido adiposo de cerdos Pelón Mexicano (n=4 CPM) y cerdos Landrace-Yorkshire (n=3 CLY).

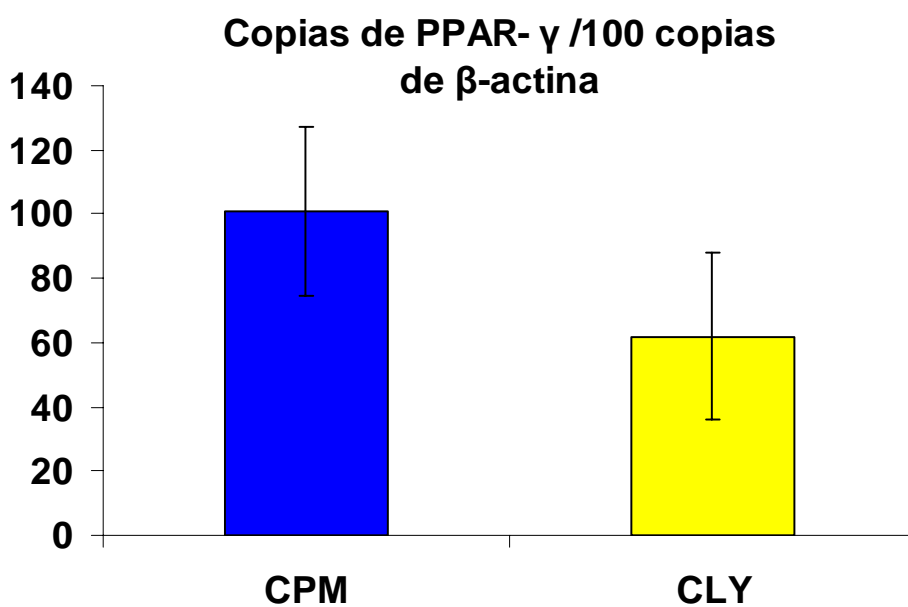


**Figura.14.** Media  $\pm$  error estándar del número de copias de RNAm del receptor de leptina en tejido adiposo de cerdos Pelón Mexicano (n=4 CPM) y cerdos Landrace-Yorkshire (n=3 CLY).





**Figura 15.** Media  $\pm$  error estándar del número de copias de RNAm de adiponectina en tejido adiposo de cerdos Pelón Mexicano (n=4 CPM) y cerdos Landrace-Yorkshire (n=3 CLY).



**Figura 16.** Media  $\pm$  error estándar del número de copias de RNAm de PPAR- $\gamma$  en tejido adiposo de cerdos Pelón Mexicano (n=4 CPM) y cerdos Landrace-Yorkshire (n= 3 CLY).

## **ABREVIATURA Y SIGLAS USADAS**

## **ABREVIATURA Y SIGLAS USADAS**

**ASP** Proteína señaladora agutí.

**AGL** Ácidos grasos libres.

**CPE** Enzima carboxipeptidasa-E.

**HSL** Enzima lipasa sensible a hormonas.

**Kb** Kilobases.

**MCR-4** Receptor de la melanocortina-4.

**MCR-1** Receptor de la melanocortina.

**NPY** Neuropeptido Y.

**QTLs** *Loci* de rasgos cuantitativos.

**$\alpha$ -MSH** Hormona estimulante de los melanocitos alfa.

**OMS** Organización Mundial de la Salud

**LDL** Lipoproteínas de baja densidad.

**HDL** Lipoproteínas de alta densidad

**VDL** Lipoproteínas de muy baja densidad