



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**PAPEL DE LA VARIANTE GENÉTICA *GHRd3* EN LA
REDUCCIÓN DE PESO EN PACIENTES CON OBESIDAD
MÓRBIDA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A:

ANDY MICHEL ROMERO NIEVES



**DIRECTOR DE TESIS:
DR. OSVALDO DANIEL CASTELÁN MARTÍNEZ**

MARZO 2017

CIUDAD DE MÉXICO



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, por brindarme incomparables amistades, compañeros y guías en la formación que trasciende a la presente licenciatura.

Al Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, por la oportunidad de desarrollar la investigación en sus instalaciones, por mostrarme caminos y opciones más allá de las que vislumbraba inicialmente y complementarme con profesionales dedicados al bien en favor de los demás.

Al Dr. Moisés Mercado Atri y colaboradores, por permitirme ser partícipe de un increíble equipo de investigación.

Al Dr. Osvaldo Daniel Castelán Martínez, por ser un sobresaliente profesor, director y amigo, por creer y confiar en mí, además de apoyar mis ideas y ayudarme a crecer como investigador.

A la Dra. Martha Asunción Sánchez Rodríguez, por su tiempo, enseñanzas, su interés en mi gusto por las ciencias y por siempre estar cuando la necesité.

A la Dra. Raquel Retana Ugalde, por todo su apoyo, asesoría y los momentos que dedicó específicamente a mí, además de ser una gran amiga.

A la Dra. María del Carmen García Rodríguez, por su sincera opinión, sus consejos, asesorías y por todo el tiempo que me destinó.

A la Mtra. Claudia Fabiola Martínez Rodríguez, por su amabilidad, comentarios, además de siempre considerarme de mayor prioridad.

DEDICATORIA

A mis padres, Susana Martha Nieves Molina y Martín Felipe Romero Gutiérrez, por sus valores, enseñanzas y por ser el estímulo principal del propósito de mi vida. Siempre han creído en mí y en todo aquello que he soñado por lograr, esto solo es el principio de lo mucho que resta por hacer.

A Ruperto Nieves Lima y Fidela Pascuala Molina Flores (la Mamita), las personas más increíbles que he conocido, siempre han hecho más de lo posible por los demás, por ustedes lograré trascender, y así, ustedes conmigo.

A mí familia, desde mis queridos primos Diego, Alberto, Daniel, Alan, y Gloria, hasta los familiares más lejanos que se encuentren dispersos. Lo más importante, son ustedes.

A Sandoval Trejo Jorge Oswaldo, mi mejor amigo, mi más sincera amistad, aquel que se convirtió en un hermano para mí, siempre has creído en mí, siempre me has apoyado y has comprendido mis silencios.

A todos aquellos que han guiado mi camino, forjado metas y han extendido su mano, Mónica Adriana, Jesús Amador, Araceli Palacios, Patricia Vidal, Enriqueta Castrejón, Carlos Salvador, Katia Esperanza, Tania Berenice, Sandra Ivette, Isaac Caballero, Sandra Itazami, Uriel Alcántara, Rodolfo Rivas, Juan Talavera, Patsy Etual, Karla Daniela y Sonia Saavedra. Gracias.

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| 1. Introducción | 4 |
| 2. Marco teórico | 6 |
| 2.1 Obesidad | 6 |
| 2.2 Clasificación de la obesidad | 7 |
| 2.3 Epidemiología de la obesidad en México | 7 |
| 2.4 Obesidad mórbida | 8 |
| 2.5 Tratamiento del paciente con obesidad mórbida | 9 |
| 2.6 La Hormona del crecimiento (GH) | 10 |
| 2.7 El gen del Receptor de la Hormona del Crecimiento (GHR) | 11 |
| 2.8 GHR en Obesidad Mórbida | 12 |
| 2.9 Amplificación de DNA por PCR | 13 |
| 2.9.1 PCR Multiplex | 15 |
| 3. Planteamiento del problema | 17 |
| 4. Hipótesis | 18 |
| 5. Objetivos | 18 |
| 6. Material y métodos | 19 |
| 6.1 Tipo de estudio y universo de trabajo | 19 |
| 6.1.1 Criterios de inclusión | 19 |
| 6.1.2 Criterios de exclusión | 19 |
| 6.1.3 Criterios de eliminación | 19 |
| 6.2 Procedimientos | 20 |
| 6.2.1 Reclutamiento de los pacientes..... | 20 |
| 6.2.2 Integración de la cohorte | 20 |
| 6.2.3 Extracción de DNA | 21 |
| 6.2.4 Evaluación de la integridad de DNA..... | 22 |
| 6.2.5 Genotipificación de los alelos de GHR..... | 22 |
| 6.2.6 Análisis estadístico | 24 |
| 6.2.7 Potencia estadística..... | 25 |
| 6.2.8 Consideraciones éticas..... | 26 |
| 7. Resultados | 27 |
| 8. Discusión | 35 |
| 9. Conclusiones | 39 |
| 10. Perspectivas | 40 |
| 12. Referencias Bibliográficas | 41 |
| 11. Anexos | 46 |
| 11.1 Hoja de recolección de datos..... | 46 |
| 11.2 Carta de consentimiento informado..... | 47 |

1. Introducción

En el mundo, la prevalencia de obesidad se ha duplicado entre los años 1980 y 2014.¹ En 2014, alrededor del 13% de la población adulta padecía algún grado de obesidad. En el pasado, la obesidad fue considerada como una enfermedad propia de los países de ingresos altos, sin embargo la prevalencia de este padecimiento ha aumentado en los países de ingresos bajos y medios, en particular en los entornos urbanos. La obesidad se define como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud porque ha sido identificada como un factor de riesgo de enfermedades no transmisibles como son las enfermedades cardiovasculares, la diabetes, los trastornos del aparato locomotor y algunos tipos de cáncer (el endometrio, mama, colon, etc.).²

Existen criterios para determinar el peso ideal de una persona, como la fórmula de Lorentz, que considera la talla y sexo, otro criterio para determinar en qué medida el peso de una persona se aleja de los valores medios de la población es el establecido por Garrow a partir del índice de masa corporal (IMC).³

La Hormona del Crecimiento (GH, por sus siglas en inglés) se encuentra involucrada en el metabolismo de lípidos, carbohidratos y proteínas.⁴ Niveles bajos de GH se manifiestan en proliferación del tejido adiposo.⁵ En contraste, cuando los niveles de GH son elevados se observa una disminución de la cantidad de tejido adiposo.⁴ La GH ejerce su acción a través de la activación del Receptor de la Hormona del Crecimiento (GHR, por sus siglas en inglés) que se encuentra localizado en la superficie de una gran diversidad de células. El GHR tiene dos isoformas cuya diferencia estructural se encuentra codificada

genéticamente. Así, las variables genéticas de gen *GHR* han sido denominadas *f1* y *d3*, dependiendo de la presencia o ausencia de la información contenida en el exón 3 del gen *GHR*. El resultado funcional es una sensibilidad diferenciada a GH.⁵

El presente trabajo tuvo como propósito conocer la asociación entre la variante genética *GHRd3* y la reducción de peso corporal en pacientes diagnosticados con obesidad mórbida tratados en la Clínica Multidisciplinaria de Obesidad Mórbida del Hospital de Especialidades “Dr. Bernardo Sepúlveda Gutiérrez”, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

2. Marco teórico

2.1 Obesidad

La prevalencia de la obesidad se ha incrementado a nivel mundial de forma alarmante, afecta a más de 1.7 billones de personas en el mundo y representa un grave impacto en la economía de los países por su asociación con la mortalidad prematura, morbilidad crónica, incremento en el uso de los servicios de salud, disminución en la calidad de la vida y estigmatización social.⁶ De acuerdo con datos de la Organización Económica para la Cooperación y Desarrollo (OECD); México es el segundo país, después de Estados Unidos, con mayor número de pacientes con obesidad. La prevalencia en nuestro país del 24.2%. Esta situación representa que uno de cada 4 mexicanos presenta algún grado de obesidad.¹

La obesidad es una enfermedad sistémica, crónica, progresiva y multifactorial que se define como una acumulación anormal o excesiva de grasa. Su etiología involucra alteraciones en el gasto energético, desequilibrio en el balance entre aporte y uso de las grasas, causas de carácter neuroendocrino, metabólicas, genéticas, factores del medio ambiente y psicógenas.⁷

La causa fundamental de la obesidad es un desequilibrio energético entre calorías consumidas y gastadas; esta circunstancia se genera por un aumento en la ingesta de alimentos hipercalóricos ricos en grasa, sal y azúcares, pero pobres en vitaminas, minerales y micronutrientes. Además, el descenso en la actividad física como resultado de la naturaleza cada vez más sedentaria.¹

Para diagnosticar y clasificar la obesidad, se calcula el IMC, también llamado índice de Quetelet, que se obtiene de dividir el peso en kilogramos (kg) dividido por la talla expresada en metros y elevada al cuadrado. Un adulto con un IMC \geq a 30Kg/m² es diagnosticado con obesidad.⁶

2.2 Clasificación de la obesidad

En población adulta, la OMS recomienda utilizar como punto de corte del IMC para definir obesidad \geq a 30 kg/m². Este punto de corte tiene una especificidad del 92% para diagnosticar obesidad y una sensibilidad del 50% para identificar la adiposidad. Se recomienda calcular el índice de masa corporal por lo menos una vez al año y cuantas veces sea necesario durante la vigilancia de un paciente con obesidad.⁸ La OMS clasifica a los pacientes con obesidad de acuerdo al IMC: el grado 1, de 30 a 34.9; el grado 2, de 35 a 39.9; y obesidad grado 3 o mórbida de 40 kg/m² en adelante.⁹

2.3 Epidemiología de la obesidad en México

Con datos de las tres últimas encuestas nacionales de salud (ENSA 2000, ENSANUT 2006 y ENSANUT 2012), se puede observar un aumento de la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad en adultos del 15.4%. Estratificando por sexo, la prevalencia aumento en 16.6% en hombres y en mujeres se incrementó el 13.9%. La prevalencia de obesidad grado tres o mórbida en adultos paso del 1.7% en el año 2000 a 3.0% en el años 2012, este incremento representa un aumento del 74% de la obesidad mórbida en 12

años. Por sexo, la obesidad mórbida aumento el 65% en mujeres mientras que en hombres creció en un 200%.⁶

2.4 Obesidad mórbida

Los pacientes con obesidad mórbida presentan una incrementada adiposidad central y visceral, acompañada de hipertensión, dislipidemias, una condición proinflamatoria sistémica y enfermedades cardiovasculares.^{1,2}

Un paciente con obesidad mórbida presenta de entre 50 a 100% por encima del peso ideal que le confiere un riesgo alto de morbilidad y mortalidad, con efectos como la hiperinsulinemia, resistencia a la insulina, prediabetes y síndrome metabólico.¹⁰ El paciente con síndrome metabólico presenta una elevación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL), una menor concentración de lipoproteínas de alta densidad asociadas al colesterol (HDL colesterol), elevada concentración de triglicéridos (TG) en circulación, disfunción endotelial y microalbuminuria.² Otro tipo de complicaciones que padecen los pacientes con obesidad mórbida es la restricción del movimiento de las paredes del tórax y diafragma que disminuye la capacidad de inspiración e inducen fístulas arteriovenosas que condicionan al paciente a sufrir hipoxias.¹¹

La hipoxia en el paciente con obesidad mórbida lo predispone a un aumento en el daño celular generado por la respuesta inflamatoria que aumenta con el tiempo la probabilidad de fallo multiorgánico y la muerte.¹²

2.5 Tratamiento del paciente con obesidad mórbida

La obesidad mórbida está asociada causalmente con pérdida de la salud. Inicialmente, se diseña un tratamiento dietético que ayude al paciente a mejorar el estado nutricional y en consecuencia lograr cambios metabólicos positivos que sean reflejados en la pérdida de peso.¹³

El tratamiento dietético inicial tiene como propósito la pérdida del 10% del peso en un plazo de seis meses. Mantener dicha pérdida a largo plazo y prevenir la ganancia ponderal disminuye el riesgo cardiovascular y metabólico asociado al exceso de peso. Asimismo, disminuye el riesgo a desarrollar comorbilidades vinculadas al exceso de peso como son la apnea del sueño, artrosis, riesgo neoplásico, etc.^{8,14} Para inducir la pérdida de peso, también se aumenta la actividad física, ya que el músculo contribuye a un mayor gasto de energía, de lo que el tejido adiposo consume,¹⁵ y así alcanzar un gasto energético semanal de 2 500 Kcal (300 cal/día).⁸

El tratamiento farmacológico se puede prescribir para el sobrepeso y obesidad cuando exista evidencia de falta de respuesta al tratamiento dieto-terapéutico y a la actividad física en un periodo de al menos tres meses.¹⁶ Para iniciar el tratamiento se inicia con una dosis de 850 mg de metformina al día, transcurrido un mes la dosis se incrementa a 850 mg dos veces al día para obtener una pérdida de peso aproximada al 10% del peso original.^{15,17}

La cirugía bariátrica es considerada como una opción de tratamiento en pacientes con un IMC de 40 kg/m² o IMC de 35 kg/m² con comorbilidad en los cuales se ha implementado y fallado un programa adecuado de ejercicio y dieta.^{13,15} La cirugía bariátrica es un procedimiento quirúrgico efectivo realizado sobre el estómago y/o intestinos que ayuda a perder peso en una persona con

obesidad mórbida, permite una completa resolución o mejoría de las siguientes condiciones clínicas: diabetes mellitus, hiperlipidemia, hipertensión arterial sistémica y apnea obstructiva del sueño.⁹

El bypass gástrico en Y de Roux es el procedimiento de cirugía bariátrica con evidencia robusta para inducir la pérdida de peso en pacientes con un IMC 40 Kg/m^2 .¹⁸ El porcentaje de pérdida de peso alcanzado por el bypass gástrico en Y de Roux a los 12 meses de 53% y a los 24 meses del 63%,¹⁶ los resultados a largo plazo han demostrado que se trata de una técnica segura y efectiva para la pérdida de peso.¹⁹ Algunas de las complicaciones comunes que se presentan después de la cirugía bariátrica son la náusea y el vómito que se encuentran asociadas con una mala dieta y hábitos alimenticios, además se presentan úlceras anastomóticas.²⁰

2.6 La Hormona del crecimiento (GH)

La GH, también llamada somatotropina, es una hormona proteica que pertenece a la familia Lactogénica Somatotrópica, por tanto GH comparte similitud estructural con la prolactina y el lactógeno placentario humano, ya que derivan de un gen ancestral común.²¹ El gen de la GH se encuentra ubicado en el cromosoma 17 y está conformado por 5 exones separados por 4 intrones. La GH está compuesta por 191 aminoácidos con dos puentes disulfuro.²²

La GH es sintetizada por células acidófilas o somatotrópicas de la glándula pituitaria anterior con un patrón pulsátil que se ve influenciado por factores como la edad, el sexo, el sueño, la alimentación, la actividad física y la obesidad. La GH estimula el crecimiento longitudinal postnatal e induce el

crecimiento de células en cultivo. La GH se encuentra involucrada en el metabolismo energético, tanto en el tejido muscular (anabolismo proteico) como en el adiposo (lipólisis).^{23,24} En sujetos sanos la secreción de GH y la adiposidad visceral están inversamente asociadas,²⁵ es decir, pacientes que manifestaron una mayor obesidad abdominal presentaban bajos niveles de GH.²⁶ De esta manera, pacientes tratados con GH exógena muestran una reducción de la adiposidad abdominal así como un aumento metabólico.²⁷

2.7 El gen del Receptor de la Hormona del Crecimiento (*GHR*)

El gen del *GHR* tiene 9 exones que codifican a un receptor transmembranal, los exones abarcan al menos 87 Kb.²⁸ El *GHR* consiste de un dominio extracelular de 246 aminoácidos, un único dominio transmembranal, y un dominio citoplasmático asociado a proteínas con actividad de tirosina cinasa (vía JAK2/STAT).²⁹ El gen del *GHR* se encuentra localizado en el brazo corto del cromosoma 5, los exones 3 al 7 codifican al dominio extracelular, el exón 8 codifica para el dominio transmembranal y los exones 9 y 10 codifican para el dominio intracelular.^{4,29}

Varias isoformas de GHR han sido identificadas. Sin embargo, una de las isoformas ha llamado la atención debido a que carece de una secuencia de 22 aminoácidos como resultado de la falta del exón tres en la secuencia del gen *GHR*.³⁰ De manera que se ha denominado a la variante genética que contiene a todos los exones como *GHRfl*, mientras que la variante genética carente del exón tres se nombró *GHRd3*. Al principio, se pensó que su origen era el resultado de un splicing alternativo en el transcrito primario. Posteriormente, se demostró que la isoforma *GHRd3* provienen de una

delección derivada de una recombinación intracromosomal entre dos retroelementos (secuencias de DNA derivados de retrovirus) similares que flanquean el exón 3, este fenómeno ocurrió durante la evolución de los primates, las secuencias que flanquean al exón manifestaron una recombinación, lo que resultó en una delección genómica de 2.7 Kb que abarca la totalidad del exón 3.^{28,31}

2.8 GHR en Obesidad Mórbida

Los niveles de GH disminuyen con la edad y en consecuencia se observa una ganancia de peso.³² Esta disminución de la hormona conlleva a la modificación de la composición corporal y función metabólica, es incluso común ver en adultos mayores y en personas con obesidad que el síndrome metabólico sea prevalente, donde la inflamación, la resistencia a la insulina y la obesidad se asocian con varios tipos de cáncer.³³

El tejido adiposo ha tomado relevancia a través de los años, no solo por la epidemia mundial de la obesidad, sino porque este órgano desempeña un papel más complicado y dinámico.³⁴ El tejido adiposo blanco se encuentra en la región visceral, la cual por la obesidad, comienza a aumentar la cantidad de citosinas inflamatorias liberadas, como el factor de necrosis tumoral α (TNF- α) e Interleucinas 1 y 6 (IL-1 e IL-6).³⁵

La importancia de GHR en la obesidad mórbida ha sido resaltada por su relación con el síndrome de Laron, que es una condición severa de resistencia a la GH. Los pacientes con esta condición presentan un incremento del tejido adiposo, caso contrario de aquellos pacientes con acromegalia, donde los

niveles de GH son elevados y el tejido adiposo se encuentra reducido.³⁶ En algunos casos donde el paciente con obesidad mórbida presenta una deficiencia de GH, se le brinda una terapia para sustituir GH, con el tiempo este manifiesta una disminución del tejido adiposo.² Asimismo, existen diferencias en la respuesta terapéutica de los pacientes con obesidad que puede estar influenciada por el genotipo de *GHR*.

En la región codificante del gen *GHR*, existen dos variantes genéticas, una donde se encuentra presente el exón 3 (*fl*) y otra que carece de él (*d3*),³⁵ es así como se obtienen los genotipos homocigotos de *fl/fl* y *d3/d3*, además del heterocigoto *fl/d3*. De forma experimental se ha demostrado que la proteína derivada de la variante *d3* confiere una mayor respuesta a la transducción de la señal de GH que se traduce en una mayor sensibilidad a GH en aquellas personas que porten la isoforma *GHRd3*.^{37,38} En el mismo sentido, un paciente tratado con GH exógena por deficiencia manifiesta inducción de la lipólisis, el efecto es más evidente en la adiposidad visceral.³⁹

2.9 Amplificación de DNA por PCR

El método empleado para la amplificación de DNA se basa en la acción cíclica de una polimerasa de DNA que amplifica de forma selectiva una región que sea de interés, de dicho proceso proviene su nombre, conocido como Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés).⁴⁰ La PCR es un procedimiento *in vitro* que amplifica secuencias definidas de DNA partiendo de pocas cantidades de material genético.

Dos elementos son esenciales en la técnica, conseguir una amplificación exclusivamente de la región de interés y una polimerasa que permita el proceso de síntesis de DNA, para cumplir con ello se emplea la ya conocida capacidad de las polimerasas para catalizar la síntesis de DNA a partir del extremo 3' libre de un oligonucleótido que está unido a una cadena complementaria más larga que actúa como molde para la síntesis, es por ello que se requiere desnaturalizar el DNA (separar las dos cadenas de una doble hélice) mediante calor, la temperatura empleada es a partir de los 92 °C. Al disminuir la temperatura las dos cadenas volverán a hibridarse por complementariedad hasta que el DNA se haya re-naturalizado.⁴¹ La amplificación selectiva requiere información acerca de las secuencias que flanquean el DNA, a partir de dicha información se diseñan dos oligonucleótidos cebadores (primers, en inglés) con una longitud de 15 a 25 pares de bases y tiene la particularidad de ser complementarios de las secuencias por fuera de los extremos 3' del sitio blanco. Al emplearse dos cebadores habrá dos procesos de síntesis simultáneos en direcciones opuestas, lo que resulta al final en dos cadenas bicatenarias de DNA con la misma secuencia que la molécula original. En resumen, solo la secuencia que queda comprendida entre los dos cebadores va a ser amplificada.⁴⁰ Como el nombre de PCR indica, es una reacción en cadena, y lo es porque las cadenas de DNA nuevas actúan como molde para la posterior síntesis de DNA en los 25 a 35 ciclos subsiguientes, cada ciclo dobla la cantidad de DNA, por lo que al final hay aproximadamente un millón de copias de la secuencia blanco específica, durante cada ciclo se desarrollan tres reacciones con tiempo y temperatura rigurosamente controladas por medio de un termociclador.

El primer paso es la desnaturalización, seguido de la alineación del primer a temperaturas de 50 a 60 °C y terminando con la síntesis de DNA por la polimerasa termorresistente, como la *Thermophilus aquaticus* (Taq polimerasa) de 70 a 75 °C.⁴¹

2.9.1 PCR Multiplex

En ocasiones es necesario analizar regiones de DNA que involucran distintos *loci*, entonces en lugar de realizar amplificaciones por PCR individuales para cada región o *locus*, se realizan de forma simultánea en una reacción “multiplex” que nos brinda una disminución del tiempo y costo, de igual forma las alícuotas de DNA a emplear son menos, algo importante cuando las muestras son limitadas.

La amplificación por PCR multiplex utiliza tres o más cebadores juntos a reaccionar, al igual que la PCR clásica, se cuenta con un procedimiento riguroso para evitar amplificaciones inespecíficas, comenzando con la activación pre-PCR para la activación de las enzimas a una temperatura de 95 °C de 12 a 15 minutos seguido de una desnaturalización a 95 °C por 30 a 60 segundos. La alineación de los cebadores dependerá de su temperatura de fusión, a mayor temperatura de alineación, más específica resulta la amplificación pero se reduce el rango obtenido del producto de PCR, cuando la temperatura de alineación es menor, el rango de producto de PCR resulta mayor, aumenta el rango para la amplificación específica al igual que en las inespecíficas.⁴² De forma típica los tiempos para la alineación son cortos, de 20 a 45 segundos. La extensión o síntesis del DNA se lleva a cabo a 72 °C por un tiempo de 20 a 60 segundos, mientras presente una mayor longitud el producto

de PCR, este requerirá de un mayor tiempo para su extensión. Completados los ciclos, una extensión final es añadida, donde de igual forma la temperatura será de 72 °C pero con un mayor tiempo de 7 a 10 minutos.⁴⁰

3. Planteamiento del problema

En México, la prevalencia de obesidad mórbida ha ido en aumento en los últimos años hasta alcanzar al 3% de la población. Esta circunstancia, genera un problema de salud pública debido a que aumenta el riesgo de padecer diversas enfermedades crónicas como: diabetes, hipertensión arterial, cáncer, dislipidemias y síndrome metabólico. Además de presentar complicaciones metabólicas, los pacientes con obesidad mórbida presentan dificultades locomotoras por osteoartrosis e inmovilidad. En conjunto, las complicaciones derivadas de la obesidad mórbida generan un incremento en la mortalidad de los pacientes así como un aumento de los servicios de salud que requieren. En este padecimiento, la cantidad y distribución del tejido adiposo así como la acción y funcionamiento del metabolismo de los lípidos se encuentra alterado por diversos factores. Estudios previos han demostrado una relación inversa entre las concentraciones de GH y la adiposidad visceral. No obstante, la eficiencia de la acción de la GH depende de la presencia de las distintas isoformas del GHR. La isoforma d3, proveniente de la variante genética *GHRd3*, ha sido descrita con una mayor afinidad por GH y en consecuencia una mayor transducción de la cascada de señalización. El tratamiento del paciente con obesidad mórbida consiste, en la primera etapa, en reducir el 10% del exceso de peso mediante intervenciones nutricionales y ejercicio. Una vez alcanzada la reducción los pacientes son sometidos a cirugía bariátrica. Sin embargo, no todos los pacientes alcanzan esta reducción del peso corporal para poder ingresar a cirugía. Por lo tanto, surge la pregunta ¿Existirán factores genéticos que faciliten a los pacientes con obesidad mórbida la disminución de su peso corporal? En este sentido, el presente

protocolo pretende determinar la asociación que existe entre la variante genética *GHRd3* y la reducción del peso en pacientes con obesidad mórbida.

4. Hipótesis

De forma experimental la variante d3 confiere una mayor respuesta a la transducción de la señal de GH, al ser tratados con GH exógena por deficiencia de esta, manifiestan inducción de la lipólisis. Por lo tanto, la variante genética *GHRd3* está asociada con la reducción de peso corporal en pacientes con obesidad mórbida tratados con medidas nutricionales y ejercicio.

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Determinar la asociación de la variante genética *GHRd3* con la reducción de peso corporal de pacientes con obesidad mórbida tratados en la Clínica Multidisciplinaria de Obesidad Mórbida del Hospital de Especialidades CMN siglo XXI.

5.2 Objetivos particulares

- Extraer DNA de las muestras de sangre de pacientes con obesidad mórbida y evaluar su integridad.
- Realizar la genotipificación de los pacientes que integran la cohorte.
- Calcular el equilibrio de Hardy-Weinberg.
- Asociar los alelos del gen GHR con la respuesta terapéutica inicial de los pacientes.

6. Material y métodos

6.1 Tipo de estudio y universo de trabajo

Cohorte prospectiva de pacientes atendidos en la Clínica Multidisciplinaria de Obesidad Mórbida del Hospital de Especialidades “Dr. Bernardo Sepúlveda Gutiérrez”, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

6.1.1 Criterios de inclusión

- Pacientes con obesidad mórbida diagnosticada por un IMC ≥ 40 kg/m².
- Ambos sexos.
- No tener parentesco con ningún otro paciente (hermanos, primos) que participe en el estudio.
- Tener ascendencia de al menos tres generaciones nacidas en México.

6.1.2 Criterios de exclusión

- Pacientes que decidan no participar en el estudio.
- Pacientes que estén recibiendo tratamientos con agonistas o antagonistas de la GH (octreótide, lanreotide, pegvisomant, dopaminérgicos).

6.1.3 Criterios de eliminación

- Pacientes que decidan retirar su consentimiento informado en cualquier momento del estudio.

6.2 Procedimientos

6.2.1 Reclutamiento de los pacientes

Todos los pacientes que acudieron a la pre-consulta en la Clínica Multidisciplinaria de Obesidad Mórbida fueron invitados a participar en el proyecto. Los pacientes que aceptaron firmaron el consentimiento informado que explica los objetivos del estudio. A cada paciente incluido se le tomó una muestra de 4 mL de sangre en un tubo con anticoagulante EDTA para la extracción de DNA. Además, se les tomaron muestras en un tubo sin anticoagulante para realizar pruebas bioquímicas. Durante la pre-consulta se les registraron las medidas antropométricas. Toda la información fue recabada en una hoja de recolección de datos diseñada exprofeso (Anexo 11.1).

6.2.2 Integración de la cohorte

El estado basal de la cohorte se integró en la pre-consulta de la Clínica Multidisciplinaria de Obesidad Mórbida. Se obtuvieron datos concernientes a los pacientes como: la edad, el género, IMC corporal y se tomaron las muestras tanto para la genotipificación como para realizar determinar marcadores bioquímicos y hormonas.

Los especialistas de la Clínica Multidisciplinaria de Obesidad Mórbida diseñaron estrategias nutricionales y ejercicio personalizadas para cada uno de los pacientes.

La medición final se realizó a los seis meses de la pre-consulta. Los pacientes que lograron reducir el 10% de su exceso de peso serán considerados con éxito terapéutico. Los pacientes que no logren esta reducción se consideraron como fracaso terapéutico. Los cálculos de pérdida de peso se

realizaron utilizando la fórmula de Lorentz. La fórmula determina el peso ideal para cada sexo, en los varones, la fórmula es: peso ideal= $0.75 \times \text{talla (cm)} - 62.5$, mientras que en las mujeres corresponde la siguiente: $\text{Peso ideal} = 0.675 \times \text{talla (cm)} - 56.25$.³

6.2.3 Extracción de DNA

La extracción de DNA se realizó a partir de leucocitos presentes en sangre periférica por medio del siguiente procedimiento:

Se centrifugaron las muestras de sangre con anticoagulante a 5000 rpm por 10 minutos para poder separar los leucocitos, los leucocitos son retirados y se colocan en un tubo Eppendorf de 1.5 mL. Se adicionaron 500 μL de solución de buffer de lisis de glóbulos rojos. La muestra se agitó a 100 rpm durante 15 minutos, después se centrifugo a 8000 rpm por 5 minutos. Se eliminó el sobrenadante, el procedimiento se repite desde la adición del buffer de lisis de glóbulos rojos hasta la eliminación del sobrenadante de manera que los leucocitos extraídos se encuentren libres de eritrocitos.

Para continuar se adicionaron 15 μL de Proteinasa K, se agito suavemente y después se adicionaron 300 μL de buffer de lisis nuclear. Las muestras se incubaron a 50°C en el termoblock durante 24 horas. Se adicionaron 300 μL de acetato de amonio a las muestras y se dejó reposar por 30 minutos a -20°C , transcurrido el tiempo las muestras fueron centrifugadas a 14 000 rpm por quince minutos. El sobrenadante de las muestras se transfirió a un tubo Eppendorf nuevo y se adicionaron 600 μL de etanol frío. Las muestras se dejaron reposar por 24 horas a -20°C .

Transcurrido el tiempo, las muestras se centrifugaron a 14 000 rpm por 10 minutos y se decantó el sobrenadante. Se adicionó 1 mL de etanol a las muestras. Se realizó una centrifugación a 14 000 rpm por 10 minutos y se decantó el sobrenadante. Las muestras se secaron en el termoblock a 50° C. El DNA se reconstituyó adicionando 30 µL de agua libre de nucleasas y se procedió a medir concentración y pureza de DNA con ayuda del espectrofotómetro NanoDrop 2000 (NanoDrop™ Thermo Fisher Scientific Inc. Wilmington, USA).

6.2.4 Evaluación de la integridad de DNA

La integridad del DNA fue evaluada por medio de electroforesis en geles de agarosa al 2%. Se utilizó como buffer de electroforesis TBE 1X. Los pozos del gel se llenaron con una mezcla de 3 µL de DNA y 3 µL de buffer de carga, dejando libre el primer pozo de gel para colocar el marcador de peso molecular de 100 pares bases. El corrimiento electroforético se realizó empleando un voltaje de 86 volts por hora. El gel fue revelado con una solución de bromuro de etidio (0.5g/ml) por dos minutos. Durante el revelado el gel se protegió del Sol. Transcurrido el tiempo se observó el gel en un transiluminador (Multimage™ Light Cabinet, Alpha Innotech Corporation, San Leandro, California) para evaluar la integridad de DNA.

6.2.5 Genotipificación de los alelos de GHR

La genotipificación se realizó utilizando un ensayo de PCR multiplex de punto final descrita por Pantel.²⁹ El ensayo incluye una mezcla de primers, un

primer forward (G1) y dos reverse (G2 y G3), Cuadro 1. G1 y G2 permiten la amplificación de los alelos *GHRd3* con 532 pb, mientras que G1 y G3 amplifican los alelos *GHRfl* con 935 pb. Figura 1^a

Cuadro 1. Primers empleados para genotipificar los alelos para GHR mediante PCR multiplex

| Forward | | Reverse | |
|-----------|----------------------------|-----------|-----------------------------------|
| G1 | 5'-TGTGCTGGTCTGTTGGTCTG-3' | G2 | 5'-AGTCGTTCTGGGACAGAGA-3' |
| | | G3 | 5'-CCTGGATTAACAACACTTTGCAGACTC-3' |

Las condiciones de la PCR se describen a continuación: desnaturalización inicial a 94 °C por 5 minutos, seguido por 35 ciclos que consisten en 94 °C por 1 minuto, 58 °C por 30 segundos, y 72 °C por 90 segundos, seguido de un periodo de extensión final de 72 °C por 10 minutos. Los amplicones se analizaron por medio de electroforesis (a 110 volts por 1 hora) en geles de agarosa al 2% y revelados con bromuro de etidio (0.5 g/ml), el gel se observó a través de un transiluminador (Multimage™ Light Cabinet, Alpha Innotech Corporation, San Leandro, California), Figura 1B.

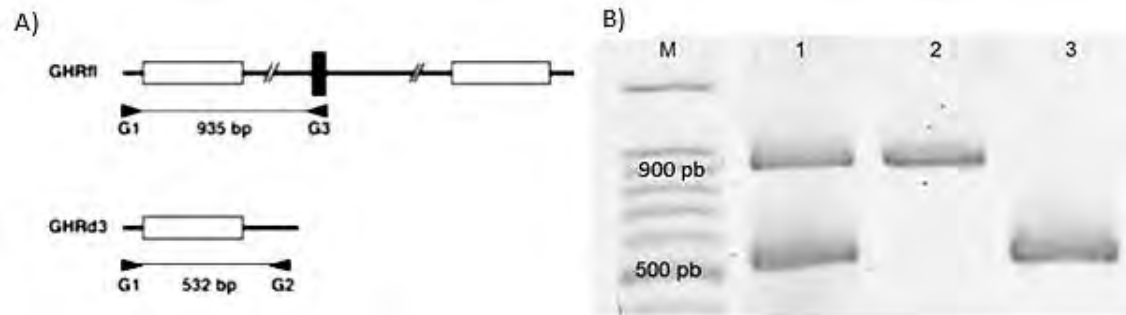


Figura 1. Ensayo para la genotipificación de los alelos del gen *GHR*. **A**, Representación gráfica de las regiones para *GHRfl* y *GHRd3*, la caja negra representa el exón 3, el primer G3 amplifica a partir del exón 3, su amplicón resultante es *GHRfl*, mientras que G2 amplifica antes del exón 3, y su amplicón es *GHRd3*.²⁹ **B**, Electroforesis de productos obtenidos en el ensayo de PCR. M, indica marcador de peso molecular en escalera de 100 pb; 1, genotipo *fl/d3*; 2, genotipo *fl/fl*; 3, genotipo *d3/d3*.

6.2.6 Análisis estadístico

Se verificó el tipo de distribución de las variables cuantitativas para hacer la estadística correspondiente ya sea paramétrica o no paramétrica mediante el uso de pruebas de hipótesis Kolmogorov-Smirnov, así como el cálculo de sesgo y curtosis. Las variables con libre distribución se muestran como mediana y rango. Las variables cualitativas se expresan como frecuencias y porcentajes.

Se formaron dos grupos, el primero se conformó por los pacientes que reduzcan en 10% su exceso de peso y fueron considerados con éxito terapéutico. El segundo grupo fue integrado por los pacientes que no lograron reducir su exceso de peso y se consideraron con fracaso terapéutico.

Se contrastaron los datos clínicos y bioquímicos de ambos grupos en el estado basal de la cohorte. Se utilizó la prueba de χ^2 para contrastar las variables cualitativas mientras que para las variables cuantitativas se utilizó la prueba de U de Mann-Whitney.

La homogeneidad genética de la población fue evaluada mediante el cálculo del equilibrio de Hardy-Weinberg⁴³ a partir de los genotipos observados en cada uno de los grupos. Los intervalos de confianza al 95% de los alelos y los genotipos se estimaron con GraphPad QuickCalcs (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA).

Se determinó la asociación de los alelos y genotipos con el resultado terapéutico calculando riesgos relativos (RR) con intervalos de confianza del 95% (IC95%) para cada uno de los genotipos y alelos. La magnitud de la asociación fue ajustada por las variables estadísticamente significativas en el estado basal mediante una regresión logística múltiple con IC95%.

Se consideró como estadísticamente significativo a las diferencias cuando la $p < 0.05$. Para el análisis de asociación de alelos y genotipos se consideraron estadísticamente significativos cuando el intervalo de confianza al 95% del riesgo relativo no cruzó la unidad, los datos clínicos fueron capturados y analizados con el software SPSS versión 22 (IBM, Chicago, IL, USA).

6.2.7 Potencia estadística

Se estimó la potencia estadística del estudio para determinar la asociación entre la variante genética *GHRd3* y la reducción del 10% del exceso de peso utilizando el programa Quanto versión 1.2.4.⁴⁵ Los datos utilizados fueron una proporción de un paciente que reduce el 10% de su exceso de peso por cada tres que no lo logran, la hipótesis utilizada fue de efecto genético, la frecuencia alélica para *GHRd3* fue considerada entre 0.4 a 0.45, el modelo utilizado fue de tipo Log-Additive, la reducción de peso fue considerada en 25%,⁴⁶ la magnitud del efecto se consideró un valor de OR entre 1.5 y 2, y el tamaño

de la población fue de 215 pacientes con obesidad mórbida. Finalmente, el cálculo se realizó a dos colas. Con estos datos la potencia estadística del estudio es del 94%.

6.2.8 Consideraciones éticas

Para participar en el estudio los pacientes firmaron el consentimiento informado (Anexo 11.2), en la cual se explican los objetivos, procedimientos, los beneficios y riesgos que implica el estudio. Los estudios no tuvieron ningún costo para el paciente. La invitación a participar fue realizada por el monitor clínico del estudio y fue independiente a sus médicos tratantes.

Los registros fueron codificados con un número de folio en la base de datos para que no se conociera la identidad de los pacientes. Las muestras recolectadas también fueron codificadas y resguardadas por la Unidad de Investigación Médica en Endocrinología Experimental del IMSS.

El presente protocolo forma parte de la fase 1 del protocolo “Expresión diferencial del RNAm de las isoformas gh+3 (fl), gh+3 (tr), gh-3 (fl) y gh-3 (tr) del receptor de hormona de crecimiento en tejido adiposo subcutáneo y visceral en adultos con obesidad mórbida” que fue aprobado por el Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud (CLIEIS) del Hospital de Especialidades Dr. Bernardo Sepúlveda del IMSS con folio de Registro R-2013-3601-227.

7. Resultados

Trescientos once pacientes aceptaron participar en el estudio, 219 terminaron el seguimiento de seis meses y 215 fueron genotipificados. Los pacientes con pérdida del seguimiento fueron 92 (29.5%). En el Cuadro 2 se muestran las variables demográficas y clínicas en el estado basal de los pacientes que terminaron el seguimiento a seis meses: 76 (34.7%) redujeron de peso, 166 (75.8%) fueron mujeres, 55 (25.1%) tenían el hábito de fumar, 92 (42.0%) tuvieron con antecedentes heredofamiliares (AHF) de cáncer, 163 (74.4%) tuvieron AHF de obesidad. En cuanto a comorbilidades, 133 (60.7%) tenían hipertensión arterial sistémica (HAS), 95 (43.4%) síndrome de apnea e hipoapnea del sueño (SAHOS), 58 (26.5%) hipotiroidismo, 46 (21.0%) diabetes tipo 2 (DT2), 22 (10.0%) trombosis y 10 (4.6%) isquemia.

No se encontraron diferencias significativas en el estado basal de la cohorte entre los grupos para la edad ($p = 0.967$), el IMC ($p = 0.219$), índice cintura cadera ($p = 0.490$), el género ($p = 0.232$), tabaquismo ($p = 0.332$), la comorbilidad trombosis ($p = 0.789$), SAHOS ($p = 0.806$), isquemia ($p = 0.655$) y DT2 ($p = 0.737$). En contraste, las comorbilidades hipotiroidismo ($p = 0.011$) e hipertensión ($p = 0.017$) mostraron diferencias estadísticas.

En cuanto a los marcadores bioquímicos y hormonales, los pacientes que alcanzaron la reducción del 10% de su exceso de peso mostraron mayores niveles séricos albumina ($p = 0.014$). Además tuvieron cifras menores de LH ($p = 0.046$) y de FSH ($p = 0.007$) con respecto a los pacientes que no redujeron su peso corporal. En los demás parámetros medidos no se observaron diferencias, Cuadro 2.

Las frecuencias genotípicas de *GHR* en el grupo que alcanzó la reducción de peso fueron 0.339, 0.473 y 0.188 para *fl/fl*, *fl/d3* y *d3/d3*, respectivamente. Mientras que las frecuencias genotípicas en el grupo que no redujo de peso fueron 0.291 para *fl/fl*, 0.518 para *fl/d3* y 0.191 para *d3/d3*, Cuadro 3. Las frecuencias alélicas para el alelo *d3* fueron 0.426 y 0.450 para el grupo con reducción de peso y para el grupo sin reducción, respectivamente. No se encontraron desviaciones en el equilibrio de Hardy-Weinberg tanto en el grupo que redujo de peso ($p= 0.78$) como en el grupo que no redujo de peso ($p= 0.59$).

En el análisis bivariado no se encontró asociación entre los genotipos *fl/d3* (RR= 1.272, IC95% [0.671 – 2.412], $p = 0.461$) y *d3/d3* (RR= 1.176, IC95% [0.521 – 2.656], $p = 0.697$) con la reducción de peso en pacientes mórbidos tratados con dieta y ejercicio. Resultados similares se obtuvieron cuando se construyó un modelo de alelo dominante para la variante *d3* (RR= 0.804, IC95% [0.440 – 1.469], $p= 0.477$), Cuadro 4. Para evaluar el papel de las variables confusoras identificados en el estado basal de la cohorte, la magnitud de la asociación fue ajustada en modelos multivariados utilizando una regresión logística múltiple; en cada modelo se incluyó uno de los genotipos (*fl/d3*, *d3/d3* o *fl/d3 + d3/d3*), así como las concentraciones séricas de FSH, LH, albúmina, y la presencia de las comorbilidades hipertensión e hipotiroidismo. Los resultados corroboran lo obtenido en el análisis bivariado donde los genotipos *fl/d3* (OR= 1.328, IC95% [0.474 – 3.718], $p= 0.590$), *d3/d3* (OR= 0.717, IC95% [0.223 – 2.300], $p= 0.576$) y en el modelo dominante para la variante *d3* (OR= 0.958, IC95% [0.391 – 2.348], $p= 0.926$) no están asociados

con la pérdida de peso en pacientes con obesidad mórbida tratados con dieta y ejercicio.

Finalmente, se determinaron los factores de riesgo independientes asociados a la reducción de peso mediante una regresión logística múltiple introduciendo las variables que fueron estadísticamente significativas en el estado basal. El resultado muestra que menores concentraciones séricas de albúmina (OR= 25.609, IC95% [3.631 – 180.6], $p= 0.001$), LH (OR= 1.092, IC95% [1.013 – 1.176], $p= 0.021$) y FSH (OR= 0.879, IC95% [0.813 – 0.950], $p= 0.001$) están asociadas independientemente a la reducción de peso en pacientes con obesidad mórbida tratados con dieta y ejercicio, mientras que las comorbilidades hipotiroidismo (OR= 1.704, IC 95% [0.579 – 5.013], $p= 0.333$) y HAS (OR= 1.622, IC 95% [0.617 – 4.266], $p= 0.327$) no tuvieron asociación, Cuadro 5.

Cuadro 2. Características demográficas y clínicas de los pacientes incluidos en el estudio (N = 219).

| Característica | Todos los pacientes n (%) | Reducción de peso 76 (34.7) | Sin reducción de peso 143 (65.3) | <i>p</i> * |
|--------------------|------------------------------|--------------------------------|-------------------------------------|------------|
| Género, femenino | 166 (75.8) | 54 (71.0) | 110 (77.0) | 0.232 |
| Hipotiroidismo, si | 58 (26.5) | 12 (15.8) | 46 (32.2) | 0.011 |
| SAHOS, si | 95 (43.4) | 31 (40.8) | 64 (44.7) | 0.806 |
| Tabaquismo, si | 55 (25.1) | 22 (28.9) | 33 (23.1) | 0.332 |
| Isquemia, si | 10 (4.6) | 4 (5.3) | 6 (4.2) | 0.655 |
| AHF cáncer, si | 92 (42) | 28 (36.8) | 64 (44.7) | 0.298 |
| AHF obesidad, si | 163 (74.4) | 55 (72.4) | 108 (75.5) | 0.965 |
| HAS, si | 133 (60.7) | 37 (48.7) | 96 (67.1) | 0.017 |
| Trombosis, si | 22 (10) | 8 (10.5) | 14 (9.8) | 0.789 |
| Diabetes, si | 46 (21) | 15 (19.7) | 31 (21.7) | 0.737 |

SAHOS. Síndrome de apnea e hipoapnea obstructiva del sueño; AHF. Antecedentes heredo-familiares; HAS. Hipertensión arterial sistémica. * χ^2

Cuadro 2. Características demográficas y clínicas de los pacientes incluidos en el estudio (continuación)

| Característica | Reducción de peso | | Sin reducción de peso | | <i>p</i> ** |
|------------------------|-------------------|---------------|-----------------------|---------------|-------------|
| | Mediana | Rango | Mediana | Rango | |
| Edad, años | 44 | (19 – 61) | 44 | (17 – 71) | 0.441 |
| IMC, Kg/m ² | 45.63 | (37.4 – 92.1) | 48.3 | (35.5 – 78.7) | 0.116 |
| ICC, cm | 0.91 | (0.64 – 1.45) | 0.91 | (0.65 – 1.16) | 0.546 |
| FSH, mUI/mL | 4.0 | (1.32 – 61.4) | 6.4 | (1.23 – 59.4) | 0.007 |
| LH, mUI/mL | 5.6 | (51.7 – 52.6) | 7.5 | (1.0 – 42.8) | 0.046 |
| GH, ng/mL | 0.14 | (0.1 – 2.3) | 0.19 | (0.1 – 2.5) | 0.790 |
| IGF 1, ng/mL | 104.3 | (10.5– 248.7) | 103.8 | (40.5 – 380) | 0.831 |
| Vit D, ng/mL | 13.6 | (4.4 – 41.3) | 13.7 | (4.0 – 40.9) | 0.850 |
| Glucosa, mg/dL | 98 | (73 – 210) | 102 | (9.8 – 298) | 0.277 |
| Insulina, μ UI/mL | 25.1 | (8.4 – 75.2) | 27.5 | (2.3 – 78.7) | 0.096 |
| HbA1c, % | 6.1 | (0.4 – 10.7) | 6.3 | (4.6 – 11.1) | 0.167 |
| Urea, mg/dL | 29.5 | (16.0 – 54.0) | 30 | (12.0 – 64.0) | 0.456 |
| Creatinina, mg/dL | 0.75 | (0.5 – 1.35) | 0.74 | (0.27 – 2.61) | 0.642 |
| Sodio, mEq/L | 140 | (133 – 147) | 140 | (132 – 146) | 0.447 |
| Potasio, mEq/L | 4.3 | (3.5 – 5.2) | 4.3 | (3.3 – 5.4) | 0.210 |
| Cloro, mEq/L | 102 | (95 – 109) | 101 | (93 – 108) | 0.443 |
| Fósforo, mg/dL | 3.3 | (2.1 – 8.7) | 3.5 | (2.3 – 4.8) | 0.375 |
| Calcio, mg/dL | 9.3 | (3.5 – 10.4) | 9.3 | (8.0 – 11.5) | 0.994 |
| Magnesio, mg/dL | 1.9 | (1.5 – 3.1) | 1.9 | (1.4 – 2.8) | 0.724 |

| | | | | | |
|--------------------|-------|---------------|------|--------------|-------|
| Ácido úrico, mg/dL | 6.2 | (3.9 – 11.6) | 5.9 | (2.8 – 10.4) | 0.223 |
| Colesterol, mg/dL | 174 | (100 – 322) | 183 | (89 – 288) | 0.093 |
| HDL, mg/dL | 42 | (26 – 145) | 43 | (24 – 78) | 0.942 |
| LDL, mg/dL | 102.5 | (44 – 191) | 108 | (45 – 195) | 0.190 |
| TGL, mg/dL | 143 | (32 – 503) | 153 | (44 – 382) | 0.384 |
| BT, mg/dL | 0.59 | (0.22 – 2.05) | 0.47 | (0.2 – 2.4) | 0.163 |
| AST, UI/L | 22.5 | (15 – 81) | 22 | (10 – 79) | 0.588 |
| ALT, UI/L | 26.5 | (11 – 151) | 26.5 | (11 – 157) | 0.502 |
| GGT, UI/L | 29.5 | (11 – 354) | 28 | (7 – 269) | 0.590 |
| DHL, UI/L | 343 | (225 – 787) | 370 | (69 – 553) | 0.258 |
| FA, UI/L | 79 | (43 – 231) | 89 | (35 – 342) | 0.098 |
| Albúmina, g/dL | 4.4 | (4.0 – 5.0) | 4.3 | (3.1 – 5.2) | 0.014 |

IMC. Índice de masa corporal; ICC. Índice cintura cadera; FSH. Hormona folículo estimulante; LH. Hormona Luteinizante; GH. Hormona del crecimiento; IGF-1. Factor insulínico del crecimiento 1; Vit D. Vitamina D; HbA1c. Hemoglobina glicosilada; HDL. Lipoproteínas de alta densidad; LDL. Lipoproteínas de baja densidad; TGL. Triglicéridos; AST. Aspartato amino transferasa; ALT. Alanina aminotransferasa; GGT. Gamma glutamil transpeptidasa; DHL. Deshidrogenasa láctica; FA. Fosfatasa alcalina. **U de Mann-Whitney.

Cuadro 3. Frecuencias alélicas y genotípicas de *GHR* (n = 215)

| | Reducción de peso | | | Sin reducción de peso | | |
|-------------------|-------------------|----------------------|---------------|-----------------------|----------------------|---------------|
| | n | Frecuencia Observada | IC 95% | n | Frecuencia observada | IC 95% |
| Genotipos* | | | | | | |
| <i>fl/fl</i> | 25 | 0.339 | 0.240 – 0.451 | 41 | 0.291 | 0.222 – 0.357 |
| <i>fl/d3</i> | 35 | 0.473 | 0.363 – 0.585 | 73 | 0.518 | 0.436 – 0.599 |
| <i>d3/d3</i> | 14 | 0.188 | 0.115 – 0.294 | 27 | 0.191 | 0.135 – 0.265 |
| Alelos | | | | | | |
| <i>fl</i> | 85 | 0.574 | 0.507 – 0.639 | 155 | 0.550 | 0.491 – 0.598 |
| <i>d3</i> | 63 | 0.426 | 0.349 – 0.506 | 127 | 0.450 | 0.393 – 0.509 |

*En equilibrio de Hardy-Weinberg.

Cuadro 4. Asociación de *GHRd3* con la pérdida de peso en pacientes con obesidad mórbida

| Variante genética | RR [IC 95%], <i>p</i> | RR*[IC 95%], <i>p</i> |
|----------------------|------------------------------|------------------------------|
| <i>fl/fl</i> | 1 | 1 |
| <i>fl/d3</i> | 1.272 [0.671 – 2.412], 0.461 | 1.328 [0.474 – 3.718], 0.590 |
| <i>d3/d3</i> | 1.176 [0.521 – 2.656], 0.697 | 0.717 [0.223 – 2.300], 0.576 |
| <i>fl/d3 + d3/d3</i> | 0.804 [0.440 – 1.469], 0.477 | 0.958 [0.391 – 2.348], 0.926 |

*Ajustado por albúmina, FSH, LH, HAS e hipotiroidismo.

Cuadro 5. Factores de riesgo independientes para la reducción de peso en pacientes con obesidad mórbida (n= 219).

| Característica | OR [IC 95%], <i>p</i> |
|-----------------------|-------------------------------|
| Albúmina | 25.609 [3.631 – 180.6], 0.001 |
| LH | 1.092 [1.013 – 1.176], 0.021 |
| FSH | 0.879 [0.813 – 0.950], 0.001 |
| Hipotiroidismo | 1.704 [0.579 – 5.013], 0.333 |
| HAS | 1.622 [0.617 – 4.266], 0.327 |

LH, hormona luteinizante; FSH, hormona folículo estimulante, HAS, hipertensión arterial sistémica.

8. Discusión

La prevalencia de la obesidad mórbida ha ido aumentando hasta alcanzar el 3% de nuestra población.⁶ Esta circunstancia, incrementa el riesgo de padecer otras patologías que generan un mayor costo en la atención, así como disminución en la calidad de vida de los pacientes.

Debido a lo complejo de la enfermedad, se han implementado distintas intervenciones terapéuticas para que los pacientes regresen a su peso ideal. En este sentido, el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI implementó la Clínica de Obesidad Mórbida que atiende de forma integral alrededor de 350 pacientes, mediante la colaboración de distintas especialidades como endocrinología, cirugía bariátrica, psiquiatría, nutrición y psicología. El tratamiento inicial está conformado por la orientación nutricional y una rutina de ejercicio confeccionada *ad hoc* con el objetivo de que cada paciente reduzca el 10% del exceso de peso para disminuir el riesgo cardiovascular y así poder someter al paciente a cirugía bariátrica. Sin embargo, la mayoría de los pacientes no alcanzan esta reducción, en consecuencia los pacientes son inelegibles para cirugía

Resultados obtenidos de un ensayo clínico aleatorizado muestran que la eficacia de la intervención inicial con dieta y ejercicio es del 25% para alcanzar una reducción del 10% del peso corporal a los seis meses de seguimiento en pacientes con obesidad tipo II y III.⁴⁶ La efectividad observada en nuestra cohorte fue del 35% para la reducción del 10% del exceso de peso en pacientes con obesidad mórbida. No obstante, si consideramos a los pacientes que abandonaron el seguimiento, la efectividad es del 24.4%. Resultado similar

a lo observado en el ensayo clínico. En contraste, Ramon-Krauel y colaboradores no encontraron reducción del 10% del exceso de peso con modificación de la dieta en niños de 8 a 17 años.⁴⁷ Resulta interesante que pocos son los estudios diseñados para cuantificar los efectos de la intervención con dieta y ejercicio.

Dos tercios de los pacientes con obesidad mórbida no logran la reducción de peso, este hecho permite pensar que hay factores no nutricionales, probablemente genéticos, que se encuentran involucrados en la reducción de peso. La variante genética *GHRd3* ha demostrado *in vitro* que codifica un GHR con mayor capacidad de transducción de la señal de GH,³⁵ que sugiere mayor sensibilidad a la hormona y en consecuencia una activación más eficiente de la vía que se puede traducir en mayor lipólisis. En la clínica, se han observado diferencias en la pérdida de tejido adiposo en pacientes deficientes de GH tratados con la hormona exógena.²

Sin embargo, nuestros resultados no muestran asociación entre la presencia de la variante genética *GHRd3* con la reducción de peso en pacientes con obesidad mórbida tratados con dieta y ejercicios. La falta de asociación entre los portadores de la variante genética *GHRd3* ha sido observada con otros fenotipos. El genotipo *GHR fl/d3* no mostró asociación con el ritmo de crecimiento en niños prepúberes de talla baja con niveles normales de GH, que habían nacido con talla corta para la edad gestacional, estimulados con GH exógena.⁴⁸ Blum y colaboradores no observaron diferencias en el ritmo de crecimiento y los portadores de la variante *GHRd3* en pacientes pediátricos nacidos con talla corta para edad gestacional o con estatura corta idiopática estimulados con GH de diversas nacionalidades.⁴⁹

En sentido opuesto, Gao y colaboradores reportaron que niños chinos con obesidad portadores de la variante *GHRd3* presentaban menor IMC que aquellos portadores de *GHRfl*.⁴ Por lo tanto, la implicación funcional del variante *GHRd3* en la obesidad mórbida sigue siendo controversial.

Dentro de nuestra población de estudio, se encontró que una menor concentración sérica de la FSH es un factor de riesgo independiente para la reducción de peso en pacientes con obesidad mórbida. Recientemente Łokieć y colaboradores demostraron que mujeres con obesidad y sobrepeso que lograban reducir de peso, también reducían sus niveles de la FSH.⁵⁰ Nuestros resultados apoyan esta evidencia y sugieren que pacientes con menores concentraciones séricas de FSH al inicio del tratamiento tienen mayor probabilidad de pérdida de peso. No obstante, hallazgos realizados en niños en etapa puberal, muestran que aquellos con un peso ideal, presentan niveles mayores de la FSH ($p= 0.041$).⁵¹ Esta diferencia en los resultados sugiere que el papel de la FSH, en el peso corporal, puede ser distinta entre adolescentes y adultos con obesidad mórbida.

En estudios previos, la pérdida de peso como objetivo terapéutico demuestra la mejora en la función del hígado,⁵² Woo Baidal y Lavine reportaron una disminución en la esteatosis hepática por reducción de 3 a 5% del peso en pacientes obesos, una disminución de la inflamación hepatocelular e incluso revierte la esteatohepatitis no alcohólica y la fibrosis.⁵³ A partir de nuestra población de estudio, la albúmina sobresale como un factor de riesgo independiente del éxito en la reducción de peso, siendo esta una de las seis variables considerada para identificar o excluir fibrosis del hígado.⁵⁴

No obstante Angulo y colaboradores,⁵⁵ descartan a la albúmina como una variable que refleja la condición del hígado.

Nascimento y colaboradores,⁵⁴ realizaron un análisis de los valores clínicos preoperatorios, y postoperatorios de cirugía bariátrica en periodos de seis y doce meses, en dos grupos provenientes de hospitales de red privada y pública, donde de forma interesante no existe diferencia en los valores de albúmina en los pacientes a través del tiempo, aun cuando existe una reducción de peso.

9. Conclusiones

- Nuestros resultados sugieren que la variante genética *GHRd3* no está asociada con la pérdida de peso en pacientes con obesidad mórbida tratadas con dieta y ejercicio.
- Interesantemente, las concentraciones séricas de albúmina, LH y FSH son factores de riesgo independientes para la reducción de peso en pacientes con obesidad mórbida tratados con dieta y ejercicio.

10. Perspectivas

1. Explorar la asociación entre variantes genéticas presentes en genes que codifican proteínas involucradas en la vía de la GH, como puede ser IGF-1, y la reducción de peso en pacientes con obesidad mórbida.
2. Determinar el papel de las concentraciones séricas de FSH, LH y albúmina en la reducción de peso en pacientes con sobrepeso y obesidad, tanto en pacientes adultos como en niños.

12. Referencias Bibliográficas

1. Organización Mundial de la Salud. Obesidad y sobrepeso. 2015 [actualizado enero de 2015]; Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>.
2. Goncalves CG, Glade MJ, Meguid MM. Metabolically healthy obese individuals: Key protective factors. *Nutrition*. 2016; 32(1):14-20.
3. A. RT. Ejercicio físico en un programa de adelgazamiento para personas con un sobrepeso moderado. *La Medicina Hoy*. 2002.
4. Gao L, Zheng Z, Cao L, Shen S, Yang Y, Zhao Z, *et al*. The growth hormone receptor (GHR) exon 3 polymorphism and its correlation with metabolic profiles in obese Chinese children. *Pediatr Diabetes*. 2011; 12(4 Pt 2):429-34.
5. Strawbridge RJ, Karvestedt L, Li C, Efendic S, Ostenson CG, Gu HF, *et al*. GHR exon 3 polymorphism: association with type 2 diabetes mellitus and metabolic disorder. *Growth Horm IGF Res*. 2007; 17(5):392-8.
6. Barquera S, Campos-Nonato I, Hernandez-Barrera L, Pedroza A, Rivera-Dommarco JA. [Prevalence of obesity in Mexican adults 2000-2012]. *Salud Publica Mex*. 2013; 55 (2):151-160.
7. Prevención, Diagnóstico y Tratamiento del Sobrepeso y la Obesidad Exógena, IMSS-046-08. Sect. E66X (2011).
8. Intervención Dietética. Pacientes con Obesidad, (2013).
9. Secretaría de Salud. Tratamiento Quirúrgico del Paciente Adulto con Obesidad Mórbida. In: General CdS, editor.: CENETEC; 2009. p. 70.
10. Kelly AS, Barlow SE, Rao G, Inge TH, Hayman LL, Steinberger J, *et al*. Severe obesity in children and adolescents: identification, associated health risks, and treatment approaches: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2013; 128(15):1689-712.
11. Krishna SG, Hinton A, Oza V, Hart PA, Swei E, El-Dika S, *et al*. Morbid Obesity Is Associated With Adverse Clinical Outcomes in Acute Pancreatitis: A Propensity-Matched Study. *Am J Gastroenterol*. 2015; 110(11):1608-19.
12. Tsai A, Schumann R. Morbid obesity and perioperative complications. *Curr Opin Anaesthesiol*. 2016; 29(1):103-8.
13. Epstein LH, Roemmich JN, Raynor HA. Behavioral therapy in the treatment of pediatric obesity. *Pediatr Clin North Am*. 2001; 48(4):981-93.

14. Secretaria de Salud. NORMA Oficial Mexicana NOM-037SSA2-2012, Para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias, (2012).
15. Reinehr T. Lifestyle intervention in childhood obesity: changes and challenges. *Nat Rev Endocrinol*. 2013; 9(10):607-14.
16. NHMRC. Clinical Practice Guidelines for the management of Overweight and Obesity in Adults. Australia. 2013.
17. Tsai AG, Juarez-Colunga E, Felton S, Speer RB, Bessesen DH, Atherly AJ. Medication costs during an 18 month clinical trial of obesity treatment among patients encountered in primary care. *BMC Obes*. 2015 (2):24.
18. VA/DoD. Management of Obesity and Overweight. 2014.
19. D'Hondt M, Vanneste S, Pottel H, Devriendt D, Van Rooy F, Vansteenkiste F. Laparoscopic sleeve gastrectomy as a single-stage procedure for the treatment of morbid obesity and the resulting quality of life, resolution of comorbidities, food tolerance, and 6-year weight loss. *Surg Endosc*. 2011; 25(8):2498-504.
20. Sapala JA, Wood MH, Sapala MA, Flake TM, Jr. Marginal ulcer after gastric bypass: a prospective 3-year study of 173 patients. *Obes Surg*. 1998; 8(5):505-16.
21. Miller WL & Eberhardt NL. Structure and evolution of the growth hormone gene family. *Endocr Rev*. 1983; 4(2):97-130.
22. NCBI. GH1 growth hormone 1 [Homo sapiens (human)]. Gene: NCBI; 2016 [Actualizado 14-Feb-2016; citado 14-02-2016]; disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2688>.
23. Giustina A, Veldhuis JD. Pathophysiology of the neuroregulation of growth hormone secretion in experimental animals and the human. *Endocr Rev*. 1998; 19(6):717-97.
24. McKusick VA. GROWTH HORMONE 1; GH1. OMIM: Johns Hopkins University; 2016 [citado 14 de febrero de 2016].
25. Vahl N, Jorgensen JO, Skjaerbaek C, Veldhuis JD, Orskov H, Christiansen JS. Abdominal adiposity rather than age and sex predicts mass and regularity of GH secretion in healthy adults. *Am J Physiol*. 1997; 272(6 Pt 1):E1108-16.

26. Franco C, Bengtsson BA, Johannsson G. The GH/IGF-1 Axis in Obesity: Physiological and Pathological Aspects. *Metab Syndr Relat Disord*. 2006; 4(1):51-6.
27. Johannsson G, Marin P, Lonn L, Ottosson M, Stenlof K, Bjorntorp P, *et al*. Growth hormone treatment of abdominally obese men reduces abdominal fat mass, improves glucose and lipoprotein metabolism, and reduces diastolic blood pressure. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997; 82(3):727-34.
28. Godowski PJ, Leung DW, Meacham LR, Galgani JP, Hellmiss R, Keret R, *et al*. Characterization of the human growth hormone receptor gene and demonstration of a partial gene deletion in two patients with Laron-type dwarfism. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1989; 86(20):8083-7.
29. Postel-Vinay MC, Finidori J. Growth hormone receptor: structure and signal transduction. *Eur J Endocrinol*. 1995;133(6):654-9.
30. Mercado M, DaVila N, McLeod JF, Baumann G. Distribution of growth hormone receptor messenger ribonucleic acid containing and lacking exon 3 in human tissues. *J Clin Endocrinol Metab*. 1994; 78(3):731-5.
31. Pantel J, Machinis K, Sobrier ML, Duquesnoy P, Goossens M, Amselem S. Species-specific alternative splice mimicry at the growth hormone receptor locus revealed by the lineage of retroelements during primate evolution. *J Biol Chem*. 2000; 275(25):18664-9.
32. Glad CA, Carlsson LM, Melander O, Almgren P, Sjostrom L, Nilsson S, *et al*. The GH receptor exon 3 deleted/full-length polymorphism is associated with central adiposity in the general population. *Eur J Endocrinol*. 2015; 172(2):123-8.
33. Gahete MD, Cordoba-Chacon J, Lantvit DD, Ortega-Salas R, Sanchez-Sanchez R, Perez-Jimenez F, *et al*. Elevated GH/IGF-I promotes mammary tumors in high-fat, but not low-fat, fed mice. *Carcinogenesis*. 2014; 35(11):2467-73.
34. Berryman DE, List EO, Sackmann-Sala L, Lubbers E, Munn R, Kopchick JJ. Growth hormone and adipose tissue: beyond the adipocyte. *Growth Horm IGF Res*. 2011; 21(3):113-23.
35. Urbanek M, MacLeod JN, Cooke NE, Liebhaber SA. Expression of a human growth hormone (hGH) receptor isoform is predicted by tissue-specific

alternative splicing of exon 3 of the hGH receptor gene transcript. *Mol Endocrinol.* 1992; 6(2):279-87.

36. Sperling MA. Traditional and novel aspects of the metabolic actions of growth hormone. *Growth Horm IGF Res.* 2016; 28:69-75.

37. Renehan AG, Solomon M, Zwahlen M, Morjaria R, Whatmore A, Audi L, *et al.* Growth hormone receptor polymorphism and growth hormone therapy response in children: a Bayesian meta-analysis. *Am J Epidemiol.* 2012; 175(9):867-77.

38. Alexander A. L. Jorge FGM, Luciana R. Montenegro, Luciani R. Carvalho. Growth Hormone (GH) Pharmacogenetics: Influence of GH Receptor Exon 3 Retention or Deletion on First-Year Growth Response and Final Height in Patients with Severe GH Deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91(3):1076-80.

39. Bengtsson BA, Eden S, Lonn L, Kvist H, Stokland A, Lindstedt G, *et al.* Treatment of adults with growth hormone (GH) deficiency with recombinant human GH. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993; 76(2):309-17.

40. Passarge E. Genética, textos y atlas. 2a ed. Argentina: Editorial Médica Panamericana S.A.; 2004.

41. Villaverde FJN. Genética Humana: Pearson Prentice Hall; 2007.

42. Michael A. Innis DHG. PCR Applications, protocols for functional genomics 1999. p.566.

43. Santiago Rodriguez TRGal. Hardy-Weinberg Equilibrium Testing of Biological Ascertainment for Mendelian Randomization Studies. *Am J Epidemiol.* 2009.

44. IBM. IBM SPSS Statistics. 22 ed. Chicago, IL. USA: International Business Machines Corp.; 2013.

45. A Gauderman WJ JM. QUANTO. 1.2.4 ed 2009. p. A computer program for power and sample size calculations for genetic epidemiology studies.

46. Bret H. Goodpaster JPD, Amy D. Otto, Lewis Kuller, Jerry Vockley, Jeannette E. South-Paul, Stephen B. Thomas, *et al.* Effects of Diet and Physical Activity Interventions on Weight Loss and Cardiometabolic Risk Factors in Severely Obese Adults. *JAMA.* 2010; 304(16):1795-802.

47. Marta Ramon-Krauel SLS, Cara B. Ebbeling, Stephan D. Voss, Robert V. Mulkem, Margaret M. Apura, Emily A. Cooke, Karen Sarao, Maureen M. Jonas,

David S. Ludwig. A Low-Glycemic-Load versus Low-Fat Diet in the Treatment of Fatty Liver in Obese Children. *Child Obes.* 2013; 9(3):252-60.

48. Carrascosa A, Esteban C, Espadero R, Fernández-Cancio M, Andaluz P, Clemente M, *et al.* The d3/fl-Growth Hormone (GH) Receptor Polymorphism Does Not Influence the Effect of GH Treatment (66 µg/kg per Day) or the Spontaneous Growth in Short Non-GHDeficient Small-for-Gestational-Age Children: Results from a Two-Year Controlled Prospective Study in 170 Spanish Patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91(9):3281-6.

49. Blum WF, Machinis K, Shavrikova EP, Keller A, Stobbe H, Pfaeffle RW, Amselem S. The growth response to growth hormone (GH) treatment in children with isolated GH deficiency Is independent of the presence of the exon 3-minus isoform of the GH receptor. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91(10):4171-4.

50. Łokieć K BA, Walecka-Kapica E, Stec-Michalska K. Effect of treatment with diet on reducing levels of sex hormones in perimenopausal women with overweight and obesity. *Pol Merkur Lekarski.* 2016; 40(240):362-8.

51. Sørensen K, Juul A. BMI percentile-for-age overestimates adiposity in early compared with late maturing pubertal children. *Eur J Endocrinol.* 2015; 173(2)227-35.

52. Pestana L, Swain J, Dierkhising R, Kendrick ML, Kamath PS, Watt KD. Bariatric surgery in patients with cirrhosis with and without portal hypertension: a single-center experience. *Mayo Clin Proc.* 2015; 90(2):209-15

53. Woo Baidal JA, Lavine JE. The intersection of nonalcoholic fatty liver disease and obesity. *Sci Transl Med.* 2016; 8(323):1-12.

54. Nascimento TM, Alves-Júnior A, Nunes MA, de Freitas TR, da Silva MA, Alves MR. Comparison of hepatic profile in pre and postoperative of bariatric surgery: Private vs public network. *Arg Bras Cir Dig.* 2015; 28(4):274-7.

55. Angulo N, de Szarvas SB, Guevara H, González D, Hernández A.. [Test of liver function in obese school children]. *Invest Clin.* 2015; 56(1):13-24.

11. Anexos

11.1 Hoja de recolección de datos

Protocolo: "EXPRESIÓN DIFERENCIAL DEL RNA_m DE LAS DISTINTAS ISOFORMAS DEL RECEPTOR DE GH EN TEJIDO ADIPOSO SUBCUTÁNEO Y VISCERAL EN ADULTOS CON OBESIDAD MÓRBIDA."

Fecha de captura inicial: .

| | | | | |
|-----------------|--|---------|---|---|
| Nombre | | Sexo | M | F |
| Afiliación | | F. Nac. | | |
| # paciente base | | Edad | | |

Antecedentes familiares, personales patológicos y exploración física

Historia familiar de obesidad: si /no

| | | | |
|------------------------|---|-------------|--|
| Diabetes | | Peso | |
| Hipertensión | | Talla | |
| Dislipidemia | | IMC | |
| TA | / | P. cadera | |
| P. cintura | | Cardiopatía | |
| E. vascular periférica | | EVC | |
| Otras patologías | | | |
| Motivo de cirugía | | | |

Estudios generales

| | | | | | |
|--------------|--|---------------|--|---------|--|
| GH | | Triglicéridos | | C-LDL | |
| IGF-1 | | Colesterol | | C-HDL | |
| Glucosa | | Insulina | | LH | |
| HbA1c | | HOMA | | FSH | |
| T/E2 | | TSH | | T4Libre | |
| TNF α | | IL-6 | | | |

¿Cumplió criterios de inclusión, sin exclusión o eliminación? si /no

Resultados de laboratorio

| | |
|--------|--|
| +3/-3 | |
| fl/ tr | |

Comentarios:

11.2 Carta de consentimiento informado



CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO



México, D.F. a _____

Por medio del presente, yo (nombre) _____ acepto participar en el proyecto de investigación, "**EXPRESIÓN DIFERENCIAL DEL RNAm DE LAS DISTINTAS ISOFORMAS DEL RECEPTOR DE GH EN TEJIDO ADIPOSEO SUBCUTÁNEO Y VISCERAL EN ADULTOS CON OBESIDAD MÓRBIDA**", registrado ante el Comité Local de Investigación del Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, con el número _____.

El objetivo de este estudio es determinar el tipo de receptores de hormona de crecimiento que expresan las células de mi sangre y mi tejido graso y asociar estos datos con otros estudios de laboratorio y estudios generales que me realizarán durante el proceso de mi cirugía.

Se me ha explicado que mi participación en la investigación consiste en autorizar que se realicen análisis moleculares al tejido graso que se me extirpa durante la cirugía y a las muestras de sangre que se obtendrán para esto y que con los resultados obtenidos se forme un banco de datos y tejidos que podrían usarse para investigaciones relacionadas con este estudio. Pero que la información personal y la identificación de mi persona permanecerán confidenciales por mi seguridad.

Se me ha comentado que los resultados de estos estudios aún no pueden ser asociados con ninguna enfermedad específica en mi persona o familia, por lo cual, los resultados de estos estudios no modificarán mi tratamiento, mi pronóstico ni el manejo de salud en mi o en mis familiares o personas con las que convivo de manera cotidiana. Por esta misma causa, no es necesario que se me indique una cita para consejería genética derivada de estos resultados.

Declaro que se me ha informado ampliamente que este estudio no implica ningún riesgo para mi salud, ni procedimientos adicionales a los habituales para mi enfermedad.

La información molecular obtenida es específica de las células indicadas por lo que no se obtendrá mayor información genética de mi persona. No hay un beneficio personal inmediato de participar en este estudio, pero el beneficio a largo plazo con los resultados moleculares del estudio pueden ser un adelanto científico que mejore el manejo de otros pacientes con esta enfermedad.

Manifiesto que mi participación es voluntaria, sin remuneración económica y entiendo que conservo el derecho de negarme a participar en el estudio o retirar mi consentimiento durante el proceso, sin que ello afecte la atención médica que recibo en el Instituto.

El investigador principal me ha asegurado que mis datos serán manejados en forma confidencial en las presentaciones o publicaciones de este estudio y que en todo momento se respetará mi privacidad.

Nombre y firma del paciente

Investigador

Nombre y firma del testigo

Nombre y firma del testigo