



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO HOSPITAL INFANTIL
DE MEXICO FEDERICO GOMEZ

**FRECUENCIA DE POLIMORFISMOS DE ADIPOQ
276 Y ADIPOQ 45 EN ADOLESCENTES OBESOS Y
EUTRÓFICOS CON Y SIN ASMA Y SU RELACIÓN
CON LOS NIVELES DE ADIPONECTINA
PLASMÁTICA.**

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
ESPECIALISTA EN:

ALERGÍA E INMUNOLOGÍA CLINICA PEDIÁTRICA

P R E S E N T A
DRA. PAOLA DE BARO ALVAREZ

DIRECTOR DE TESIS:
DRA. BLANCA ESTELA DEL RIO NAVARRO

ASESOR DE TESIS:
DRA. ELSY MAUREEN NAVARRETE RODRIGUEZ
DR. JUAN JOSÉ LUIS SIENRA MONGE

MÉXICO D.F. Febrero 2015





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).

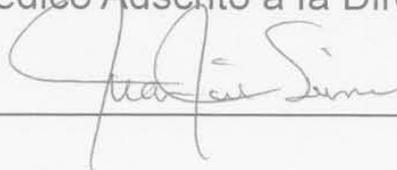
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

Dr. Rebeca Gómez Chico Velazco
Directora de Enseñanza y Desarrollo Académico

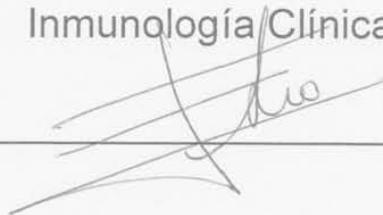
Dra. Blanca Estela Del Río Navarro
Jefa del Departamento de Alergia e Inmunología
Clínica Pediátrica



Dr. Juan José Luis Sierra Monge
Médico Adscrito a la Dirección de Investigación



Dra. Elsy Maureen Navarrete Rodríguez
Médico Adscrito al Departamento de Alergia e
Inmunología/Clínica Pediátrica





Dr. Omar Josué Saucedo Ramírez
Médico Adscrito al Departamento de Alergia e
Inmunología Clínica Pediátrica

Dr. José Manuel Rodríguez Pérez
Departamento de Biología Molecular,
Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”

M. en C. Nonantzi Iracema Pérez Hernández,
Departamento de Biología Molecular,
Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”

Dr. Miguel Angel Rosas Vargas
Ex Médico Adscrito al Departamento de Alergia e
Inmunología Clínica Pediátrica



A mis papás, a mi manis y a ti que lees esto.
Por que sin ustedes no sería nada de lo que hoy he logrado ser

ÍNDICE

| | | |
|-------|--|----|
| I. | Introducción ----- | 1 |
| II. | Marco teórico ----- | 1 |
| III. | Antecedentes ----- | 5 |
| IV. | Planteamiento del problema ----- | 10 |
| V. | Pregunta de investigación ----- | 11 |
| VI. | Justificación ----- | 11 |
| VII. | Objetivos: general y específicos ----- | 12 |
| VIII. | Hipótesis ----- | 12 |
| IX. | Material y métodos ----- | 13 |
| X. | Plan de análisis estadístico ----- | 19 |
| XI. | Descripción de variables ----- | 19 |
| XII. | Resultados ----- | 21 |
| XIII. | Discusión ----- | 27 |
| XIV. | Conclusiones ----- | 29 |
| XV. | Cronograma de actividades ----- | 30 |
| XVI. | Referencias bibliográficas ----- | 31 |

| | | |
|--------|--------------------------------|----|
| XVII. | Limitaciones del estudio ----- | 34 |
| XVIII. | Anexos ----- | 35 |

I. INTRODUCCIÓN

La obesidad es una enfermedad crónica que ha alcanzado proporciones epidémicas en el mundo. De acuerdo a la Organización mundial de la Salud (WHO), más de un millón de adultos tienen sobrepeso y por lo menos 300 millones son obesos (con un índice de masa corporal mayor a 30 kg/m^2)¹.

La obesidad y el asma son enfermedades que se han relacionado debido a que las dos comparten un microambiente inflamatorio ya que el tejido adiposo no sólo es un órgano de reserva, también un órgano endócrino capaz de liberar hormonas, péptidos y citocinas para efecto del estatus energético y del sistema inmune, dentro de estas sustancias se incluye a la leptina, adiponectina y el inhibidor del activador del plasminógeno-1 entre otros^{2,3}, la adiponectina es una de las proteínas antiinflamatorias más estudiadas y se ha observado que ciertos polimorfismos guardan una relación estrecha con estas dos enfermedades.

II. MARCO TEÓRICO

La obesidad es una enfermedad crónica que ha alcanzado proporciones epidémicas en el mundo. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (WHO), más de un millón de adultos tienen sobrepeso y por lo menos 300 millones son obesos (con un índice de masa corporal mayor a 30 kg/m^2)¹. El aumento en la tasa de obesidad y su consecuente morbilidad, representa una mayor epidemia mundial y amenaza con quebrantar el sistema de atención de salud. Durante las últimas dos décadas se ha observado un aumento sostenido de la prevalencia de asma y obesidad en muchos países y diversos estudios epidemiológicos han relacionado ambas entidades⁴⁻⁷. En México, de acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud del 2000 (ENSA)⁸ y a la encuesta Nacional de Salud y Nutrición de 2012 (ENSANUT 2012)⁹ indican que el sobrepeso y la obesidad en adolescentes representa el 35% del total, esto indica que más de uno de cada cinco adolescentes tiene sobrepeso y uno de cada diez presenta obesidad. Los determinantes sociales, ambientales, culturales y genéticos de la obesidad, tales como la disminución de la actividad física, adopción de hábitos sedentarios, cambios en los hábitos alimenticios y el aumento en el consumo de alimentos hipercalóricos ricos en grasas saturadas son considerados responsables del incremento en la prevalencia de la obesidad¹⁰⁻¹². Una medida clínica y epidemiológica adecuada de la adiposidad es el índice de masa corporal (IMC), el cual se calcula dividiendo el peso entre el cuadrado de la altura (peso kg/talla m^2)¹³⁻¹⁶. La obesidad en niños y adolescentes se identifica cuando el IMC está por encima del percentil 95^o y la obesidad mórbida se considera cuando el IMC es \geq

percentil 99º de los valores de referencia para edad y género, según las tablas de los Centros de Control de Enfermedades de Estados Unidos (CDC, por sus siglas en inglés)¹⁵.

La relación entre el asma y la obesidad es secundario a un aumento de la masa en la pared torácica en el obeso ocasionando capacidad residual funcional inferior a la normal, que resulta en una disminución del diámetro de las vías aéreas. Factores adicionales como el microambiente inflamatorio relacionado con la obesidad debe también ser involucrado. El tejido adiposo en humanos es una fuente de mediadores inflamatorios que pueden ser implicados en la fisiopatología del asma. Esto incluye a la leptina, adiponectina y el inhibidor del activador del plasminógeno-1¹⁷. El asma es un síndrome clínico caracterizado por una alteración compleja y crónica de la vía aérea con obstrucción de la misma, hiperreactividad bronquial e inflamación que se manifiesta por síntomas recurrentes de tos, sibilancias y disnea¹⁸. En el estudio Internacional de Asma y Alergia en niños ISAAC Fase III B (por sus siglas en inglés: International Study of Allergy and Asthma in Childhood), la mayoría de los países, incluido México, tuvieron un incremento en la prevalencia de síntomas de asma en las edades de 13 a 14 años¹⁹. Similares son las cifras encontradas en el norte del Distrito Federal (DF), donde la prevalencia de síntomas de asma durante los últimos 12 meses fue de 6.8% (IC 95% 5.9-7.6) en niños de 6-7 años de edad y en 9.9% (IC 95% 9.0-10.8) de los adolescentes de 13-14 años de edad²⁰, lo cual implica que, si bien el asma en nuestro país se reporta en cifras intermedias en comparación a otros países de América Latina, sigue siendo un problema relevante de salud. Varios estudios epidemiológicos^{21,22}, tanto en adultos como en niños, han confirmado la existencia de esta conexión entre la obesidad y la incidencia/prevalencia del asma, independientemente de la dieta, la actividad física o la condición alérgica; esta influencia ocurre principalmente con el asma y con la hiperreactividad bronquial pero no con otras enfermedades alérgicas.

Desde el punto de vista pulmonar la obesidad tiene un efecto en la mecánica ventilatoria pulmonar, al producir una disminución del volumen corriente y de la capacidad residual funcional, que va de acuerdo al grado de adiposidad, de ahí que las mayores alteraciones de la función pulmonar sean observadas en los pacientes obesos mórbidos. Dependiendo del grado de adiposidad el patrón restrictivo de la vía aérea se caracterizará por una disminución de la Capacidad Funcional Residual (CFR) y de la Capacidad Funcional Total (CPT)²². Con respecto a los volúmenes, estos pueden ser normales o estar discretamente reducidos. El depósito de grasa puede originar una reducción en el estiramiento del músculo liso y de esta forma afectar la habilidad para responder al estrés fisiológico como el ejercicio, que se ve obstaculizado por el pequeño volumen corriente, lo que altera la contracción del músculo liso. Este tiene un ciclo de excitación y contracción, pero en los obesos estos ciclos son más cortos, lo que asociado a su capacidad funcional disminuida origina una conversión de los ciclos

rápidos de actina-miosina hacia ciclos más lentos²³. Con respecto al paciente asmático, se observa un predominio del patrón obstructivo por disminución de la relación del VEF1 entre la CVF o índice de Tiffeneau (VEF1/CVF)²⁴. En los niños obesos asmáticos se ha demostrado una relación inversa entre el IMC y el índice de Tiffeneau (VEF1/CVF)²⁵, con un incremento de 5 unidades del IMC asociado a una disminución del 1% en el índice de Tiffeneau, lo cual parece apoyar una relación entre la gravedad de un patrón respiratorio obstructivo con la obesidad en pacientes asmáticos.

Un hecho consistente es que al disminuir de peso disminuyen los síntomas de asma, el uso de medicamentos para controlar el asma, la capacidad pulmonar total, la capacidad residual funcional y el volumen de reserva espiratoria,^{26,27} e inclusive, puede haber un incremento del VEF1 con cambios en el índice de Tiffeneau, que refleje el impacto positivo sobre los volúmenes pulmonares. Otro efecto de la disminución de peso en los asmáticos obesos es el menor uso de fármacos broncodilatadores y de la variabilidad en el Flujo Espiratorio Máximo (PEF). Así se ha demostrado que la obesidad por sí misma puede empeorar la función pulmonar y causar mayor sintomatología en pacientes asmáticos²⁸⁻³⁰ y la disminución de peso puede mejorar diversas variables del asma. Además de las alteraciones en la función pulmonar, presentes en los obesos asmáticos y obesos no asmáticos, se presentan similares complicaciones inherentes a la obesidad, como es el caso de alteraciones metabólicas en la glicemia, presión arterial, lípidos y la resistencia a la insulina causada por la inflamación sistémica sostenida de bajo grado característica de la obesidad³¹⁻³⁶

El tejido adiposo no sólo es un órgano de reserva; también un órgano endócrino capaz de liberar hormonas, péptidos y citocinas (adipocinas) para efecto del estatus energético y del sistema inmune^{2,3}. Se ha identificado que las adipocinas pro-inflamatorias, tanto circulantes en sangre, como su liberación in vitro, producidas por el tejido adiposo durante la obesidad, son la IL-6, IL-10, enzima convertidora de angiotensina (ECA), factor transformante de crecimiento beta (TGF β 1, por sus siglas en inglés), TNF α (factor de necrosis tumoral alfa, por sus siglas en inglés), IL-1 β , inhibidor del activador del plasminógeno 1 (PAI-1, por sus siglas en inglés) e IL-8, son liberados principalmente por células no adiposas (macrófagos en su mayoría) residentes en el tejido graso y la leptina y la proteína de unión a ácidos grasos 4 (FABP-4, por sus siglas en inglés) están aumentadas en la obesidad, son producidas principalmente por células grasas del tejido adiposo³⁷. Si bien se ha demostrado que hay un incremento de macrófagos en el tejido adiposo durante la obesidad³⁸, no se ha esclarecido completamente qué función representan a ese nivel. El paradigma actual es que a mayor hipertrofia de las células adiposas, mayor probabilidad de producirse muerte celular por hipoxia, por lo cual los macrófagos, se acumularían a dicho nivel, para contribuir en la depuración de las células necróticas. Figura 1.

En las enfermedades genéticas complejas como la obesidad, participan muchos genes y se presentan patrones de herencia poco claros. Actualmente con el proyecto del genoma humano se conoce la secuencia del genoma de nuestra especie, permitiendo la genotipificación de miles de polimorfismos en cientos o miles de individuos y esto ha permitido la generación de herramientas excepcionales para el descubrimiento de genes/polimorfismos de gran relevancia para la investigación biomédica. La variabilidad genética corresponde al conjunto de cambios a nivel de secuencia en el DNA que participan de manera importante en las diferencias biológicas observadas entre los seres vivos. Las variantes genéticas más estudiadas en los seres humanos son los polimorfismos de un sólo nucleótido o SNP, los cuales corresponden a sustituciones de un nucleótido por el otro en la cadena del DNA. Los SNPs forman hasta el 90% de todas las variaciones genómicas humanas, y aparecen cada 100 a 300 bases en promedio a lo largo del genoma humano. Los estudios de asociación genética se basan en identificar las diferencias que son significativas en las frecuencias de las variantes genéticas entre grupos de estudio, generalmente un grupo de casos y uno de controles. El conocimiento de las variantes en estos grupos lleva a la identificación de factores genéticos asociados a riesgo o protección³⁹.

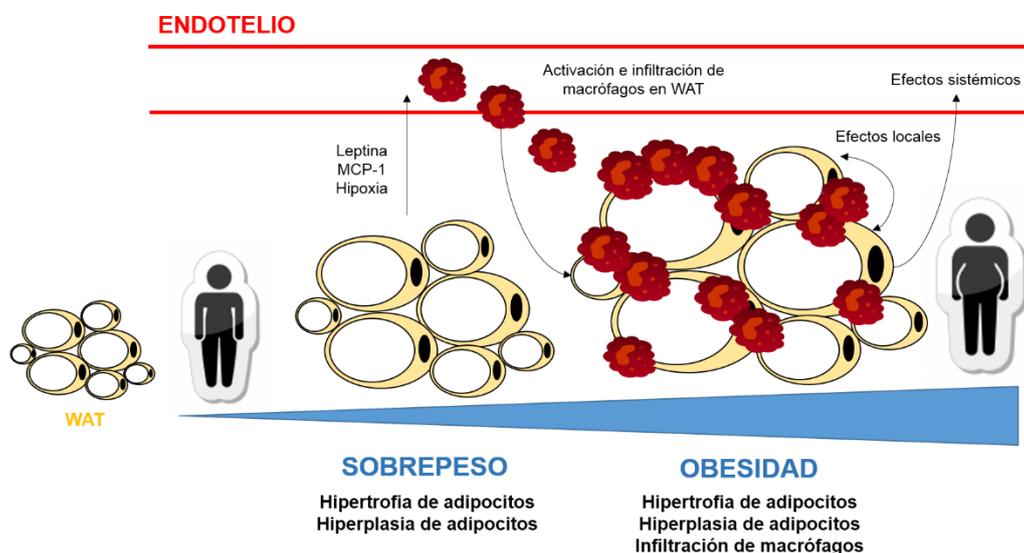


Figura 1. Modelo esquemático de la infiltración de los macrófagos en tejido adiposo blanco (White Adipose Tissue por sus siglas en inglés) en la obesidad. La infiltración de los macrófagos ocurre después de la activación de los monocitos mediada por factores tales como: proteína -1 quimioatrayente de monocitos (Monocyte Chemotactic Protein-1 por sus siglas en inglés), secreción de leptina, hipoxia del tejido adiposo y estrés de las células endoteliales. Los monocitos se diferencian en macrófagos al interactuar con WAT, agravando el estado inflamatorio local y sistémico al incrementar la secreción de citocinas/quimiocinas proinflamatorias, adipocinas y factores angiogénicos.⁴⁰

III. ANTECEDENTES

ADIPONECTINA (ADIPOQ) Y RECEPTORES DE ADIPONECTINA (ADIPOQR1 y ADIPOQR2): ESTRUCTURA MOLECULAR, MECANISMO DE ACCIÓN Y EFECTO BIOLÓGICO

La adiponectina fue identificada de manera independiente por varios grupos de investigación utilizando diferentes técnicas^{41,42}. Es una proteína de 30 kDa presente en la circulación en forma de un dímero-dímero, o como un complejo proteico de gran peso molecular en la que los oligómeros controlan la actividad biológica de la proteína⁴³. La adiponectina fue identificada como una proteína expresada y producida por adipocitos diferenciados de murino 3T3-L1. Este fue clonado independiente y llamado AdipoQ por Hu y cols (1996). La adiponectina homóloga de humano fue originalmente descrita como el transcrito más frecuente en el tejido adiposo de mujeres cuando se secuenció la biblioteca de DNA y fue llamada APM1 (transcripción de genes adiposos más abundantes 1). Adiponectina es una proteína constituida por 244 aminoácidos que muestra similitudes estructurales con la colágena y el TNF α , y se encuentra en la mayoría de los adipocitos. La primera secuencia de adiponectina contiene un péptido señal en el extremo amino terminal, pequeñas regiones variables que no tienen homología entre diferentes especies, regiones de colágeno y a la mitad del extremo carboxilo terminal la proteína tiene un dominio globular. Figura 2⁴⁴. La secuencia del dominio globular tiene homología con la secuencia de la proteína C1q, la adiponectina por lo tanto pertenece a la familia de proteínas C1q de dominio globular. La función biológica de esta familia de proteínas todavía no es clara.

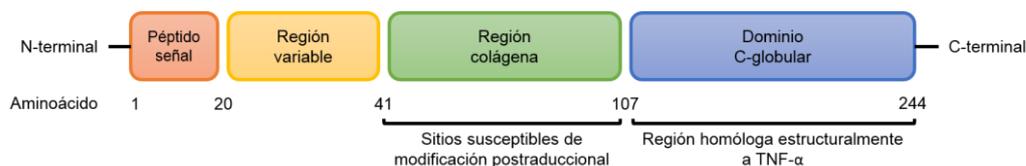


Figura 2. Estructura primaria de la adiponectina humana.⁴⁴

Los niveles de adiponectina en humanos son de 0.5 a 30 $\mu\text{g/ml}$, la cual es aproximadamente 1000 veces más concentrada que la mayor parte de otras hormonas como la leptina, insulina, etc. La adiponectina conforma el 0.01% de proteínas en plasma total de humano y es la más abundante de proteínas de tejido adiposo⁴⁵.

La adiponectina codifica para ADIPOQ como una proteína adiposa plasmática. Los bajos niveles de adiponectina en suero tienen una cercana relación con el síndrome metabólico como la resistencia a la insulina y la diabetes mellitus⁴⁶. En condiciones normales, la adiponectina se encuentra en sangre a altos niveles⁴³; sin embargo, sus efectos dependen no sólo de sus concentraciones, sino también de las propiedades de las distintas isoformas, así como de la expresión de los subtipos de receptor en los tejidos.

La adiponectina puede existir en el plasma en su forma completa o en fragmentos globulares, la primera parece ser la forma más común. Se ha sugerido que la forma globular fragmentada se produce a partir de un proceso de proteólisis, y recientemente se ha demostrado que la lisis de la adiponectina es por una elastasa leucocitaria secretada por monocitos y/o neutrófilos activados. Sin embargo, queda por determinar la importancia fisiopatológica in vivo de la lisis de la adiponectina mediante las elastasas leucocitarias. La existencia de tres diferentes formas estructurales en que circula la adiponectina tiene importantes implicaciones funcionales. Por ejemplo, las mayores concentraciones de adiponectina que se observan en las mujeres, en comparación con los hombres, se deben primordialmente a los mayores niveles del complejo proteico de gran peso molecular (HMW). Los estímulos metabólicos como la infusión de glucosa o insulina dan como resultado una reducción transitoria y selectiva en la circulación de la forma HMW. Por su parte, la forma hexamérica de menor peso molecular no se ve modificada por estas condiciones. A la fecha se dispone de muy poca información sobre los efectos de los estímulos fisiológicos sobre los niveles de adiponectina en forma de trímero. La formación de oligómeros de adiponectina depende de la formación de enlaces disulfuro (Cys-39). Una mutación de adiponectina, con una sustitución de Cys por Ser en el codón 39, da lugar a un trímero que es lisado fácilmente y que es más potente para reducir la producción de glucosa por los hepatocitos. La hidroxilación y la glucosilación en el dominio de colágena de la adiponectina produce un aumento en la capacidad de inhibir la gluconeogénesis hepática con concentraciones subfisiológicas de insulina⁴⁷.

La regulación del gen de la adiponectina incluye un número de factores hormonales y ambientales. La expresión de adiponectina en tejido adiposo está disminuida en obesidad, glucocorticoides, agonistas β -adrenérgicos y $TNF\alpha$, y se encuentra incrementado en individuos delgados con exposición al frío⁴⁵. Asimismo, se han reportado niveles disminuidos de adiponectina en plasma de sujetos con obesidad⁴⁸ y en asmáticos⁴⁹, condición relacionada con estados de resistencia a la insulina e hiperinsulinemia.

La adiponectina inhibe la expresión de los genes inflamatorios como la IL-6 en una variedad de tipos celulares modulados por el factor nuclear κB (NF- κB) y la señal extracelular regulada por la activación de cinasas y potencian la expresión de genes anti-inflamatorios, incluyendo

los genes antagonistas del receptor IL-10 e IL-1. La alteración de concentraciones de adiponectina puede influenciar varias enfermedades relacionadas al desarrollo de asma y atopia. El balance entre adiponectina y leptina pueden ser uno de los factores que contribuyen al desarrollo de asma y subfenotipos. Recientemente, Komakula y cols. observaron que la relación de leptina y adiponectina fue asociada con la exalación de óxido nítrico (NO) como un marcador de estrés oxidativo de las vías aéreas en asma persistente moderada¹⁷. Otro aspecto a considerar son los perfiles de expresión génica de grasa del omento (grasa visceral) contra los producidos por la grasa subcutánea. Sin embargo en algunos estudios, ninguna de estas diferencias parece explicar los efectos dañinos de acumulación de la grasa visceral, tan ampliamente documentados³⁷. Fain JN y cols., hicieron un estudio comparativo de expresión génica (RNAm) de 60 proteínas de células grasas y no grasas de tejido adiposo del omento humano, obtenidas durante procedimientos de cirugía bariátrica en obesos mórbidos y confirmó que el RNAm de las proteínas inflamatorias están presentes predominantemente en las células no grasas⁵⁰.

Experimentos en cultivos con grasa visceral inhiben la secreción de adiponectina por parte del tejido adiposo subcutáneo, lo que sugiere que la grasa visceral pudiera secretar algún factor inhibidor de la síntesis o la secreción de adiponectina⁵¹. Algunos estudios han encontrado que el factor de necrosis tumoral alfa ejerce una fuerte inhibición de la actividad promotora de la adiponectina⁵², lo que podría explicar la relación inversa entre la grasa visceral y los niveles circulantes de adiponectina.

La adiponectina, tanto en su forma globular como HMW, estimula la fosforilación y la activación de la cinasa de AMP en el músculo esquelético, mientras que en hígado este efecto sólo es ejercido por la forma globular. Además de activar la cinasa AMP, la adiponectina induce la fosforilación de la carboxilasa de acetil coenzima-A, la captación de glucosa, la producción de lactato en los miocitos, y reduce en el hígado la producción de moléculas que participan en la gluconeogénesis⁵³.

Okamoto y cols⁵⁴ demostraron en un estudio de cultivo celular de monocitos humanos que la adiponectina actúa inhibiendo la expresión, tanto a nivel de RNAm como de proteínas, de 3 quimiocinas: CXCL10, CxCL11 y CXCL9 en una forma dosis-dependiente. Tal acción se realiza a través de la inhibición de la vía de señalización de los receptores tipo-Toll 4 (TLR-4, por sus siglas en inglés) en una forma, tanto dependiente como independiente, del factor de diferenciación mieloide 88 ó MyD88 (por sus siglas en inglés), con la consecuente disminución del factor nuclear kappa-B (NF-kB) y de la cascada de citocinas proinflamatorias, la disminución de la activación de macrófagos y de linfocitos. Estos efectos parecen explicar las acciones antitrombóticas y antiaterogénicas que experimentalmente se han demostrado para

adiponectina⁵⁵. Adicionalmente, Shore SA y cols⁵⁶ demostraron en un modelo murino experimental de asma alérgica, que con la administración de adiponectina exógena, se disminuía la hiperreactividad bronquial inducida al reto local con ovoalbúmina en forma significativa ($p < 0.05$) en comparación con ratones infundidos sólo con solución buffer, lo cual sugiere que la adiponectina es capaz de modificar la inflamación alérgica bronquial.

Se han reportado complejas interacciones entre el colesterol y la inflamación, se reconoce que el metabolismo del colesterol y la inflamación ejercen un complejo efecto en el pulmón⁵⁷. Las adipocinas, en especial el aumento de leptina y disminución de adiponectina, podrían estar asociadas a la inflamación de las vías aéreas en el asma. Jang AS y cols estudiaron la relación de leptina y adiponectina sérica en 60 sujetos asmáticos adultos y lo compararon contra controles sanos, encontrando que tanto los valores logarítmicos de leptina (2.41 ± 0.05 ng/mL vs 2.01 ± 0.05 ng/mL, $p = 0.001$) como de la relación leptina/adiponectina, fueron significativamente mayores en pacientes femeninos asmáticos. Además la relación leptina/adiponectina se correlacionó con el IMC en asmáticos ($r = 0.210$, $p = 0.05$), es decir, que los valores séricos de leptina y adiponectina estuvieron asociados al sexo femenino y a la obesidad en forma independiente al asma¹⁷.

Ya que el síndrome metabólico (SM) es el rasgo cardinal de la obesidad y la diabetes mellitus tipo II y que las adipocinas pueden estar relacionadas a su desarrollo, Pas-Filho GJ y cols encontraron que los niveles de leptina sérica ajustados para grasa corporal se correlacionaron inversamente con el peso ($r = -0.41$; $p = 0.027$), el gasto energético en reposo ($r = -0.34$; $p = 0.01$) y el número de criterios del Síndrome Metabólico [SM] ($r = -0.32$; $p = 0.02$), lo cual sugiere un estado de deficiencia relativa de leptina en obesos con estado avanzados del SM¹. Thuesen BH y cols demostraron en un estudio de 5 años de seguimiento de 4,516 adultos en población abierta que la resistencia a la insulina se asoció con síntomas auto-reportados de sibilancias en los últimos 12 meses (OR 1.87, IC 95%: 1.38-2.54) y síntomas de asma alguna vez en la vida (OR 1.61, IC 95%: 1.23-2.10), siendo este efecto más fuerte que la obesidad e independiente del sexo⁵⁸. En un estudio realizado en población mexicana adolescente, Del Rio-Navarro BE y cols. reportaron que la prevalencia de síndrome metabólico fue mayor en adolescentes obesos asmáticos que en obesos no asmáticos, pero solamente para aquellos del sexo masculino⁵⁹. En estudio realizado en niños y adolescentes obesos mórbidos (con $IMC \geq$ percentil 95° para edad y género y que tuvieran una condición co-mórbida relacionada a la obesidad: dislipidemia, hiperinsulinemia, hipertensión, trastornos del sueño, asma y/o intolerancia al ejercicio) asmáticos y no asmáticos⁶⁰, la variables asociadas con asma en el análisis de regresión multivariado fueron una edad menor ($p < 0.05$), exposición a humo de tabaco ($p < 0.05$), historia familiar de asma ($p < 0.0001$, OR = 3.1) y resistencia a la insulina medido por el método de evaluación del modelo de homeostasis (HOMA, por sus siglas en

inglés) ($p < 0.0001$, OR = 4.1), vale hacer notar que algunas variables de confusión, como son la edad, el sexo, la raza y el uso de esteroides inhalados no tuvieron significancia estadística en el modelo multivariado. Recientemente, Kattan y cols.⁶¹ estudiaron en forma prospectiva a 368 adolescentes con asma moderada a grave durante 1 año, encontrando que a mayor IMC, mayor número de síntomas ($R = 0.18$, $p = 0.02$) y exacerbaciones ($R = 0.18$, $p = 0.06$) por asma en sujetos del sexo femenino. Además la adiponectina sérica se relacionó en forma inversa con síntomas de asma ($R = -0.18$, $p < 0.05$) y exacerbaciones asmáticas ($R = -0.20$, $p < 0.05$) y en forma positiva con el índice de Tiffeneau (VEF1/CVF) ($R = 0.15$, $p < 0.05$) solamente en sujetos masculinos en forma independiente del IMC. Por lo tanto, resultan controversiales las diferencias por sexo, en cuanto al efecto de las concentraciones de adipocinas en los obesos asmáticos. Se han descrito dos receptores para adiponectina, cuya activación incrementa la oxidación de ácidos grasos, músculo estriado e hígado⁶².

ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN EN OTRAS POBLACIONES

El efecto de los factores genéticos en obesidad ha sido investigado y ha servido de gran conocimiento. Menzaghi y cols.⁶³ reportaron que los haplotipos de los polimorfismos de ADIPOQ 45 T/G y ADIPOQ 276 G/T fueron asociados con obesidad sólo en población Caucásica. Sin embargo, el polimorfismo de ADIPOQ 276 G/T también fue asociado con obesidad pero en población Asiática. Cientos de genes candidatos están implicados con obesidad pero esto no concluye que algunos de estos genes sea el responsable específicamente de la obesidad. Por otro lado, Huang y cols. sugieren que los sujetos con los genotipos GT y TT de ADIPOQ 276 G/T (rs1501299) tiene una gran respuesta de la adiponectina relacionada al ejercicio más que el genotipo GG.

En Japón, la tasa de obesidad también se ha incrementado drásticamente. La obesidad sobre todo ocurre en hombres de edad media, entre 40-59 años, lo cual resulta en una corta duración de vida en estos hombres. Los criterios Japoneses para la obesidad es de un índice de masa corporal menor a 25 kg/m^2 ⁴⁶.

En este gen se han localizado y estudiado diversos polimorfismos como los de la región promotora rs17300539 (-11391 A/G) y rs266729 (-11377 C/G) en nefropatía diabética, pero en población caucásica⁶⁴.

En modelos animales, la administración de adiponectina en ratones produce disminución de peso sin disminución de la ingesta de alimentos. También se ha observado que se asocia a la disminución de las concentraciones de glucosa sin producir aumento de la secreción de insulina⁶⁵. También en animales, la adiponectina reduce la activación de NF- κ B inducida por TNF- α en células endoteliales, a nivel de macrófagos, disminuye la producción de TNF- α

inducida por lipopolisacáridos, e incrementa la expresión de IL-10 y del antagonista del receptor endógeno de IL-1¹, todo lo cual significa una actividad predominantemente anti-inflamatoria.

Otras acciones de adiponectina incluyen la reducción de la expresión de moléculas de adhesión en las células endoteliales y la producción de citocinas por los macrófagos. Estas propiedades han promovido el concepto de que la adiponectina pudiera ser una molécula antiaterogénica⁶⁶.

Existe evidencia de que la adiponectina participa en el control del metabolismo de lípidos y carbohidratos. La disminución de los niveles circulantes de adiponectina se ha asociado a niveles elevados de apoB y triglicéridos, así como con LDL⁶⁷.

Las adiponectinas han emergido en los últimos años como un área de gran interés científico. La identificación de varios receptores para estas moléculas ha permitido entender sus efectos biológicos, aunque aún quedan muchos vacíos en el conocimiento de su mecanismo de acción. La producción y la secreción de adipocinas, incluida la adiponectina, son reguladas en forma dinámica por factores nutricionales y ambientales. Estas moléculas producidas en el tejido adiposo participan en la regulación de la homeostasis energética, y el metabolismo de carbohidratos y lípidos. El tener una comprensión más detallada de las vías moleculares y metabólicas que regulan la biosíntesis de estas hormonas, y de sus mecanismos de acción, podría conducir a proponer nuevos enfoques para el tratamiento de la obesidad, trastornos de lípidos, hipertensión arterial, aterosclerosis y diabetes mellitus⁶⁸.

Con lo que respecta a asma y obesidad, esta última complica la caracterización de los factores genéticos ya que es una enfermedad compleja, lo que impulsa a la generación de abordajes y herramientas novedosas para lograr incrementar el poder de este tipo de estudios. Es muy importante la identificación de las variantes genéticas directamente relacionadas a los efectos biológicos asociados a la obesidad; esto se logra mediante el abordaje de estudios de asociación de región o de genes candidatos.

IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La obesidad y el asma son enfermedades frecuentes que han sido relacionadas en estudios epidemiológicos, sin embargo, los mecanismos que expliquen tal vinculación no han logrado ser bien definidos. Tanto la obesidad como el asma son enfermedades que cursan con inflamación y por lo tanto, diversos estudios se han enfocado en la identificación de mediadores inflamatorios que puedan estar presentes en ambas entidades.

Las adipocinas, tales como leptina y adiponectina, son un grupo de sustancias producidas de manera predominante en el tejido adiposo, ya sea por células grasas o por macrófagos residentes en dicho tejido y que tienen diversas acciones en el sistema inmunológico.

Se han demostrado niveles reducidos de adiponectina sérica en sujetos con obesidad; también se ha reportado que, en obesos asmáticos, la adiponectina está disminuida, en forma independiente del IMC. Sabiendo que la adiponectina tiene un efecto anti-inflamatorio, se ha planteado que existen polimorfismos relacionados con la disminución de la misma y su consecuente efecto anti-inflamatorio.

Menzaghi y cols. reportaron que los haplotipos de los polimorfismos de ADIPOQ 45 T/G y ADIPOQ 276 G/T fueron asociados con obesidad en población Caucásica. Sin embargo, el polimorfismo de ADIPOQ 276 G/T también fue asociado con obesidad pero en población Asiática.

Por lo tanto nos hacemos las siguientes preguntas de investigación:

V. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la frecuencia de polimorfismos ADIPOQ 45 y ADIPOQ 276 en adolescentes obesos y eutróficos con y sin asma?

¿Cuál es la relación que existe entre los niveles de adiponectina y la presencia de polimorfismos ADIPOQ 45 y ADIPOQ 276 en adolescentes obesos y eutróficos con y sin asma?

VI. JUSTIFICACIÓN

Ante la evidencia reciente la literatura mundial reporta un aumento reciente en la prevalencia de obesidad en la población pediátrica así como un aumento en el número de casos de asma; sin embargo hasta el momento no se ha establecido en una relación plausible entre las correlaciones que estos dos fenómenos pueden generar al coexistir en el paciente.

El estudio de los polimorfismos de adiponectina y la relación que existe entre estos y los niveles séricos de esta proteína puede contribuir al entendimiento del fenómeno que se produce entre la obesidad y el asma y con esto poder identificar a largo plazo individuos susceptibles e incidir en su tratamiento precoz.

Es muy importante definir la participación de estos genes en el desarrollo de estos padecimientos en nuestra población y así permitir mejores y más dirigidos tratamientos.

VII. OBJETIVOS: GENERAL Y ESPECÍFICOS

Objetivo general:

Conocer la frecuencia de polimorfismos ADIPOQ 45 y ADIPOQ 276 en adolescentes obesos y eutróficos con y sin asma

Relacionar los niveles de adiponectina y la presencia de polimorfismos ADIPOQ 45 y ADIPOQ 276 en adolescentes obesos y eutróficos con y sin asma

Objetivos específicos:

- 1) Conocer la frecuencia de polimorfismos ADIPOQ 45 y ADIPOQ 276 homocigotos y heterocigotos en adolescentes obesos con y sin asma
- 2) Determinar la frecuencia de polimorfismos ADIPOQ 45 y ADIPOQ 276 homocigotos y heterocigotos en adolescentes eutróficos con y sin asma
- 3) Relacionar la presencia de polimorfismos ADIPOQ 45 y ADIPOQ 276 homocigotos y heterocigotos con el diagnóstico de obesidad y asma.
- 4) Conocer la relación que existe entre los niveles de adiponectina y la presencia de polimorfismos ADIPOQ y ADIPOQ 276 en adolescentes obesos con y sin asma
- 5) Determinar la relación que existe entre los niveles de adiponectina y la presencia de polimorfismos ADIPOQ 45 y ADIPOQ 276 en adolescentes eutróficos con y sin asma

VIII. HIPÓTESIS

Existirá una mayor frecuencia de estos dos polimorfismos (ADIPOQ 45 y ADIPOQ 276) en los pacientes obesos con asma comparado con pacientes eutróficos sin asma.

IX. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio de investigación observacional, analítico y transversal, en colaboración con el Instituto Nacional de Cardiología.

Los adolescentes fueron reclutados de la clínica de obesidad y de escuelas secundarias aledañas a la zona del Hospital y a aquellos sujetos que cumplieron con los criterios de inclusión se les invitó a participar en el protocolo. Una vez que se firmó la hoja de asentimiento y consentimiento (anexo 1.-) se les realizó un historia clínica completa (anexo 2.-), determinación de medidas antropométrica (peso, talla, circunferencia de cintura, IMC, impedanciometría) y extracción de muestra de sangre periférica.

Para las pruebas de ELISA y la genotipificación se obtendrán 10 ml de sangre periférica usando como anticoagulante EDTA. El plasma será alicuotado y congelado a menos 70°C.

CRITERIOS DE SELECCIÓN

| | |
|--|--|
| <i>Criterios de inclusión</i> | <ul style="list-style-type: none">- Firma del consentimiento informado- Hombres y mujeres- Adolescentes de 11 a 16 años- IMC por encima del percentil 95 de las tablas CDC, según sexo y edad- Adolescentes eutróficos con IMC de 50 a 85% de las tablas CDC.- Asmáticos controlados sin esteroides inhalados (de acuerdo a clasificación de GINA 2011) |
| <i>Criterios para asegurar que los individuos pertenecen a la población mexicana</i> | <ul style="list-style-type: none">- En los grupos de estudio en primera instancia, se preguntará al individuo si sus dos últimas generaciones fueron nacidas en México.- Además se realizará la validación de los individuos a estudiar por marcadores genéticos de ancestría. Esto será empleando 15 marcadores STRs (AmpFISTR identifier™).* |

*Juarez-Cedillo T, Zuñiga J, Acuña-Alonzo V, Pérez-Hernández N, Rodríguez-Pérez JM, Barquera R, Gallardo GJ, Sánchez-Arena R, García-Péña M del C, Granados J, Vargas-Alarcón G. Forensic Sci Int Genet. 2008; 2(3): e37-9.

CRITERIOS DE SELECCIÓN.2

| | |
|--------------------------------|---|
| <i>Crterios de exclusión</i> | <ul style="list-style-type: none">- IMC > 99 percentil de las tablas de CDC- Retraso en el desarrollo psicomotor.- Alteraciones del SNC (epilepsia).- Pacientes con otras enfermedades pulmonares (fibrosis quística, displasia bronco- pulmonar, tuberculosis pulmonar.).- Pacientes con cardiopatías.- Pacientes con reflujo gastroesofágico por historia clínica.- Pacientes con endocrinopatías (hipotalámica, tiroidea, Diabetes mellitus Tipo 1 o 2.- Hipertrigliceridemia familiar (TG mayor de 300 mg/dl e historia familiar de esta).- Hipercolesterolemia familiar.- Pacientes con síndrome de ovario poliquístico.- Pacientes con síndromes somatodismórficos (Síndrome de Prader Willi, Barder-Biedl).- Tratamiento con esteroides sistémicos ciclo corto o continuo tres meses antes.- Tratamiento con esteroide inhalado tres meses antes.- Uso de anticonceptivos.- Uso de vitaminas.- Asma no controlada clasificada de acuerdo a GINA 2011.- Infecciones respiratorias cuatro semanas antes.- Tabaquismo activo y/o pasivo.- Cualquier toxicomanía- Pacientes que se encuentren bajo tratamiento de control de peso con medicamentos- Enfermedades somatodismórficas o con algún síndrome mono-genético |
| <i>Crterios de eliminación</i> | <ul style="list-style-type: none">- Problemas con la obtención o el procesamiento de la muestra- Retiro del consentimiento informado |

En base a su IMC (tablas CDC) y a su patología respiratoria (con asma y sin asma) se clasificaron en cuatro grupos de las siguientes características:

1. Sin asma:

- a) Obeso no mórbido con IMC >95%
- c) Eutróficos con IMC 50 a 84%

2.- Con asma:

- a) Obeso no mórbido con IMC >95%
- c) Eutróficos con IMC 50 a 84%

Tamaño de la Muestra

El cálculo del tamaño de muestra se realizó por diferencia de medias considerando alfa bilateral de 0.05, una beta de 0.20 con una magnitud del efecto estandarizado de 0.50 lo que nos dió un total de 64 pacientes por grupo.

Extracción de ADN

Se tomaron 15 ml. de sangre periférica de cada individuo en tubos Vacutainer con EDTA como anticoagulante. A partir de esta muestra se extrajo el DNA genómico por medio de técnica de expulsión salina (Miller A. A single salting out procedure for extraction DNA from human nucleated cell. Nucleic Acid Res 1998; 16:1215-1217). La integridad del DNA se verificó en geles de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio. El DNA obtenido se cuantificó por espectrofotometría.

Determinación de los genes de ancestría.

Esto es para asegurar que los individuos a estudiar pertenecen a la población mexicana. Los genes de ancestría se determinarán empleando 15 marcadores STRs (Ampflstr identifier, Applied Biosystems), esto será realizado por electroforesis capilar en un secuenciador automático 3130 AB de 4 capilares, usando el análisis de fragmentos e interpretados en un software de Genemapper V.4.0.

Es importante resaltar que para este propósito se usaron datos previos de frecuencias de STRs en españoles de Andalucía, de africanos del este y amerindios de Hidalgo. Estas poblaciones se usan como poblaciones ancestrales en modelos trihíbridos para estimación de mezcla. Los marcadores STRs que se determinaron son: D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWa, TPOX, D18S51, D5S818 y FGA. La combinación de poder de discriminación de los 15 STRs fue de 0.999999999 y por tanto las estimaciones de mezcla genética revelan 69% de amerindios, 26% de europeos y 5% de africanos. Por lo cual, dichos marcadores son aptos para realizar análisis de ancestría y así nos permiten conocer el grado de mezcla de la población mexicana. (Juárez-Cedillo T, Zuñiga J, Acuña-Alonzo V, Pérez-Hernández N, Rodríguez-Pérez JM, Barquera R, Gallardo GJ, Sánchez-Arenas R, García-Peña Mdel C, Granados J, Vargas-Alarcón G. Genetic admixture and diversity estimations in the Mexican Mestizo population from Mexico City using 15 STR polymorphic markers. Forensic Sci Int Genet. 2008;2(3) :e37-9).

Sitios polimórficos que serán analizados.

Los polimorfismos a estudiar en este proyecto fueron seleccionados considerando los reportes previamente publicados de asociación entre los polimorfismos de estas moléculas con eventos de obesidad, así como con otros padecimientos inflamatorios en otras poblaciones. Después de esto revisamos en el Hap Map las frecuencia reportadas en otras poblaciones y solo incluimos aquellos polimorfismos cuya frecuencia del alelo menor (MAF del inglés, minor allele frequency) fuera mayor a 5%. Dado esto el proyecto incluirá el estudio de dos polimorfismos ubicados como sigue:

- Adiponectina: Dos polimorfismos ubicados en región promotora (ADIPOQ 45 y ADIPOQ 276).

***Nota:** el **rs** representa el **ID-db SNP**: es el número de identificación en la base de datos del Centro Nacional de la Información en Biotecnología (www.ncbi.nlm.nih.gov).

Determinación de los polimorfismos.

La determinación de los distintos polimorfismos se realizó utilizando sondas TaqMan en un equipo de PCR en tiempo real. Las sondas fueron sintetizadas por la compañía Applied Biosystems. Se decidió utilizar esta metodología debido al número de determinaciones que realizamos y al hecho de que contamos con dos equipos de PCR en tiempo real con alta capacidad para realizar las determinaciones en los tiempos propuestos. Por otro lado, nuestro grupo tiene amplia experiencia en el uso de esta metodología. Los alelos fueron asignados por medio de un programa de discriminación alélica incluido en los equipos de PCR en tiempo real.

Obtención de monocitos.

Los monocitos fueron aislados de los individuos utilizando la técnica reportada por Almeida y colaboradores (de Almeida MC, Silva AC, Barral A, Barral-Netto M. A simple method for human peripheral blood monocyte isolation. Mem Inst Oswaldo Cruz 2000;95:221-3). El protocolo de separación incluyó dos pasos, cada uno de ellos con el uso de un gradiente simple. Primero se llevó a cabo un gradiente de Ficoll-Hypaque en 20 ml. de sangre obtenida de cada individuo. Después el buffy coat fué pasado por un gradiente de Percoll hiperosmótico. El porcentaje de monocitos fué evaluado en un citómetro de flujo usando un anticuerpo anti-CD14. Solo se utilizaron los cultivos con una pureza de monocitos mayor al 65%. En este caso se plantea el

análisis de 100 individuos de cada grupo debido a que se pretende tener por lo menos 20 individuos por cada genotipo de los polimorfismos estudiados.

Extracción de RNAm a partir de monocitos

La extracción del RNA se realizó con Trizol LS (Invitrogen). Se empleará al menos 0.75ml de trizol por $5-10 \times 10^6$ células y se homogenizará con la pipeta al menos 10 veces para lisar las células. Se incubaron las muestras homogenizadas durante 5 minutos a 25°C para permitir la disociación completa de complejos de nucleoproteínas. Posteriormente se agregaron 0.2 ml de cloroformo por cada 0.75ml de Trizol LS. Se agitaron vigorosamente durante 15 segundos, y se incubaron durante 15 minutos a 25°C. Se centrifugaron a 12000 x g por 15 min a 8°C. Después de la centrifugación, se extrajo la fase acuosa donde se encuentra el RNA. El volumen de la fase acuosa fue aproximadamente del 70% del volumen de Trizol LS utilizado para la homogenización. Se transfirió la fase acuosa a un tubo limpio y se conservó la fase orgánica por si se requiere extraer DNA o proteínas. Posteriormente se precipitó el RNA de la fase acuosa agregando isopropanol. Usamos 0.5 ml de isopropanol por cada 0.75 ml de Trizol LS y se incubó a 20°C por 10 minutos, posteriormente se centrifugó a 12000 x g 10 min a 8°C. El RNA se precipitó, inclusive es visible antes de la centrifugación, y formó una especie de botón gelatinoso en el fondo del tubo. Se removió el sobrenadante. Se lavó el botón de RNA una vez con etanol al 75%, añadiendo al menos 1 ml de etanol al 75% por cada 0.75 ml de Trizol LS. Se mezcló vigorosamente la muestra y se centrifugó a 7500 x g por 5 minutos a 8°C. Al final del procedimiento, se secó el botón del RNA en un tiempo de 5 – 10 minutos. Es importante no dejar secar completamente el botón de RNA ya que esto disminuirá su solubilidad. Las muestras parcialmente disueltas deberán tener una relación de longitud de onda $A_{260}/A_{280} < 1.6$. Finalmente se va a disolvió el RNA con agua libre de RNAsas o una solución al 0.5% de SDS, pasando la solución varias veces por la punta e incubando 10 minutos a 55-60°C.

Análisis de expresión del gen

Una vez identificados los polimorfismos en las diferentes regiones de los genes asociados a la enfermedad, se procedió a realizar ensayos relacionados con el efecto del polimorfismo en la expresión del gen (RT-PCR en Tiempo Real). Esta metodología implica el uso de la enzima DNA ampliTaq Gold, que tiene actividad de 5' exonucleasa, sin embargo, en este ensayo sólo se emplea una sonda que va marcada con un fluoróforo en su extremo 5', ya sea VIC o FAM, y un par de primer no marcados. Para la reacción de tiempo real se empleó el kit comercial TaqMan One Step RT-PCR mastermix, el cual está diseñado para generar en un solo paso la

transcripción reversa (cDNA) y la amplificación del fragmento que nos interesa por PCR, a partir de mRNA, la cual es proporcional a la cantidad de RNA expresado. Se hicieron curvas de titulación de algunos individuos sanos para estandarizar el método, y se emplearon genes de expresión constitutiva como controles positivos. La fluorescencia se cuantificó mediante el software SDS del equipo de tiempo real 7900HT ABI PRISM.

Volumen total de muestra

En total se realizó la toma de 30 ml de sangre periférica de cada individuo en tubos con EDTA como anticoagulante. De los cuales:

- 10 ml fueron necesarios para la extracción de ADN genómico para realizar los polimorfismos genéticos a estudiar. También se realizó la determinación de los genes de ancestría, con el fin de asegurar que los individuos a estudiar pertenecen a población mexicana.
- El plasma que se obtuvo se utilizó para realizar las determinaciones de adiponectina y leptina.
- 20 ml fueron necesarios para separar los monocitos, ya que se requieren 30 millones de células con una pureza por arriba del 65% para realizar los ensayos de expresión génica de dichas adipocinas.

Consideraciones de bioseguridad

Las muestras de sangre tomadas a los sujetos del estudio se consideran el aspecto más riesgoso, por lo que las personas que tomaron las muestras de sangre utilizaron guantes, además de que el material fue estéril y de uso único y se desechó en los contenedores rojos del hospital. Las muestras se tomaron en el laboratorio de Alergia (Edificio Mundet Planta Baja) y el plasma se congeló a -70°C en el congelador específico para muestras sanguíneas que tenemos en dicho laboratorio. Posteriormente las muestras fueron transportadas al Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”, donde fueron procesadas.

Infraestructura disponible

En el Instituto Nacional de Cardiología específicamente en el laboratorio de Genómica del departamento de Biología Molecular, se cuenta con la infraestructura necesaria para realizar estudios de diversa índole. Esta infraestructura consta de: secuenciador automático de 4 capilares, 2 equipos de PCR en tiempo real (uno para 96 muestras y otro para 384 muestras), 4 termocicladores de última generación, campanas para PCR, centrifuga de vacío, centrifuga clínica, microcentrifuga, microcentrifuga refrigerada, hornos de hibridación, equipos de

electroforesis horizontal y vertical para un número variado de muestras, refrigeradores, congeladores de -20 y 1 congelador de -70, fuentes de poder, espectrofotómetro (nanodrop), pHmetro, balanzas, cámara para toma de fotografías de geles y analizador de imágenes. También se cuenta con el equipo de computo necesario para llevar a cabo el presente proyecto.

Por otra parte, el Hospital Infantil de México “Federico Gómez” cuenta con un Departamento Clínico a nivel de consulta externa de Alergia e Inmunología Clínica de gran calidad. Los Médicos e Investigadores en Ciencias Médicas que participan en el presente estudio tienen amplia experiencia tanto clínica como epidemiológica en este padecimiento. Esto asegura los correctos diagnósticos para los grupos de estudio. De tal forma que los estudios clínicos que se llevarán a cabo garantizan la precisión de los diagnósticos en el presente proyecto.

X. PLAN DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos que fueron analizadas se obtuvieron por conteo directo.

Análisis univariado para las variables demográficas, utilizándose medidas de tendencia central y de dispersión.

Análisis bivariado para comparación de grupos mediante pruebas de hipótesis e intervalos de confianza con métodos paramétricos y no paramétricos de acuerdo a las variables.

Para el análisis de datos se utilizó el programa SPSS 21.

XI. DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

| INDEPENDIENTES.- | | | | |
|-------------------------|---|---|-------------------------|---------------------------|
| Variable | Definición conceptual | Definición operacional | Tipo de variable | Unidad de medición |
| Peso | Masa de un cuerpo determinada por medio de una balanza o de otro instrumento equivalente. | Resultado numérico en kilogramos y gramos obtenido de la medición en báscula del paciente al estar sin zapatos y con la menor cantidad de ropa posible. | Cuantitativa continua | Kilogramos |

| | | | | |
|--------------------------------------|---|--|-----------------------|-------------------|
| Talla | Estatura o altura de las personas. | Resultado numérico en centímetros obtenido por el estadímetro. | Cuantitativa continua | Metros |
| Índice de masa corporal (IMC) | Conocido como índice de Quelet para medición indirecta de la grasa corporal en la mayoría de las poblaciones, se obtiene de dividir el peso en kilogramos entre la talla en metros al cuadrado. | Resultado aritmético del peso del paciente en kilogramos dividido por la talla en metros al cuadrado. | Cuantitativa continua | Kg/m ² |
| Obesidad | Es el trastorno nutricional que se manifiesta por un exceso de grasa corporal. | Según las tablas de referencia de CDC que toman en cuenta edad, talla, sexo y peso, la obesidad se define cuando el IMC (peso/talla ²) es mayor a 95 a 99% tablas de la CDC. | Cualitativa nominal | Si o no |
| Asma | El asma es una enfermedad inflamatoria crónica de la vía aérea en la cual muchas células y elementos celulares. | Diagnóstico clínico de asma con base en episodios de tos particularmente nocturna, dificultad respiratoria, sibilancias y opresión torácica; acompañados por obstrucción variable del flujo aéreo, reversible e hiperreactividad de la vía aérea (GINA 2011) realizado por alergólogo pediátra | Cualitativa nominal | Si o no |

| DEPENDIENTES.- | | | | |
|--|--|---|-----------------------|---------------------------|
| Niveles plasmáticos de adiponectina | Cuantificación de niveles de adiponectina en plasma | Cuantificación de niveles de adiponectina en plasma | Cuantitativa continua | µg/ml |
| Polimorfismo de adiponectina (ADIPOQ 45) | Variaciones normales en la secuencia del ADN entre unos individuos a otros y que superan el uno por ciento en la población, en específico ADIPOQ 45 | Variaciones normales en la secuencia del ADN entre unos individuos a otros y que superan el uno por ciento en la población de la proteína de la adiponectina específicamente ADIPOQ 45 | Cualitativa nominal | Si o no |
| Polimorfismo de adiponectina (ADIPOQ 276) | Variaciones normales en la secuencia del ADN entre unos individuos a otros y que superan el uno por ciento en la población, en específico ADIPOQ 276 | Variaciones normales en la secuencia del ADN entre unos individuos a otros y que superan el uno por ciento en la población de la proteína de la adiponectina específicamente ADIPOQ 276 | Cualitativa nominal | Si o no |
| Genotipo de polimorfismo ADIPOQ 45 | Información de las características genéticas del polimorfismo ADIPOQ 45 | Información de las características genéticas del polimorfismo ADIPOQ 45 | Cualitativa nominal | Homocigoto o heterocigoto |
| Genotipo de polimorfismo ADIPOQ 276 | Información de las características genéticas del polimorfismo ADIPOQ 276 | Información de las características genéticas del polimorfismo ADIPOQ 276 | Cualitativa nominal | Homocigoto o heterocigoto |

XII. RESULTADOS

En un periodo aproximado de 2 años se reclutaron 195 pacientes que cumplían con los criterios de inclusión de los cuales se eliminaron 14 por no contar con todos los datos requeridos o por haber perdido la muestra. De los 181 pacientes restantes, eliminamos 12 quedando con un total de 169, ya que estos pacientes no contaban con determinaciones de niveles plasmáticos de adiponectina. Figura 3.-

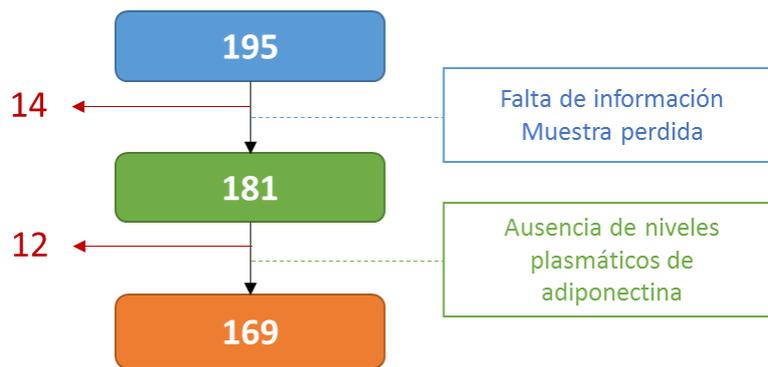


Figura 3.- Algoritmo de número de pacientes reclutados.

Se incluyeron un total de 169 pacientes, el 55% fueron hombres y el 45% fueron mujeres. Gráfico 1.- Tomando el IMC, se encontró que la media fue de 22,41 con una D.E. de 5,01 con un mínimo de 14,00 y un máximo de 37,70; con una edad promedio de 12.6 años D.E. 1.5 años, mínimo de 10 y máximo de 16.9 años. Tabla 1.-

Gráfico 1.-

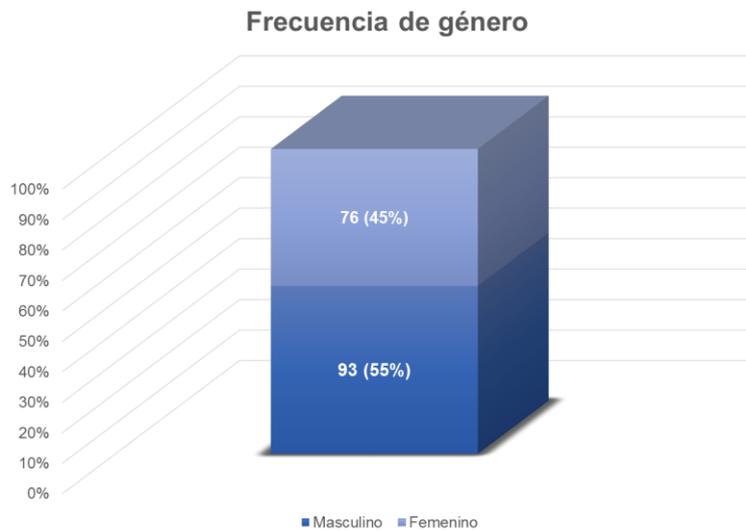


Tabla 1.-

| Edad e índice de masa corporal (IMC) | | | |
|--------------------------------------|-----|--------|-------|
| | N | Media | D.E. |
| Edad (meses) | 169 | 152,82 | 19,11 |
| IMC (kg/m ²) | 169 | 22,41 | 5,01 |

Se encontró que el antecedente de sobrepeso u obesidad en la madre fue de 57.4%, en el padre de 59%, en abuelo/a 84% y en los hermanos de 40%. Gráfico 2.- y Tabla 2.-

Gráfico 2.-

ANTECEDENTES DE SOBREPESO U OBESIDAD EN LA FAMILIA

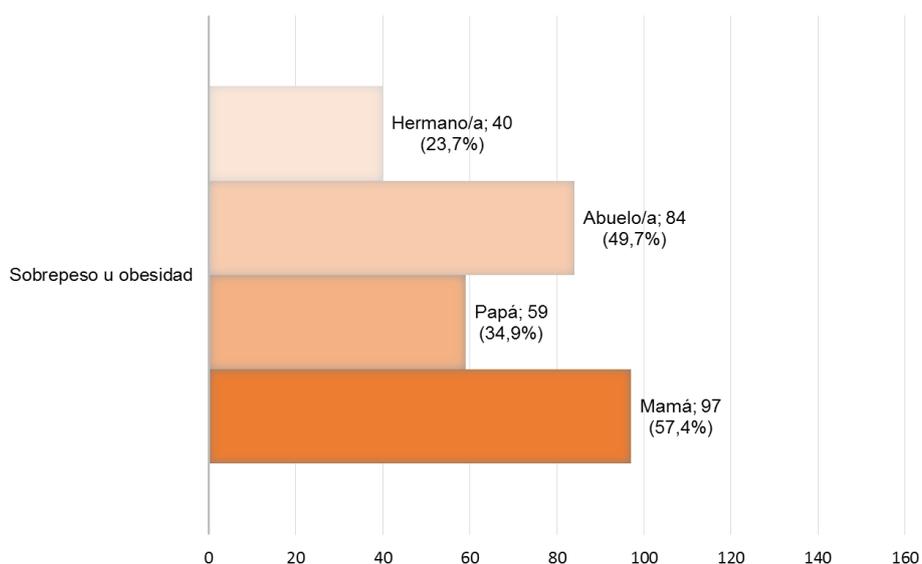


Tabla 2.-

| Antecedente de sobrepeso u obesidad en la familia | | |
|---|------|------|
| | Si | No |
| Sobrepeso u obesidad en la madre | 57,4 | 42,6 |
| Sobrepeso u obesidad en el padre | 34,9 | 65,1 |
| Sobrepeso u obesidad abuelo/a | 49,7 | 50,3 |
| Sobrepeso u obesidad hermano/a | 23,7 | 76,3 |

La frecuencia de polimorfismo homocigoto para ADIPOQ 276 fue de 56.8% y heterocigoto 42%. Tabla 3.- En los diferentes grupos, el polimorfismo homocigoto del grupo 1 fue 38 (62.29%), grupo 2 fue 25 (60.97%), grupo 3 fue 18 (43.90%) y grupo 4 fue 15 (62.5%); mientras que el polimorfismo heterocigoto fue de 23 (37,70%), 16 (39,02%), 23 (56,09%) y 9 (37,5%) respectivamente; con una $p = 0,24$. Tabla 4.-Gráfico 3.-

Tabla 3.-

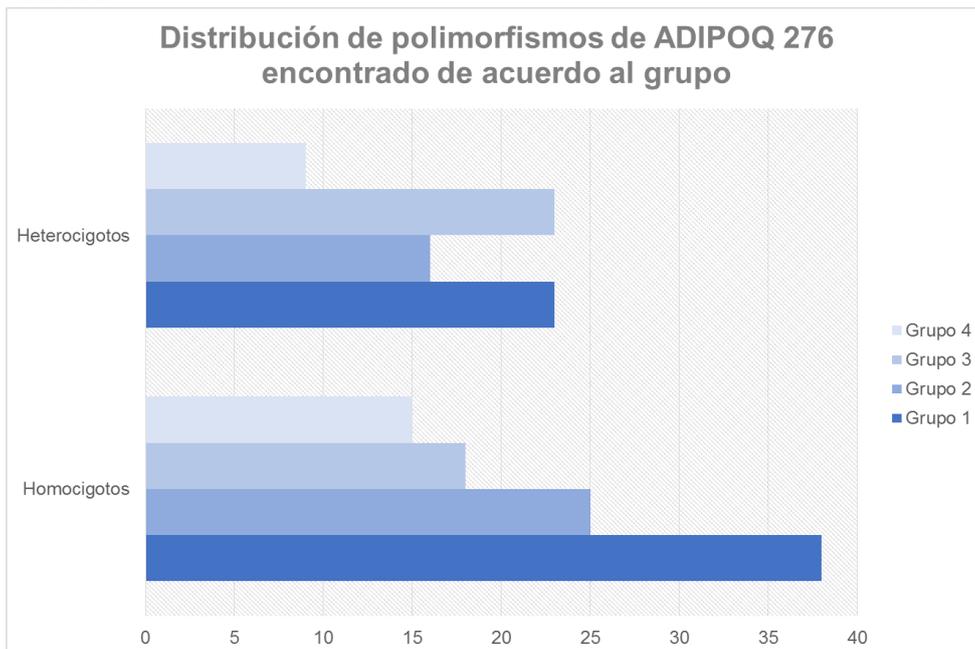
| Frecuencia de polimorfismo de ADIPOQ276 | | | |
|---|--------------|------------|------------|
| | | Frecuencia | Porcentaje |
| Válidos | Homocigoto | 97 | 56,8 |
| | Heterocigoto | 72 | 43,0 |
| Total | | 167 | 100,0 |

Tabla 4.-

| Distribución del polimorfismo ADIPOQ276 encontrado de acuerdo al grupo | | | | |
|--|---|-----------|----|-------|
| Recuento | | | | |
| | | ADIPOQ276 | | Total |
| | | A | B | |
| Grupo | 1 | 38 | 23 | 61 |
| | 2 | 25 | 16 | 41 |
| | 3 | 18 | 23 | 41 |
| | 4 | 15 | 9 | 24 |
| Total | | 96 | 71 | 167 |

A: Homocigoto
B: Heterocigoto
1: Eutrófico sin asma
2: Eutrófico con asma
3: Obeso sin asma
4: Obeso con asma

Gráfico 3.-



Por otro lado, la frecuencia de polimorfismo homocigoto para ADIPOQ 45 fue de 72,8% y heterocigoto 26%. Tabla 5.- En los diferentes grupos, el polimorfismo homocigoto del grupo 1 fue 45 (73,77%), grupo 2 fue 25 (60,97%), grupo 3 fue 35 (85,36%) y grupo 4 fue 18 (75%); mientras que el polimorfismo heterocigoto fue de 16 (26,22%), 16 (39,02%), 6 (14,63%) y 6 (25%) respectivamente; con una $p = 0,09$. Tabla 6.- y Gráfico 4.-

Tabla 5.-

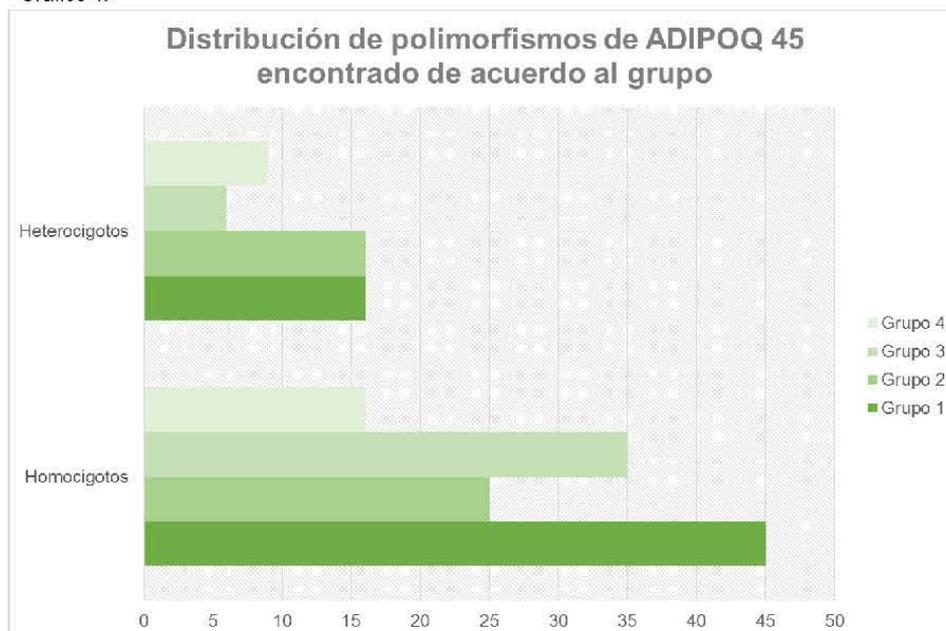
| Frecuencia de polimorfismo de ADIPOQ45 | | | |
|--|--------------|------------|------------|
| | | Frecuencia | Porcentaje |
| Válidos | Homocigoto | 123 | 72,8 |
| | Heterocigoto | 44 | 26,0 |
| Total | | 167 | 100,0 |

Tabla 6.-

| Distribución del polimorfismo ADIPOQ45 encontrado de acuerdo al grupo | | | | | |
|---|---|----------|----|-------|----|
| Recuento | | | | | |
| | | ADIPOQ45 | | Total | |
| | | A | B | | |
| Grupo | | 1 | 45 | 16 | 61 |
| | 2 | 25 | 16 | 41 | |
| | 3 | 35 | 6 | 41 | |
| | 4 | 18 | 6 | 24 | |
| Total | | 123 | 44 | 167 | |

- A:** Homocigoto
- B:** Heterocigoto
- 1:** Eutrófico sin asma
- 2:** Eutrófico con asma
- 3:** Obeso sin asma
- 4:** Obeso con asma

Gráfico 4.-



La media de los niveles de adiponectina en el grupo homocigoto del polimorfismo ADIPOQ 276 fue de 15.80 mientras que en el grupo heterocigoto fue de 15.42; con una p de 0.76. Tabla 7.- Mientras que la media de los niveles de adiponectina en el grupo homocigoto del polimorfismo de ADIPOQ 45 fue de 15,96 y en el grupo heterocigoto fue de 14,75 con una p de 0.39. Tabla 8.-

Tabla 7.-

| Valores de los niveles de adiponectina de acuerdo al polimorfismo ADIPOQ276 encontrado | | | | |
|--|--------------|----|-------|------|
| | ADIPOQ276 | N | Media | D.E. |
| Adiponectina | Homocigoto | 96 | 15,80 | 9,48 |
| | Heterocigoto | 71 | 15,42 | 5,41 |

Tabla 8.-

| Valores de los niveles de adiponectina de acuerdo al polimorfismo ADIPOQ45 encontrado | | | | |
|---|--------------|-----|-------|------|
| | ADIPOQ 45 | N | Media | D.E. |
| Adiponectina | Homocigoto | 123 | 15,96 | 8,65 |
| | Heterocigoto | 44 | 14,75 | 5,71 |

XIII. DISCUSIÓN

El aumento en la tasa de obesidad y su consecuente morbilidad, representa una amenaza capaz de alterar el sistema de atención de salud. Durante las últimas dos décadas se ha observado un aumento sostenido de la prevalencia de asma y obesidad en muchos países y diversos estudios epidemiológicos han relacionado ambas entidades.

En México 35% de los adolescentes tienen sobrepeso u obesidad, lo que indica que 1 de cada 5 adolescentes tiene sobrepeso, y 1 de cada 10 presenta obesidad, el incremento en la prevalencia de obesidad de 2006 a 2012 fue de 7% para el sexo femenino y 3% para el masculino según la encuesta ENSANUT 2012.

Los determinantes sociales, ambientales, culturales y genéticos de la obesidad son considerados responsables del incremento de la prevalencia. En nuestro estudio encontramos que el antecedente heredofamiliar de sobrepeso u obesidad fue alto encontrando que las madres y los abuelo/as ocupan el primer lugar con un porcentaje que varía entre 57 y 49%, con esto concluimos que mínimo uno de los familiares que habita en el mismo hogar que el adolescente, presente sobrepeso u obesidad.

En las enfermedades genéticas complejas como la obesidad, participan muchos genes y se presentan patrones de herencia poco claros. La variabilidad genética corresponde al conjunto de cambios a nivel de secuencia en el DNA que participan de manera importante en las diferencias biológicas observadas entre los seres vivos.

Kelly et al han reportado niveles disminuidos de adiponectina en plasma de sujetos con obesidad y en asmáticos. En nuestro estudio hubo coincidencia con lo reportado en la literatura, ya que los niveles de adiponectina fueron menores en pacientes obesos en comparación con eutróficos, así mismo, encontramos que los eutróficos con asma presentaron niveles de adiponectina aún más bajos con los eutróficos sin asma, lo cual no sucedió en obesos con asma.

En nuestro estudio se decidió estudiar los polimorfismos de los genes promotores de la adiponectina que se han relacionado con la obesidad (ADIPOQ 276 y ADIPOQ 45), además de que ya existen estudios relacionados con los mismos. Menzaghi et al reportaron que los haplotipos de los polimorfismos de ADIPOQ 45 T/G y ADIPOQ 276 G/T fueron asociados con obesidad sólo en población Caucásica. Así mismo, el polimorfismo de ADIPOQ 276 G/T también fue asociado con obesidad en población Asiática. En nuestro estudio, encontramos que la frecuencia de polimorfismo de ADIPOQ 276 homocigoto (TT o GG) fue de 96 (56,8%) y heterocigoto (GT o TG) fue de 71 (42.0%) y ADIPOQ 45 homocigoto fue de 123 (72.8%) y heterocigoto 44 (26.0%), lo cual no concuerda con lo mencionado por Menzaghi, esto podría deberse al tipo de población estudiada. Hasta donde nosotros tenemos conocimiento no hay ningún estudio con tantos pacientes en población mexicana.

De acuerdo a lo anterior y de acuerdo a Menzaghi et al podríamos considerar que los pacientes con polimorfismos heterocigotos ADIPOQ276 y ADIPOQ45 presentan niveles de adiponectina más bajos, lo que concuerda con nuestro estudio, ya que estos pacientes cuentan con una media de adiponectina más baja en comparación con los homocigotos.

XIV. CONCLUSIONES

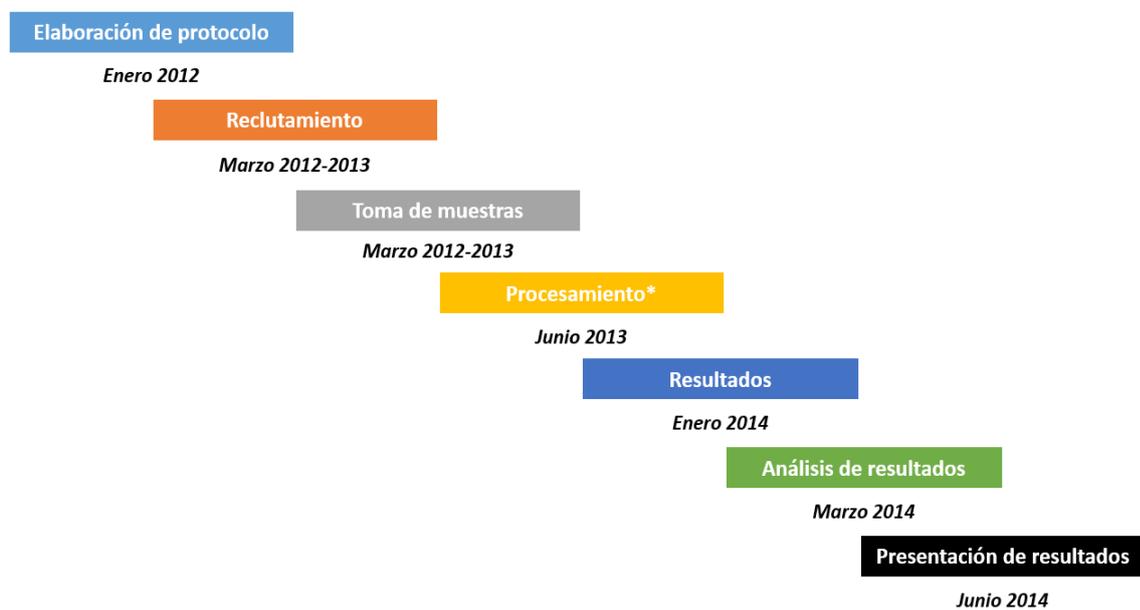
En este estudio encontramos que el porcentaje de sobrepeso u obesidad ha ido incrementando de manera exponencial a lo largo de las décadas, así mismo, el mismo es mayor en el género femenino que en el masculino. En nuestro estudio pudimos corroborar que los antecedentes heredofamiliares son importantes, ya que aproximadamente el 50% de los adolescentes tienen ya sea un padre o un abuelo/a con sobrepeso u obesidad, lo cual es un factor de riesgo para la enfermedad.

Se ha estudiado ampliamente el rol que juegan las adipocinas en las enfermedades crónicas como la obesidad y el asma, generalmente se ha observado una disminución de la adiponectina y un incremento en la leptina. La leptina es una enzima antiinflamatoria, y en nuestro estudio se observó que los pacientes con obesidad presentan niveles disminuidos de la misma, aunque esperaríamos encontrar los niveles de la misma más disminuidos en obesos con asma, cosa que no encontramos en el mismo.

Los polimorfismos de los genes estudiados de ADIPOQ 276 y 45 heterocigotos se han relacionado con obesidad en algunos grupos poblacionales, no ha habido relación con homocigotos.

Es importante seguir estudiando estos polimorfismos, tanto en estos genes como en otros relacionados ya que el conocimiento de las variantes en estos grupos lleva a la identificación de factores genéticos asociados a riesgo o protección.

XV. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES



*Procesamiento: Se envían las muestras al Instituto Nacional de Cardiología

XVI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Paz-Filho GJ, Volaco A, Suplicy HL, Radominski RB, Boguszewski CL. Decrease in leptin production by the adipose tissue in obesity associated with severe metabolic syndrome. *Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia* 2009;53:1088-95.
2. Fernandez-Riejos P, Najib S, Santos-Alvarez J, et al. Role of leptin in the activation of immune cells. *Mediators of inflammation* 2010;2010:568343.
3. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2004;89:2548-56.
4. Story RE. Asthma and obesity in children. *Current opinion in pediatrics* 2007;19:680-4.
5. Calzada PJ, Anderson-Worts P. The obesity epidemic: are minority individuals equally affected? *Primary care* 2009;36:307-17.
6. Ford ES. The epidemiology of obesity and asthma. *The Journal of allergy and clinical immunology* 2005;115:897-909; quiz 10.
7. Brisbon N, Plumb J, Brawer R, Paxman D. The asthma and obesity epidemics: the role played by the built environment--a public health perspective. *The Journal of allergy and clinical immunology* 2005;115:1024-8.
8. del Rio-Navarro BE, Velazquez-Monroy O, Sanchez-Castillo CP, et al. The high prevalence of overweight and obesity in Mexican children. *Obesity research* 2004;12:215-23.
9. Gutiérrez J RDJ, Shamah-Levy T, Villalpando-Hernández S, Franco A, Cuevas-Nasu L, Romero-Martínez M, Hernández-Avila M. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública (MX) 2012.
10. Barlow SE, Expert C. Expert committee recommendations regarding the prevention, assessment, and treatment of child and adolescent overweight and obesity: summary report. *Pediatrics* 2007;120 Suppl 4:S164-92.
11. Bradford NF. Overweight and obesity in children and adolescents. *Primary care* 2009;36:319-39.
12. Zhu H, Yan W, Ge D, et al. Relationships of cardiovascular phenotypes with healthy weight, at risk of overweight, and overweight in US youths. *Pediatrics* 2008;121:115-22.
13. Ogden CL, Carroll MD, Flegal KM. High body mass index for age among US children and adolescents, 2003-2006. *JAMA : the journal of the American Medical Association* 2008;299:2401-5.
14. Matsuzawa Y. Establishment of a concept of visceral fat syndrome and discovery of adiponectin. *Proceedings of the Japan Academy Series B, Physical and biological sciences* 2010;86:131-41.
15. Shen W, Punyanitya M, Chen J, et al. Waist circumference correlates with metabolic syndrome indicators better than percentage fat. *Obesity* 2006;14:727-36.
16. Scherzer R, Shen W, Bacchetti P, et al. Simple anthropometric measures correlate with metabolic risk indicators as strongly as magnetic resonance imaging-measured adipose tissue depots in both HIV-infected and control subjects. *The American journal of clinical nutrition* 2008;87:1809-17.
17. Jang AS, Kim TH, Park JS, et al. Association of serum leptin and adiponectin with obesity in asthmatics. *The Journal of asthma : official journal of the Association for the Care of Asthma* 2009;46:59-63.
18. National Asthma E, Prevention P. Expert Panel Report 3 (EPR-3): Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma-Summary Report 2007. *The Journal of allergy and clinical immunology* 2007;120:S94-138.
19. Pearce N, Ait-Khaled N, Beasley R, et al. Worldwide trends in the prevalence of asthma symptoms: phase III of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Thorax* 2007;62:758-66.
20. Del-Rio-Navarro B, Del Rio-Chivardi JM, Berber A, Sienra-Monge JJ, Rosas-Vargas MA, Baeza-Bacab M. Asthma prevalence in children living in north Mexico City and a

- comparison with other Latin American cities and world regions. *Allergy and asthma proceedings : the official journal of regional and state allergy societies* 2006;27:334-40.
21. Camilo DF, Ribeiro JD, Toro AD, Baracat EC, Barros Filho AA. Obesity and asthma: association or coincidence? *Jornal de pediatria* 2010;86:6-14.
 22. Deane S, Thomson A. Obesity and the pulmonologist. *Archives of disease in childhood* 2006;91:188-91.
 23. Shore SA, Fredberg JJ. Obesity, smooth muscle, and airway hyperresponsiveness. *The Journal of allergy and clinical immunology* 2005;115:925-7.
 24. Tórax FAd. *Manual de Pruebas de Función Pulmonar, de la Fisiología a la Práctica*. Barcelona, España: Thomson Reuters; 2009.
 25. Tantisira KG, Litonjua AA, Weiss ST, Fuhlbrigge AL, Childhood Asthma Management Program Research G. Association of body mass with pulmonary function in the Childhood Asthma Management Program (CAMP). *Thorax* 2003;58:1036-41.
 26. Jones RL, Nzekwu MM. The effects of body mass index on lung volumes. *Chest* 2006;130:827-33.
 27. Beuther DA. Obesity and asthma. *Clinics in chest medicine* 2009;30:479-88, viii.
 28. Aaron SD, Fergusson D, Dent R, Chen Y, Vandemheen KL, Dales RE. Effect of weight reduction on respiratory function and airway reactivity in obese women. *Chest* 2004;125:2046-52.
 29. Clerisme-Beaty EM, Karam S, Rand C, et al. Does higher body mass index contribute to worse asthma control in an urban population? *The Journal of allergy and clinical immunology* 2009;124:207-12.
 30. Hakala K, Stenius-Aarniala B, Sovijarvi A. Effects of weight loss on peak flow variability, airways obstruction, and lung volumes in obese patients with asthma. *Chest* 2000;118:1315-21.
 31. August GP, Caprio S, Fennoy I, et al. Prevention and treatment of pediatric obesity: an endocrine society clinical practice guideline based on expert opinion. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2008;93:4576-99.
 32. Freedman DS, Khan LK, Dietz WH, Srinivasan SR, Berenson GS. Relationship of childhood obesity to coronary heart disease risk factors in adulthood: the Bogalusa Heart Study. *Pediatrics* 2001;108:712-8.
 33. Chen W, Srinivasan SR, Li S, Xu J, Berenson GS. Clustering of long-term trends in metabolic syndrome variables from childhood to adulthood in Blacks and Whites: the Bogalusa Heart Study. *American journal of epidemiology* 2007;166:527-33.
 34. Steinberger J, Daniels SR, Eckel RH, et al. Progress and challenges in metabolic syndrome in children and adolescents: a scientific statement from the American Heart Association Atherosclerosis, Hypertension, and Obesity in the Young Committee of the Council on Cardiovascular Disease in the Young; Council on Cardiovascular Nursing; and Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation* 2009;119:628-47.
 35. Vettor R, Milan G, Rossato M, Federspil G. Review article: adipocytokines and insulin resistance. *Alimentary pharmacology & therapeutics* 2005;22 Suppl 2:3-10.
 36. Schaffler A, Muller-Ladner U, Scholmerich J, Buchler C. Role of adipose tissue as an inflammatory organ in human diseases. *Endocrine reviews* 2006;27:449-67.
 37. Fain JN. Release of inflammatory mediators by human adipose tissue is enhanced in obesity and primarily by the nonfat cells: a review. *Mediators of inflammation* 2010;2010:513948.
 38. Cinti S, Mitchell G, Barbatelli G, et al. Adipocyte death defines macrophage localization and function in adipose tissue of obese mice and humans. *Journal of lipid research* 2005;46:2347-55.
 39. Pérez-Rubio G S-ZI, Ramírez-Venegas A, Sansorez R, Reséndiz-Hernández JM, Montañó M, Camarena A, Falfán-Valencia R. Aspectos actuales de los estudios de asociación del genoma (GWAS) en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. *Rev Inst Enf Resp Mex* 2009;22:337-46.

40. Canello R, Clement K. Is obesity an inflammatory illness? Role of low-grade inflammation and macrophage infiltration in human white adipose tissue. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology* 2006;113:1141-7.
41. Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *The Journal of biological chemistry* 1995;270:26746-9.
42. 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 abundant Gene transcript 1). *Biochemical and biophysical research communications* 1996;221:286-9.
43. Pajvani UB, Du X, Combs TP, et al. Structure-function studies of the adipocyte-secreted hormone Acrp30/adiponectin. Implications for metabolic regulation and bioactivity. *The Journal of biological chemistry* 2003;278:9073-85.
44. al PXe. Estructura primaria de la adiponectina humana. *Med Clin* 2005.
45. Haluzik M, Parizkova J, Haluzik MM. Adiponectin and its role in the obesity-induced insulin resistance and related complications. *Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca* 2004;53:123-9.
46. Sone Y, Yamaguchi K, Fujiwara A, et al. Association of lifestyle factors, polymorphisms in adiponectin, perilipin and hormone sensitive lipase, and clinical markers in Japanese males. *Journal of nutritional science and vitaminology* 2010;56:123-31.
47. Tsao TS, Tomas E, Murrey HE, et al. Role of disulfide bonds in Acrp30/adiponectin structure and signaling specificity. Different oligomers activate different signal transduction pathways. *The Journal of biological chemistry* 2003;278:50810-7.
48. Kelly AS, Steinberger J, Kaiser DR, Olson TP, Bank AJ, Dengel DR. Oxidative stress and adverse adipokine profile characterize the metabolic syndrome in children. *Journal of the cardiometabolic syndrome* 2006;1:248-52.
49. Dedoussis GV, Kapiri A, Samara A, et al. Expression of inflammatory molecules and associations with BMI in children. *European journal of clinical investigation* 2010;40:388-92.
50. Fain JN, Buehrer B, Bahouth SW, Tichansky DS, Madan AK. Comparison of messenger RNA distribution for 60 proteins in fat cells vs the nonfat cells of human omental adipose tissue. *Metabolism: clinical and experimental* 2008;57:1005-15.
51. Halleux CM, Takahashi M, Delporte ML, et al. Secretion of adiponectin and regulation of apM1 gene expression in human visceral adipose tissue. *Biochemical and biophysical research communications* 2001;288:1102-7.
52. Maeda N, Takahashi M, Funahashi T, et al. PPARgamma ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein. *Diabetes* 2001;50:2094-9.
53. Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nature medicine* 2002;8:1288-95.
54. Okamoto Y, Folco EJ, Minami M, et al. Adiponectin inhibits the production of CXC receptor 3 chemokine ligands in macrophages and reduces T-lymphocyte recruitment in atherogenesis. *Circulation research* 2008;102:218-25.
55. Steffens S, Mach F. Adiponectin and adaptive immunity: linking the bridge from obesity to atherogenesis. *Circulation research* 2008;102:140-2.
56. Shore SA, Terry RD, Flynt L, Xu A, Hug C. Adiponectin attenuates allergen-induced airway inflammation and hyperresponsiveness in mice. *The Journal of allergy and clinical immunology* 2006;118:389-95.
57. Fessler MB, Massing MW, Spruell B, et al. Novel relationship of serum cholesterol with asthma and wheeze in the United States. *The Journal of allergy and clinical immunology* 2009;124:967-74 e1-15.
58. Thuesen BH, Husemoen LL, Hersoug LG, Pisinger C, Linneberg A. Insulin resistance as a predictor of incident asthma-like symptoms in adults. *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology* 2009;39:700-7.

59. del Rio-Navarro BE C-RJ, Garibay-Nieto N, Berber A, Toussaint G. Higher metabolic syndrome in obese asthmatic compared to obese nonasthmatic adolescent males. *Journal of Asthma* 2010;47:501-6.
60. Al-Shawwa BA A-HN, DeMattia L, and Gershan W. Asthma and insulin resistance in morbidly obese children and adolescents. *Journal of Asthma* 2007;44:469-73.
61. Kattan M, Kumar R, Bloomberg GR, et al. Asthma control, adiposity, and adipokines among inner-city adolescents. *The Journal of allergy and clinical immunology* 2010;125:584-92.
62. Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature* 2003;423:762-9.
63. Menzaghi C, Ercolino T, Di Paola R, et al. A haplotype at the adiponectin locus is associated with obesity and other features of the insulin resistance syndrome. *Diabetes* 2002;51:2306-12.
64. Zhang D, Efendic S, Brismar K, Gu HF. Effects of MCF2L2, ADIPOQ and SOX2 genetic polymorphisms on the development of nephropathy in type 1 Diabetes Mellitus. *BMC medical genetics* 2010;11:116.
65. Berg AH, Combs TP, Du X, Brownlee M, Scherer PE. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nature medicine* 2001;7:947-53.
66. Pajvani UB, Hawkins M, Combs TP, et al. Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity. *The Journal of biological chemistry* 2004;279:12152-62.
67. Kazumi T, Kawaguchi A, Sakai K, Hirano T, Yoshino G. Young men with high-normal blood pressure have lower serum adiponectin, smaller LDL size, and higher elevated heart rate than those with optimal blood pressure. *Diabetes care* 2002;25:971-6.
68. A. D-RC. Adiponectina: El tejido adiposo más allá de la reserva inerte de energía. *Revista de Endocrinología y Nutrición* 2007;15:149-55.

XVII. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Dentro de las limitaciones del estudio, tenemos que el grupo estudiado a pesar de contener un número significativo de pacientes es poco en relación a la población general y los resultados generales podrían no ser representativos de la población mexicana.

En el presente trabajo solo se estudiaron los polimorfismos tales como ADIPOQ 276 y ADIPOQ 45, si bien estos se han reportado en población caucásica y asiática como preponderantes en estas enfermedades, aún quedan por dilucidar si existen otros polimorfismos que jueguen un rol en la fisiopatología de estas patologías.

En este estudio no se tomaron en cuenta los niveles de leptina, porque no se encontraban dentro de los objetivos principales, sin embargo esta adipocina pudiera ejercer un papel tanto en obesidad como en asma.

XVIII. ANEXOS

Anexo 1.-



HOSPITAL INFANTIL de MÉXICO

FEDERICO GÓMEZ

Instituto Nacional de Salud

CARTA ASENTIMIENTO INFORMADO CONTROLES.

Nombre del niño _____ Fecha _____
N° Registro Hospital _____ N° paciente del estudio _____

Tanto la obesidad como el asma son dos enfermedades muy frecuentes entre ustedes los jóvenes, es clara esta relación, sin embargo necesitamos estudiarla a fondo para poder entender su comportamiento y proponer soluciones al problema.

¿Por qué se está haciendo este estudio?

El propósito del estudio es medir en la sangre de adolescentes obesos con y sin asma, la cantidad de las principales sustancias producidas por el tejido graso (adiponectina y leptina) y relacionarlas con la producción de otras sustancias (radicales libre de oxígeno) que alteran las grasas y proteínas del cuerpo y las cuales tienen participación en el asma. También, se incluirán en el estudio a adolescentes obesos con peso normal, asmáticos y no asmáticos, con objeto de poder hacer una comparación adecuada.

Te invito a participar, junto con otros 180 adolescentes.

¿Qué procedimientos se me realizarán?

Se te pedirá que asistas a una sola cita, en ayunas, para tomarte una muestra de sangre (15 mililitros) para que podamos medir cantidad de grasa en tus células sanguíneas (colesterol, triglicéridos), además de insulina, glucosa, sustancias de la inflamación.

Preguntaremos por tus datos generales para una historia clínica, antecedentes personales de enfermedad, mediremos tu peso, talla y pliegues cutáneos, presión arterial, frecuencia cardíaca. Finalmente realizaremos una prueba de función pulmonar (se te pedirá que respires adentro de una cabina a través de un tubo conectado a un aparato llamado espirómetro para medir el flujo de aire que entra y sale de tus bronquios).

¿Qué me puede pasar?

Durante la toma de muestra de sangre pudieras sentir algo de dolor o molestia ocasionada por la aguja en tu vena, y a veces llega a formarse un pequeño moretón en el sitio de la inserción. Rara vez llega a ocurrir una pequeña hemorragia en el sitio por el que penetra la aguja en la vena.

Durante las pruebas de función pulmonar, pudieras presentar dificultad para respirar, tos, mareo o desvanecimiento, y opresión en el tórax. En cualquier caso planteado, el personal del departamento, que en todo momento esta con tigo, esta capacitado para resolver cualquier eventualidad.

¿Qué beneficios obtengo por participar en este estudio?



HOSPITAL INFANTIL de MÉXICO

FEDERICO GÓMEZ

Instituto Nacional de Salud

Si decides participar, de manera voluntaria, la consulta médica y todos los estudios que te realicemos serán gratis. Es muy importante decirte que NO te daremos ningún estímulo económico o de otro tipo. Así mismo, los registros de participación en este estudio serán mantenidos en una forma de estricta confidencialidad y de seguridad.

NO estas obligado a participar, bajo ninguna condición. Si en algún momento decides no hacerlo, antes de iniciar o durante el procedimiento, solo indicalo al personal. Esto no te causara ningún reproche o sanción alguna.

Entiendo que yo _____ estoy participando voluntariamente en el estudio. Que puedo retirarme en cualquier momento sin perjuicio o pérdida de cualquier beneficio y cualquier pregunta que yo tenga relacionada con algún aspecto de este estudio o con mis derechos como persona en investigación, será contestada por la Dra. Blanca Estefa Del Río Navarro (Méd. Alergólogo, Jefa del Area de Alergia e Investigadora Principal) al 52289917 ext. 2150.

Nombre y firma del paciente

fecha: dd/mm/aaaa

Nombre y firma del padre o tutor

fecha: dd/mm/aaaa

Nombre y firma del investigador

fecha: dd/mm/aaaa

Nombre y firma del testigo 1

fecha: dd/mm/aaaa

Dirección: _____

Relación con el paciente: _____

Nombre y firma del testigo 2

fecha: dd/mm/aaaa

Dirección: _____

Relación con el paciente: _____



HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO
FEDERICO GÓMEZ
Instituto Nacional de Salud

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO CONTROLES

Nombre del niño _____ Fecha _____
N° Registro Hospital _____ N° paciente del estudio _____

Tanto la obesidad como el asma son dos enfermedades muy frecuentes en nuestra población. Su asociación clínica es clara pero el mecanismo por el cual se produce ésta, aun no se conoce. Su estudio es muy importante, México es uno de los países con mayor obesidad en el mundo y queremos plantear soluciones a este grave problema de salud.

¿Por qué se está haciendo este estudio?

El propósito del estudio es medir en adolescentes obesos (con y sin asma) la cantidad de las principales sustancias producidas por el tejido graso (adiponectina y leptina) y relacionarlas con la producción de otras sustancias (radicales libre de oxígeno) que alteran las grasa y proteínas del cuerpo y las cuales tienen participación en el asma. También se harán dichas mediciones en adolescentes con peso normal (con y sin asma), con objeto de poder compararlos con los jóvenes obesos.

Su hijo (a) ha sido invitado a participar en este estudio clínico junto con otros jóvenes con peso normal, que en total suman 180 (90 asmáticos y 90 no asmáticos).

¿Qué cosas le van a hacer a mi hijo(a)?

Si usted y su hijo (a) están de acuerdo en participar en el estudio, manifestando por escrito con la firma de este documento y del asentimiento del menor de edad, se les pedirá que asistan a una sola cita, en ayuno por la mañana, para que se le tome una muestra de sangre (15 mililitros) que servirá para medir las siguientes sustancias: colesterol, triglicéridos, lipoproteínas, insulina, glucosa, sustancias de inflamación y de la actividad enzimática celular.

Se les preguntará sobre sus antecedentes médicos y se le practicará una detallada exploración física, además de la toma de los valores como peso, talla, pliegues cutáneos, presión arterial y frecuencia cardíaca.

Mediremos también los valores de la función respiratoria con un aparato llamado espirómetro, en el su hijo(a) soplará por medio de un tubo conectado al mismo.

¿Existe algún riesgo para mi hijo(a)?

Durante la toma de muestra de sangre su hijo pudiera sentir algo de dolor o molestia ocasionados por la aguja, a veces llega a formarse un pequeño moretón en el sitio de la punción. Muy ocasionalmente se presentan pequeñas hemorragias en el sitio por el que penetra la aguja y es mucho más raro que el paciente sufra una reacción de desmayo.



HOSPITAL INFANTIL de MÉXICO

FEDERICO GÓMEZ

Instituto Nacional de Salud

Si decides participar, de manera voluntaria, la consulta médica y todos los estudios que te realicemos serán gratis. Es muy importante decirte que NO te daremos ningún estímulo económico o de otro tipo. Así mismo, los registros de participación en este estudio serán mantenidos en una forma de estricta confidencialidad y de seguridad.

NO estas obligado a participar, bajo ninguna condición. Si en algún momento decides no hacerlo, antes de iniciar o durante el procedimiento, solo indícalo al personal. Esto no te causara ningún reproche o sanción alguna.

Entiendo que yo _____ estoy participando voluntariamente en el estudio. Que puedo retirarme en cualquier momento sin perjuicio o pérdida de cualquier beneficio y cualquier pregunta que yo tenga relacionada con algún aspecto de este estudio o con mis derechos como persona en investigación, será contestada por la Dra. Blanca Estela Del Rio Navarro (Méd. Alergólogo, Jefa del Area de Alergia e Investigadora Principal) al 52289917 ext. 2150.

Nombre y firma del paciente

fecha: dd/mm/aaaa

Nombre y firma del padre o tutor

fecha: dd/mm/aaaa

Nombre y firma del investigador

fecha: dd/mm/aaaa

Nombre y firma del testigo 1

fecha: dd/mm/aaaa

Dirección: _____
Relación con el paciente: _____

Nombre y firma del testigo 2

fecha: dd/mm/aaaa

Dirección: _____
Relación con el paciente: _____

HISTORIA CLINICA

Folio: Fecha: / / No. De Expediente

IDENTIFICACIÓN:
 Nombre Completo: _____
 1. Sexo: Masculino Femenino 2. Edad: _____ Años _____ Meses
 3. Fecha de Nacimiento: día mes Año
 4. Persona que Informa: Madre Padre Paciente Abuelo Otro _____

ANTECEDENTES FAMILIARES

| | |
|---|---|
| <p>5. Tiene sobre peso u obesidad</p> <p>1. Madre <input type="checkbox"/></p> <p>2. Padre <input type="checkbox"/></p> <p>3. Abuelo (a) <input type="checkbox"/></p> <p>4. Hermano (a) <input type="checkbox"/></p> <p>5. No sabe _____ <input type="checkbox"/></p> | <p>6. Tiene Diabetes Mellitus</p> <p>1. Madre <input type="checkbox"/></p> <p>2. Padre <input type="checkbox"/></p> <p>3. Abuelo(a) <input type="checkbox"/></p> <p>4. Hermano(a) <input type="checkbox"/></p> <p>5. No sabe _____ <input type="checkbox"/></p> |
| <p>7. Tiene hipertensión Arterial</p> <p>Madre <input type="checkbox"/></p> <p>Padre <input type="checkbox"/></p> <p>Abuelo (a) <input type="checkbox"/></p> <p>Hermano (a) <input type="checkbox"/></p> <p>No sabe _____ <input type="checkbox"/></p> | <p>8. Tiene Enfermedades del Corazón</p> <p>Madre <input type="checkbox"/></p> <p>Padre <input type="checkbox"/></p> <p>Abuelo(a) <input type="checkbox"/></p> <p>Hermano(a) <input type="checkbox"/></p> <p>No sabe _____ <input type="checkbox"/></p> |
| <p>9. Tiene Colesterol Alto</p> <p>Madre <input type="checkbox"/></p> <p>Padre <input type="checkbox"/></p> <p>Abuelo (a) <input type="checkbox"/></p> <p>Hermano (a) <input type="checkbox"/></p> <p>No sabe _____ <input type="checkbox"/></p> | <p>10. Tiene Algún tipo de Cáncer</p> <p>Madre <input type="checkbox"/></p> <p>Padre <input type="checkbox"/></p> <p>Abuelo(a) <input type="checkbox"/></p> <p>Hermano(a) <input type="checkbox"/></p> <p>No sabe _____ <input type="checkbox"/></p> |

ANTECEDENTES PERSONALES

11. Edad Gestacional (semanas):
 12. La madre curso con diabetes Gestacional
 1. Sí
 2. No
 3. No sabe
 13. El niño o niña fue amamantado alguna vez
 1. Sí
 2. No
 3. No sabe
 14. ¿Cuánto tiempo fue amamantado? Meses Días
 15. ¿A qué edad le empezó a dar leche diferente a la materna? Meses
 16. ¿A qué edad le empezó otros alimentos diferentes a la leche (verduras, fruta, etc.)? Meses
 17. Nombre de la Madre: _____ Edad: _____ Años
 18. Asistió a la escuela: Sí No Si su respuesta es No pase a la pregunta 20
 19. Nivel de estudios: 1. Primaria 2. Secundaria 3. Preparatoria 4. Profesional Otro
 20. Nombre del Padre: _____ Edad: _____ Años
 21. Asistió a la escuela: Sí No Si su respuesta es No pase a la pregunta 20
 22. Nivel de estudios: 1. Primaria 2. Secundaria 3. Preparatoria 4. Profesional Otro
 23. Número de personas que habitan en la vivienda: _____

ANTECEDENTES PERSONALES PATOLOGICOS

24. ¿Padece alguna enfermedad crónica?

- 1. Sí
- 2. No
- 3. No sabe

25. ¿Cuál?

- 1. Asma
- 2. Diabetes
- 3. Enfermedad Renal
- 4. Otra: _____

26. ¿Toma algún medicamento para este padecimiento?

- 1. Sí
- 2. No
- 3. No sabe

27. ¿Cuál?

- 1. Asma
- 2. Diabetes
- 3. Enfermedad Renal
- 4. Otra: _____

28. ¿Ronca cuando duerme?

- 1. Sí
- 2. No
- 3. No sabe

29. ¿Duerme con facilidad estando sentado durante el día?

- 1. Sí
- 2. No
- 3. No sabe

30. ¿Existen alteraciones del ciclo menstrual (frecuencia, ritmo, duración)?

- 1. Sí
- 2. No
- 3. No sabe

Si es niño pase a la pregunta 31.

EXPLORACION FISICA

31. Hipertrofia de amígdalas

- 1. Sí
- 2. No

32. Acantosis nigricans

- 1. Sí
- 2. No

33. Sibilancias

- 1. Sí
- 2. No

34. Tiroides palpable

- 1. Sí
- 2. No

35. Giba dorsal

- 1. Sí
- 2. No

36. Hirsutismo

- 1. Sí
- 2. No

37. Genu valgo

- 1. Sí
- 2. No

38. Genu recurvatum

- 1. Sí
- 2. No

TANNER EN EL VARON

39. Cambios en el vello púbico

- 1 2 3 4

40. Cambios en los genitales

- 1 2 3 4 5

TANNER EN LA MUJER

41. Cambios en los senos

- 1 2 3 4

42. Cambios en el vello púbico

- 1 2 3 4 5