



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Maestría y Doctorado en Ciencias Bioquímicas

“Análisis de la expresión de leptina, adiponectina y sus receptores, en tejido adiposo de individuos con obesidad grado 3 con y sin hipertensión”

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
Maestra en Ciencias

PRESENTA:

Q.F.B. Marroquín Fernández María del Carmen

TUTOR PRINCIPAL

Dra. Ileana Patricia Canto Cetina
Facultad de Medicina, UNAM

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

Dra. Marta Alicia Menjivar Iraheta
Facultad de Química, UNAM

Dr. Samuel Canizales Quinteros
Facultad de Química, UNAM

Ciudad de México. Agosto, 2017



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.

Formato: mgdp_4

Ficha de Graduado

PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO EN CIENCIAS BIOQUIMICAS

Apellido Paterno	Marroquín
Apellido Materno	Fernández
Nombre(s)	María del Carmen
Correo Electrónico	cmarrof@hotmail.com
Teléfono de contacto	5527273444
Grado a obtener	Maestría
Título de la tesis (español)	"Análisis de la expresión de leptina, adiponectina y sus receptores, en tejido adiposo de individuos con obesidad grado 3 con y sin hipertensión"
Título de la tesis (inglés)	"Analysis of the expression of leptin, adiponectin and its receptors, in the adipose tissue of individuals with grade 3 obesity with and without hypertension"
Situación académica y/o laboral después de obtener el grado	
Nombre completo del tutor	Dra. Ileana Patricia Canto Cetina
Publicaciones	
Número total de artículos publicados, en prensa y enviados, generados durante el desarrollo del proyecto de investigación y que se incluyen en el trabajo de tesis. Incluir todos los autores, año, título del trabajo, revista, volumen, páginas e índice de impacto.	
Publicaciones adicionales (colaboraciones, proyectos paralelos, etc.)	

Contenido

Agradecimientos.....	5
Resumen.....	6
Abreviaturas	7
1.0 Introducción.....	8
1.1 Hipertensión arterial	9
1.2 Regulación de la presión arterial.....	10
1.3 Tejido adiposo y adipocinas	12
1.4 Leptina	14
1.5 Adiponectina	16
2.0 Justificación.....	19
3.0 Objetivo	20
3.1 Objetivos particulares	20
4.0 Hipótesis.....	21
5.0 Diseño del estudio.....	22
5.1 Tipo de estudio	22
5.2 Sujetos.....	22
5.3 Criterios de inclusión de los individuos con obesidad sin HTA (controles) ..	22
5.4 Criterios de exclusión de los individuos con obesidad sin HTA (controles).	23
5.5 Criterios de inclusión de individuos con obesidad e HTA (casos).....	23
5.6 Criterios de exclusión de individuos con obesidad e HTA (casos).....	23
5.7 Criterios de eliminación para ambos grupos.....	24
6.0 Análisis estadístico.....	24
7.0 Consideraciones éticas	25
8.0 Diagrama metodológico.....	26

9.0 Métodos.....	27
9.1 Cuantificación de leptina y adiponectina en suero	27
9.2 Obtención del RNA total a partir de tejido adiposo	27
9.3 Conversión del mRNA a cDNA	27
9.4 Análisis de la expresión génica.....	27
10.0 Resultados	28
11.0 Discusión.....	38
12.0 Conclusiones.....	46
13.0 Perspectivas.....	47
14.0 Referencias	48
Anexo 1. Carta de consentimiento informado.....	54
Anexo 2. Cuantificación de RNA	57
Anexo 3. Integridad del RNA	58
Anexo 4. Condiciones de la PCR para conversión de mRNA a cDNA	59

Agradecimientos

Al Consejo Nacional De Ciencia y Tecnología (CONACyT), por el apoyo a este proyecto con el número 2011-C01-161909; así como por la beca número 584228 que se me fue otorgada.

Al Apoyo al Fortalecimiento y Desarrollo de la Infraestructura Científica y Tecnológica, CONACyT, apoyo: 250786

Resumen

La obesidad se encuentra entre los problemas de salud más graves, tiene una prevalencia en México en adultos del 33.3%. Estudios tanto en humanos, como aquellos llevados a cabo en animales de experimentación, han demostrado que la obesidad está fuertemente asociada con el desarrollo y el agravamiento de la hipertensión arterial (HTA), entidad conocida como hipertensión relacionada a obesidad.

La HTA es el principal factor de riesgo para presentar enfermedades cardiovasculares; la prevalencia de HTA en nuestro país es de 31.5%, la cual se incrementa en pacientes con obesidad al 42.3%. Lo anterior pudiera ser secundario a que el tejido adiposo es crítico en la producción y secreción patológica de adipocitocinas, las cuales se ha sugerido que desempeñan un rol en el desarrollo de la hipertensión relacionada con la obesidad; entre estas adipocitocinas se encuentra la leptina y la adiponectina. Estudios en modelos de roedores, han descrito que el incremento crónico de las concentraciones plasmáticas de leptina (que son comparables a las encontradas en la obesidad) causa un aumento de la presión arterial. En relación a la adiponectina, en un estudio realizado en ratones con obesidad severa se observó que las concentraciones disminuidas de adiponectina se asocian a valores elevados de presión arterial.

Con base en lo anterior y debido a que no todos los individuos con obesidad presentan HTA, el objetivo de este estudio fue evaluar la expresión de leptina, adiponectina y sus receptores en tejido adiposo por medio de RT-PCR cuantitativa, así como analizar las concentraciones de estas adipocitocinas por medio del método de ELISA, en el suero de las mujeres en estudio. Se trató de un estudio de casos y controles. El grupo de los casos (N=25) estuvo conformado por individuos con obesidad grado 3 e HTA. El grupo de los controles estuvo (N=25) conformado por individuos con obesidad grado 3 sin HTA.

En relación a los resultados obtenidos no se encontraron diferencias significativas entre los grupos evaluados al analizar la expresión de leptina, adiponectina y sus receptores, en los tejidos adiposos subcutáneo (LEP, LEPR, ADIPOQ y ADIPOR1/2) y visceral (ADIPOQ y ADIPOR1/2).

Se lograron evaluar satisfactoriamente las concentraciones de leptina y adiponectina en suero, así como la expresión de los genes de leptina, adiponectina y sus respectivos receptores, en el tejido adiposo subcutáneo y visceral, de mujeres con obesidad grado 3, con y sin HTA.

Abreviaturas

ACE	Enzima convertidora de angiotensina
Ang II	Angiotensina II
HTA	Hipertensión arterial
IMC	Índice de masa corporal
NO	Óxido Nitríco
OMS	Organización Mundial de la Salud
PA	Presión arterial
SRAA	Sistema renina-angiotensina-aldosterona
T.A.	Tejido adiposo

1.0 Introducción

La Organización Mundial de la Salud (OMS), define al sobrepeso y a la obesidad como la acumulación anormal o excesiva de tejido adiposo. En los adultos, se utiliza el índice de masa corporal (IMC), como un indicador simple de la relación entre el peso y la talla para agrupar a los individuos en peso normal, con sobrepeso o con obesidad. En la tabla 1, se puede observar la clasificación de la OMS del IMC para rango normal, sobrepeso y obesidad (clase 1, 2 y 3).

Se considera a la obesidad un problema de salud serio tanto en los países desarrollados como en los que se encuentran en vías de desarrollo, ya que un billón de personas presenta sobrepeso u obesidad, haciendo de esto, una epidemia global. En México, la última Encuesta Nacional de Salud demostró una prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad de aproximadamente el 72% y casi una tercera parte, presenta obesidad; además de que un tercio de los jóvenes mexicanos también la presentan, por lo que la cifra de esta patología se ha triplicado desde hace 10 años (1).

Los datos epidemiológicos indican que la prevalencia de obesidad empezó a incrementarse aproximadamente hace 40 años; las causas de esta epidemia son adjudicadas principalmente a dos factores: la combinación entre la disminución en la actividad física y la sobre alimentación; sin embargo se ha sugerido que diversos factores adicionales contribuyen a esto, como es la falta de sueño, disruptores endócrinos y efectos intrauterinos(1).

Los estudios epidemiológicos han demostrado que la obesidad se asocia con el aumento en el riesgo de desarrollar diversas enfermedades, entre las que se encuentra la hipertensión(2).

Tabla 1. Clasificación de la OMS para el IMC

Clasificación	IMC (Kg/m²)
Rango normal	18.50 - 24.99
Sobrepeso	25.00- 29.99
Obesidad	≥30.00
Obesidad clase 1	30.00 - 34.99
Obesidad clase 2	35.00 - 39.99
Obesidad clase 3	≥40.00

1.1 Hipertensión arterial

La OMS define a la hipertensión arterial (HTA) como un trastorno en el que los vasos sanguíneos tienen una presión persistentemente alta. La presión arterial es la fuerza que ejerce la sangre contra las paredes de las arterias al ser bombeada por el corazón, cuánto más alta es la tensión, más esfuerzo tiene que realizar el corazón para bombear.

En la tabla 2 se presenta la clasificación de la OMS para la tensión arterial sistólica y diastólica, agrupado de acuerdo al nivel óptimo, normal, normal alta e hipertensión.

El sobrepeso y la obesidad se han asociado con una larga lista de entidades patológicas como es la HTA. Se ha descrito que la prevalencia de la HTA se incrementa de acuerdo a la relación lineal entre el IMC y la presión arterial (PA) y se ha estimado que el riesgo de desarrollar hipertensión aumenta de 20-30% por cada 5% de incremento en la ganancia de peso. Asimismo, se considera a la HTA como el principal factor de riesgo para presentar enfermedades cardiovasculares, las cuales son la segunda causa de muerte en México, siendo la prevalencia de ésta, en nuestro país, del 31.5% y se incrementa en los individuos con obesidad al 42.3% (1).

De tal forma, que el mantener el IMC $<25 \text{ kg/m}^2$ se considera una medida efectiva en la prevención primaria de la hipertensión, ya que la pérdida de peso reduce la PA en la mayoría de los sujetos hipertensos.

El desarrollo de hipertensión en los individuos con obesidad es dependiente de múltiples interacciones entre los que se encuentran factores ambientales, genéticos y epigenéticos (1).

Tabla 2. Clasificación de OMS para la presión arterial

Categoría	Presión sistólica	Presión diastólica
Nivel óptimo	$< 120 \text{ mmHg}$	$< 80 \text{ mmHg}$
Normal	120-129 mmHg	80-84 mmHg
Normal alta	130 a 139 mmHg	85-89 mmHg
Hipertensión	140-159 mmHg	90-99 mmHg

1.2 Regulación de la presión arterial

En un estado fisiológico sano, la presión de la sangre arterial está regulada por el volumen sanguíneo, la resistencia vascular periférica total, y la frecuencia cardiaca, variables que están reguladas por diversos mecanismos de control por retroacción negativa para mantener la homeostasis. La presión arterial aumenta y disminuye conforme el corazón pasa por la sístole y la diástole (1).

La resistencia al flujo en el sistema arterial es mayor en las arteriolas porque estos vasos son los de menor diámetro, así, las variaciones del diámetro de las arteriolas como resultado de vasoconstricción y vasodilatación afectan el flujo sanguíneo a través de capilares y, de modo simultáneo, la presión arterial “torrente arriba” desde

los capilares. De esta manera, un incremento de la resistencia vascular periférica total debido a vasoconstricción de arteriolas puede aumentar la presión arterial. La PA también puede aumentar por un incremento del gasto cardiaco (volumen de sangre bombeado por minuto por cada ventrículo). Esto puede deberse a aumentos de la frecuencia cardiaca o del volumen sistólico que, a su vez, son afectados por otros factores. De este modo, las variables de mayor importancia que afectan la presión arterial son la frecuencia cardiaca, el volumen sistólico (determinado principalmente por el volumen sanguíneo), y la resistencia periférica total. Un aumento de cualquiera de estas, si no se compensa con una disminución de otra variable, originara presión arterial aumentada (45).

La presión arterial puede ser regulada por los riñones, que controlan el volumen de sangre y, así, el volumen sistólico, y por el sistema simpático-suprarrenal. El incremento de la actividad del sistema simpático-suprarrenal puede aumentar la presión arterial al estimular la vasoconstricción de las arteriolas (lo que aumenta la resistencia periférica total) y al promover un gasto cardiaco aumentado. La estimulación simpática también puede afectar el volumen sanguíneo de manera indirecta, al estimular la constricción de vasos sanguíneos renales y, así, reducir la producción de orina (45).

La regulación de volumen sanguíneo por los riñones, se lleva a cabo principalmente por medio de la hormona antidiurética (ADH) o vasopresina, la aldosterona, el sistema renina-angiotensina-aldosterona y el péptido natriurético auricular. La concentración de estas hormonas varía de acuerdo a la osmolalidad plasmática, la necesidad de resorción y retención de sales y agua, y la presión arterial (3).

Para que la presión arterial se mantenga dentro de los límites normales, se necesitan receptores especializados llamados baroreceptores, los cuales son receptores de distensión ubicados en el arco aórtico y los senos carotídeos, a su vez el centro de control vasomotor en el bulbo raquídeo regula el grado de vasoconstricción/vasodilatación y, por ende, ayuda a regular la resistencia periférica total. El reflejo baroreceptor ayuda a mantener la presión arterial normal latido a

latido (los riñones se encargan de la regulación de la PA a plazo más largo, mediante regulación del volumen sanguíneo) (3).

En la hipertensión esencial la presión arterial es directamente proporcional al gasto cardiaco y la resistencia periférica total, una de éstos o ambos, debe estar elevado.

1.3 Tejido adiposo y adipocinas

El tejido adiposo es una variedad especializada de tejido conjuntivo, que se encuentra conformado entre otros, por un grupo de células denominadas adipocitos; éstas, almacenan triglicéridos, los cuales son considerados como la fuente de reserva de energía química más importante de un organismo animal (4).

El tejido adiposo blanco tiene diversas funciones, entre las que se incluyen el almacenamiento de triglicéridos, los cuales se depositan en los adipocitos bajo condiciones de exceso de calorías y los libera durante periodos de ayuno, termorregulación y protección mecánica a los órganos. El equilibrio, entre el depósito y la movilización de los triglicéridos tiene un control nervioso y hormonal (3).

El tejido adiposo es considerado un órgano endócrino debido a que sintetiza y secreta diversas hormonas, conocidas como adipocinas, así como factores de crecimiento. Es importante mencionar que el secretoma de adipocinas varía entre hombres y mujeres, debido a que existe una regulación dependiente de hormonas; además de que las mujeres en comparación con los hombres, tienen un mayor porcentaje de tejido adiposo y éste se encuentra distribuido de manera diferente en el cuerpo. A su vez existen dos tipos de tejido adiposo blanco, el tejido adiposo subcutáneo (debajo de la piel) y el tejido adiposo visceral (mesentéricos y epiplón mayor) (5).

Los depósitos de tejido adiposo subcutáneo (TAS), justo por debajo de la piel, almacenan aproximadamente del 80-90% del tejido adiposo total, principalmente en la región abdominal (alrededor de la cintura), subcapsular (en la espalda alta), área gluteal y femoral (músculos). Este tejido adiposo subcutáneo tiene un perfil

morfológico y metabólico diferente y presenta diferencias en tamaño y función dependiente del sexo, en comparación al tejido adiposo visceral.

Los depósitos intraabdominales incluyen los tejidos adiposos viscerales (TAV). Los TAVs son del 6-20% del tejido adiposo total, con porcentajes más elevados en hombres en comparación con las mujeres. Con el mismo IMC, las mujeres presentan aproximadamente 10 por ciento más tejido adiposo en comparación a los hombres; de igual forma, presentan una mayor cantidad de TAS tanto en la región abdominal como en el área gluteofemoral. Al mismo tiempo las mujeres se caracterizan por una menor cantidad de tejido adiposo intraabdominal/visceral. Se cree que esta distribución diferencial del tejido adiposo entre hombres y mujeres es debida principalmente a la concentración de estrógenos, ya que diversos estudios, revelan que el TAV aumenta en las mujeres durante la transición hacia la menopausia, secundario a la disminución en la concentración de estrógenos. Algo similar ocurre con los hombres de edad avanzada, en donde la concentración de testosterona declina con la edad y el TAV se incrementa (5).

De manera general las adipocinas contribuyen a la regulación del apetito y de la saciedad, la distribución de la grasa, la secreción y sensibilidad a la insulina, el gasto energético, la función endotelial, la inflamación, la presión arterial, así como la homeostasis.

En el tejido adiposo, las adipocinas modulan la adipogénesis, la migración de células del sistema inmune, el metabolismo y la función de los adipocitos. A nivel sistémico, éstas regulan o modulan diferentes procesos biológicos en sus órganos blancos, incluyendo el cerebro, el hígado, el músculo, el tejido vascular, el corazón y el páncreas. Sin embargo, en los sujetos con obesidad existe una disrupción en la síntesis de proteínas debido a un estrés del retículo endoplásmico, por lo que se genera un desequilibrio en la producción y secreción de estas adipocinas, las cuales se ha sugerido que desempeñan un rol en el desarrollo de la hipertensión relacionada con la obesidad; entre éstas se encuentra la leptina y la adiponectina (6)(7).

1.4 Leptina

La leptina, es una hormona perteneciente a la familia de adipocinas, que es secretada en forma abundante por los adipocitos maduros y secretada a la circulación en su forma activa, de esta manera circula tanto en forma libre como unida a su receptor. Además, la concentración de leptina circulante es directamente proporcional a la cantidad de tejido adiposo.

El gen de la leptina (*LEP*) se encuentra en el brazo largo del cromosoma 7 (7q32) y codifica para una proteína de 147 aminoácidos, con un peso molecular de 19 kD. La expresión y/o secreción de leptina se puede ver influida por los estrógenos y su función la lleva a cabo al unirse a su receptor de leptina (8).

El receptor de leptina es codificado por el gen *LEPR*, ubicado en el brazo corto del cromosoma 1 (1p31.3), está conformado por 24 exones y codifica para una proteína que pertenece a la familia gp130 de los receptores de citocinas, conocidos por estimular la transcripción de genes vía la activación de proteínas STAT citosólicas. Se han descrito al menos 2 isoformas del LEPR generadas por “splicing” alternativo: la isoforma larga (transmembranal) y la corta (soluble), la diferencia entre ellas es que la isoforma larga presenta 2 dominios transmembranales, mientras que la isoforma corta se ancla únicamente a la parte externa de la membrana celular. La isoforma corta (soluble) está distribuida en diversos tejidos y la isoforma larga es expresada principalmente en el hipotálamo; esta última es la más estudiada, ya que se ha descrito que es a través de ella, que la leptina lleva a cabo sus funciones (7).

La leptina circulante tiene efectos centrales y periféricos, ya que al unirse a LEPR ejerce su función como parte de una vía de señalización que inhibe la ingesta de alimentos y/o regula el gasto energético para mantener en equilibrio el tejido adiposo. La leptina circulante atraviesa la barrera hematoencefálica y se une a LEPR en el hipotálamo, activando la vía JAK (Janus-activated kinase)- STAT (signal transducers and activators of transcription) (9). Por lo que la leptina en el hipotálamo, incrementa y disminuye la síntesis de péptidos anorexigénicos y orexigénicos respectivamente, dando como resultado una reducción del apetito, por lo que se ha tratado de usar la leptina como terapia en la pérdida de peso al administrarse de

manera recombinante, pero se ha encontrado una reducción en su efecto debido al desarrollo de resistencia central o tolerancia en individuos con obesidad con concentraciones ya elevadas de esta hormona (10).

De igual forma, la leptina tiene diversas funciones endocrinas y está involucrada en la regulación de la respuesta inmune e inflamatoria, hematopoyesis, angiogénesis, etc.

En forma importante, son diversas las evidencias que apoyan el rol de la leptina en la regulación de la presión arterial. La hiperleptinemia promueve la remodelación cardiovascular, principalmente al incrementar la actividad del sistema nervioso simpático; a su vez, la concentración aumentada de leptina puede predecir el desarrollo de hipertensión, debido a un incremento en la actividad del SNS, independientemente del IMC y de la resistencia a la insulina(11).

Desde una perspectiva tanto fisiológica como patológica, cambios en la PA involucran contribuciones periféricas, así como neuronales. Se ha descrito que la leptina incrementa la PA cuando se administra de manera crónica en el SNC (12), estudios clínicos y epidemiológicos realizados en humanos han demostrado que la leptina tiene influencia sobre la actividad nerviosa simpática; en donde la sobreactividad simpática y las elevadas concentraciones plasmáticas de leptina e insulina han sido asociados a la hipertensión relacionada a la obesidad (13).

Por otra parte, los diversos estudios llevados a cabo en roedores, han demostrado que el incremento en la concentración de leptina debido a la obesidad inducida por la dieta, lleva a un aumento en la presión arterial, un efecto que no se presenta en animales deficientes en leptina o en su receptor (14). De igual forma, los ratones con obesidad inducida por la dieta y con concentraciones aumentadas de leptina, presentan un aumento del ritmo cardíaco y de la PA, y que el bloquear las acciones de la leptina revierte estos efectos, vía circuitos neuronales originados en el hipotálamo (15).

Asimismo, se ha descrito en humanos que mutaciones en el gen de leptina o en su receptor que se traduce en una pérdida de la función de la proteína, tienen una

presión arterial más baja, independientemente de presentar obesidad (14). También se ha sugerido que algunos polimorfismos de un sólo nucleótido (SNPs) en los genes de leptina (G2548A) y su receptor (Q223R y K109R), llevan a presentar cambios en la expresión y función, podrían influir en un aumento de la presión arterial(16).

Por otro lado, se ha visto que la obesidad se caracteriza por la presencia de hiperleptinemia e hiperaldosteronismo, y que una disminución en ambos se observa con la pérdida de peso, sugiriendo una posible interacción entre estas dos hormonas. De hecho, recientemente se ha demostrado que leptina es un importante factor estimulante para la secreción de aldosterona por parte del tejido adiposo(17).

1.5 Adiponectina

La adiponectina es una hormona peptídica producida casi exclusivamente por los adipocitos, que está codificada por el gen *ADIPOQ*, ubicado en el brazo largo de cromosoma 3 (3q27.3) y codifica para una proteína constituida de 244 aminoácidos con un peso molecular de 30 kDa. La proteína *ADIPOQ* tiene una estructura cuaternaria al formar homomultímeros, formados de trímeros, hexámeros y multímeros (12-18). Los trímeros (adiponectina de bajo peso molecular, LMW por sus siglas en inglés) están unidos por interacciones no covalentes de dominios tipo colágeno en una triple hélice y por interacciones hidrofóbicas con el dominio globular C1q. Diversos trímeros se pueden asociar para formar hexámeros (adiponectina de mediano peso molecular, MMW, por sus siglas en inglés) unidos por puentes disulfuro, así como multímeros (adiponectina de alto peso molecular, HMW, por sus siglas de inglés).

Se sabe que la adiponectina señala vía al menos dos receptores, *ADIPOR1* y *ADIPOR2*, en sus células blanco. El gen *ADIPOR1* se localiza en el brazo largo de cromosoma 1 (1q32.1), contiene 11 exones y codifica para un receptor de 6 cruces transmembranales de 375 aminoácidos con un peso molecular de 43 kDa. La adiponectina al unirse a *ADIPOR1* activa la cascada de señalización de las AMPK,

la cual está involucrada en el metabolismo de ácidos grasos y sensibilización a la insulina. ADIPOR1 se expresa principalmente en músculo esquelético.

En relación a *ADIPOR2*, éste se localiza en el brazo corto del cromosoma 12 (12p13.3), contiene 9 exones y codifica para un receptor de 6 cruces transmembranales de 386 aminoácidos con un peso molecular de 44 kDa. A diferencia de ADIPOR1, cuando adiponectina se une a ADIPOR2 activa la cascada de señalización de PPAR- α , involucrada en la oxidación de ácidos grasos y uso de la glucosa. ADIPOR2 se expresa principalmente en el hígado (4).

Una de las características más interesantes de la adiponectina, observada en el humano y en una variedad de especies como son los roedores y los monos, es que a diferencia de otras adipocinas, su expresión en el tejido adiposo, así como su concentración en plasma esta disminuida en sujetos con obesidad, particularmente entre individuos con un exceso de tejido adiposo visceral (2).

Dentro de las múltiples funciones de la adiponectina, se encuentra la sensibilización a la insulina, su actividad antiinflamatoria y antiapoptótica, incrementa la secreción de insulina al estimular tanto la expresión del gen de insulina como la exocitosis de los gránulos de insulina y también actúa en el cerebro, al incrementar el gasto energético y de este modo promover la pérdida de peso. En estudios clínicos, la concentración de adiponectina circulante se relaciona inversamente a facetas del síndrome metabólico, incluyendo la resistencia a la insulina, peso corporal, presión arterial, y lípidos en suero (10).

Al igual que la leptina, la adiponectina puede regular la presión arterial, pero a diferencia de ella, la adiponectina juega un rol protector en el sistema cardiovascular, con efectos antihipertensivos y este efecto protector esta mediado por mecanismos antiinflamatorios, sensibilizadores de la insulina y antiaterogénicos.

Se ha descrito que las propiedades antiinflamatorias que presenta esta adipocina es en las etapas más tempranas de la inflamación y se traduce en una disminución en la producción de la proteína C reactiva. A su vez puede disminuir el grado de

inflamación de la pared y el endotelio vascular, y de esa manera regular la estabilidad en la PA.

De igual forma, la adiponectina puede estimular la producción de IL-10 (citocina antiinflamatoria), así como inhibir la producción de interferón gamma y reducir la concentración de IL-6 y TNF- α (factores proinflamatorios)(18). Lo anterior es apoyado por estudios que describen que factores inflamatorios tales como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), disminuyen la expresión de adiponectina; esto modulado a través de la unión de ADD1/SREBP1c al promotor del gen de adiponectina, el cual es un factor de transcripción perteneciente a la familia SREBP, que tienen un papel importante en el metabolismo de lípidos. También se ha reportado una disminución en la expresión de este factor de transcripción relacionada con el aumento de TNF α en el tejido adiposo de humanos con obesidad (19).

En las células endoteliales, la adiponectina estimula la actividad de la sintasa endotelial de óxido nítrico y de esta forma incrementa la producción de óxido nítrico, el cual al ser un potente agente vasodilatador, que lleva a una disminución en la presión arterial (20).

Se ha descrito que la hipoadiponectinemia que es una característica asociada a la obesidad, se correlaciona con el desarrollo de hipertensión; debido a que ha sido reportada una relación inversa entre los niveles de adiponectina en sangre y la PA (21).

2.0 Justificación

La obesidad se asocia con cambios en la presión arterial, la cual puede inducir alteraciones en la estructura y función cardiovascular. Sin embargo, el hecho que algunos individuos con obesidad no presentan HTA y otras co-morbilidades, deja varias preguntas abiertas acerca de los mecanismos patogénicos sin resolver de la obesidad y sus trastornos co-mórbidos. Por consiguiente, para desarrollar nuevas estrategias para la prevención y el tratamiento de estas enfermedades, es esencial una mejor comprensión de los mecanismos moleculares que subyacen a la obesidad y su relación con las enfermedades cardiovasculares y en particular para este proyecto, la posible implicación de la leptina, adiponectina y sus respectivos receptores en la etiología de la HTA asociada a la obesidad.

3.0 Objetivo

Evaluar la expresión de los genes de leptina, adiponectina y sus receptores en tejido adiposo, así como analizar las concentraciones de estas adipocinas en el suero de individuos con obesidad grado 3 con y sin HTA.

3.1 Objetivos particulares

1. Determinar la expresión de leptina y su receptor en el tejido adiposo subcutáneo.
2. Determinar la expresión de adiponectina y sus receptores (ADIPOR1/2) en el tejido adiposo subcutáneo y visceral.
3. Determinar la concentración de leptina y adiponectina en el suero de las mujeres participantes.
4. Analizar la expresión de leptina, adiponectina y sus receptores en el tejido adiposo de las mujeres con obesidad grado 3 con y sin hipertensión arterial.
5. Analizar la concentración de leptina y adiponectina en el suero de las mujeres con obesidad grado 3 con y sin hipertensión arterial.

4.0 Hipótesis

En los individuos con obesidad grado 3 e HTA, la expresión de los genes *LEP*, *LEPR* se encontrará aumentada y la de los genes *ADIPOQ*, *ADIPOR1* y *ADIPOR2* disminuida en el tejido adiposo subcutáneo y visceral, así como la correspondiente concentración de leptina y adiponectina en suero, en comparación con los individuos con obesidad grado 3 sin HTA.

5.0 Diseño del estudio

5.1 Tipo de estudio

Estudio de casos y controles, transversal y analítico.

5.2 Sujetos

El presente estudio se llevó a cabo en 50 mujeres con obesidad clase 3, captadas en el Hospital General “Doctor Rubén Ieñero”, S.S. de la Ciudad de México. La población se dividió en 25 mujeres con obesidad clase 3 normotensas (controles) y sin resistencia a la insulina; y 25 mujeres con obesidad clase 3 con HTA (casos) y sin resistencia a la insulina. El diagnóstico de HTA se llevó a cabo de acuerdo a los criterios establecidos por JNC 8 (siglas en inglés de Panel Members Appointed to the Eighth Joint National Committee) y por la Sociedad Europea de Hipertensión y Sociedad Europea de Cardiología y aceptados por la Secretaría de Salud.

Tanto a las mujeres control como a las mujeres con HTA, se les aplicó una historia clínica completa, y se tomó la presión arterial de acuerdo a los lineamientos establecidos por la OMS. Todas las mujeres firmaron la carta de consentimiento informado (Anexo 1) y se procedió a la toma única de dos muestras de 5 mL de sangre de una vena periférica en ayuno, así como la obtención de una biopsia tanto de tejido adiposo subcutáneo como tejido adiposo visceral extraídos dentro de la cirugía bariátrica.

5.3 Criterios de inclusión de los individuos con obesidad sin HTA (controles)

1. Mujeres entre los 30 y 45 años de edad.
2. IMC ≥ 40 kg/m² (obesidad clase 3).
3. Que sean candidatas a cirugía bariátrica.
4. Sin diagnóstico de HTA de acuerdo a los criterios establecidos anteriormente.
5. Que acepten participar en el estudio y firmen la carta de consentimiento informado.

5.4 Criterios de exclusión de los individuos con obesidad sin HTA (controles).

1. Presencia de diabetes mellitus o intolerancia a la glucosa.
2. Procesos patológicos que condicionasen la obesidad como una enfermedad secundaria.
3. Individuos con cardiopatía isquémica.
4. Individuos con ingesta crónica y activa de alcohol (≥ 3 días por semana).
5. Tratamiento con quimioterapia y radioterapia por cualquier tipo de cáncer.
6. Insuficiencia cardiaca crónica.

5.5 Criterios de inclusión de individuos con obesidad e HTA (casos)

1. Mujeres entre los 30 a los 45 años de edad.
2. IMC ≥ 40 kg/m² (obesidad clase 3).
3. Que sean candidatos a cirugía bariátrica.
4. Con diagnóstico de HTA de acuerdo a los criterios establecidos anteriormente.
5. Que acepten participar en el estudio y firmen la carta de consentimiento informado.

5.6 Criterios de exclusión de individuos con obesidad e HTA (casos)

1. Presencia de diabetes mellitus o intolerancia a la glucosa.
2. Procesos patológicos que condicionasen la obesidad como una enfermedad secundaria.
3. Individuos con cardiopatía isquémica.
4. Individuos con ingesta crónica y activa de alcohol (≥ 3 días por semana).
5. Individuos con diagnóstico de HTA secundaria a alguna patología renal o de tipo endocrino.
6. Tratamiento con quimioterapia y radioterapia por cualquier tipo de cáncer.
7. Insuficiencia cardiaca crónica.

4. Hipertensión pulmonar.

6. Hipertensión portal.

5.7 Criterios de eliminación para ambos grupos

1. Que la calidad de la muestra obtenida no sea adecuada para llevar a cabo el análisis de expresión de los genes que se estudiarán en el proyecto.
2. Que el participante desee abandonar el estudio.

6.0 Análisis estadístico

Se realizó la prueba de Kolmogórov-Smirnov (K-S) para conocer la distribución de la población. Para las variables cuantitativas se obtuvieron las medias y la desviación estándar para los valores con distribución normal y las medianas y rangos para los valores con distribución no normal. Se realizó las pruebas de *T de Student* o *U de mann Whitney* para calcular el valor de significancia de los valores antropométricos y bioquímicos entre ambos grupos utilizando *IBM SPSS Statistic 20*. Se realizó la prueba de correlación de Pearson, para determinar la relación entre las variables antropométricas y bioquímicas.

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software SPSS versión 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL). Un valor de $p < 0.05$ fue considerado significativo.

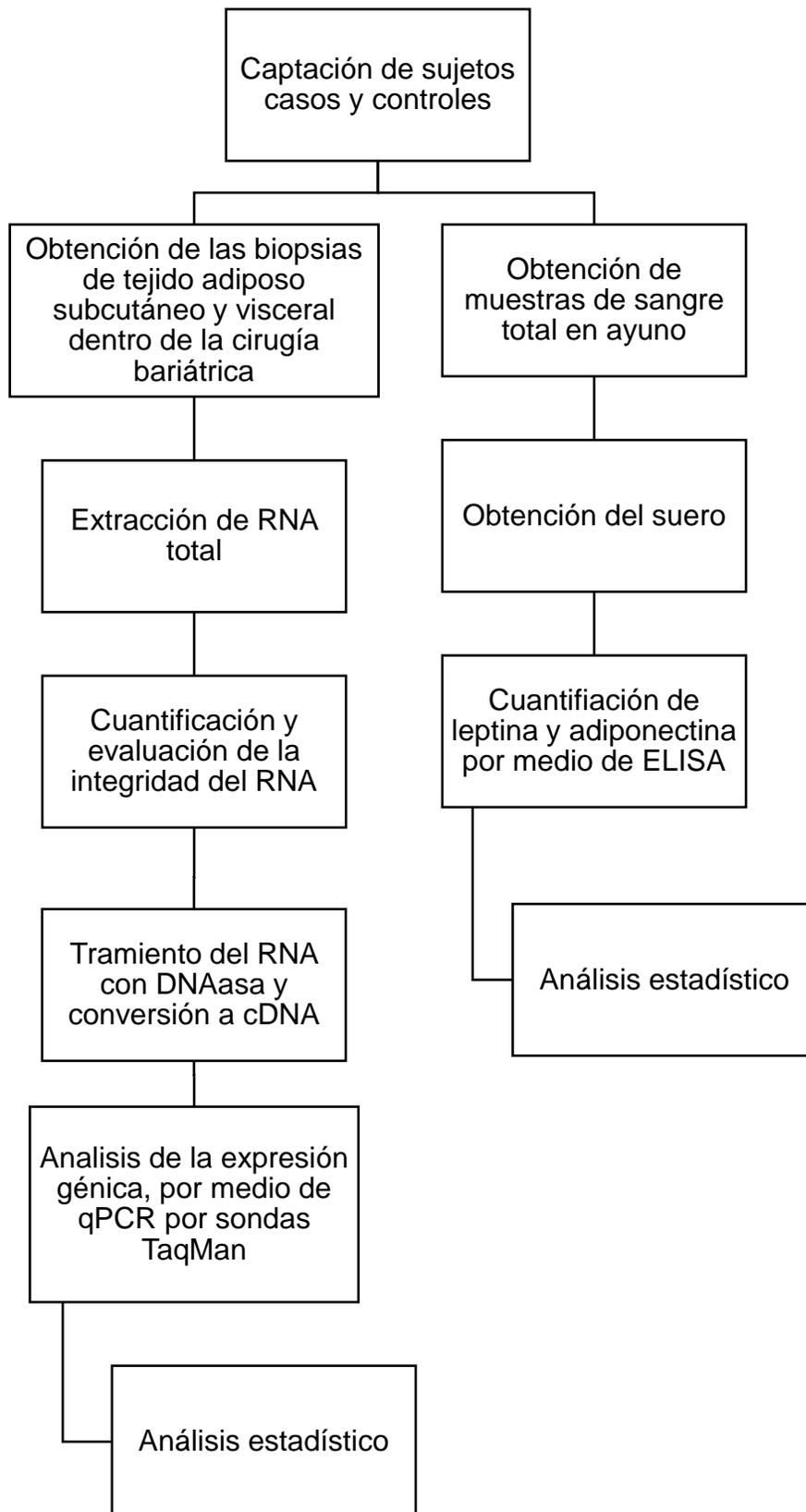
7.0 Consideraciones éticas

Todos los procedimientos propuestos en este protocolo tienen su fundamento en las normas éticas vigentes, en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud y en la Declaración de Helsinki.

Dado que los individuos que aceptaron participar en este proyecto fueron reclutados de la Clínica Integral de Cirugía para la Obesidad y Enfermedades Metabólicas, Hospital General “Doctor Rubén Leñero”, de la Secretaría de la Salud de la Ciudad de México, este proyecto fue aprobado por el Comité de dicho Hospital (número de registro 2050101214), así como por parte del Comité de Investigación Científica y de Ética de la Facultad de Medicina de la UNAM (número de registro 148/2014). A todos los participantes que aceptaron ingresar al protocolo, se les explicó ampliamente el propósito y fin del estudio y se les dio a firmar una carta de consentimiento informado (Anexo 1).

Las tablas de resultados que se deriven de este proyecto serán almacenadas bajo llave en un archivero el cual será manejado por los investigadores responsables.

8.0 Diagrama metodológico



9.0 Métodos

9.1 Cuantificación de leptina y adiponectina en suero

Se obtuvo el suero a partir de la centrifugación a 3000rpm por 10 minutos, de las muestras de sangre periférica, para la posterior determinación por duplicado de las concentraciones séricas de leptina y adiponectina con la técnica de ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA) específicos para humano. Para ello, se utilizaron estuches comerciales específicos: SEA084Hu para leptina y SEA605Hu para adiponectina, diseñados por Cloud-Clone Corp., y fabricados por Uscn Life Science Inc. (Houston, EUA).

9.2 Obtención del RNA total a partir de tejido adiposo

La biopsia de tejido adiposo subcutáneo (región abdominal) y de tejido adiposo visceral (epiplón) obtenidas durante de la cirugía bariátrica fueron almacenadas en RNA lator a -80°C hasta su procesamiento, a partir de la cual se llevó a cabo la extracción del RNA total, por medio del kit Fatty Tissue RNA Purification kit de NORGEN BIOTEK Corp. (Thorold, Cánada), siguiendo las instrucciones del fabricante. La cuantificación de RNA se llevó a cabo en el equipo nanodrop (Anexo 2) y se determinó la integridad de las muestras en un gel de agarosa al 1% (Anexo 3).

9.3 Conversión del mRNA a cDNA

Se trató $1\mu\text{g}$ del RNA obtenido con DNAasa de PROMEGA (Wisconsin, EUA) para eliminar cualquier contaminación en la extracción por DNA genómico; esto previo a la conversión del mRNA a cDNA por medio del estuche Reverse Transcription Sytem de PROMEGA (Wisconsin, EUA) (Anexo 4) y se almaceno a -20°C hasta su procesamiento.

9.4 Análisis de la expresión génica

Se determinó la expresión génica de leptina, su receptor, adiponectina y sus dos receptores, por medio de PCR cuantitativa en un equipo LightCycler 480 Instrument II de Roche (Basilea, Suiza), por medio del método $\Delta\Delta\text{Ct}$, utilizando sondas TaqMan específicas. Se utilizaron como genes constitutivos para normalizar GAPDH en el caso de adiponectina y β -actina para todos los demás.

10.0 Resultados

Se reclutaron del Hospital General “Doctor Rubén Ieñero”, S.S. de la Ciudad de México 50 mujeres con obesidad clase 3, de las cuales 25 presentaban una presión arterial normal (controles) y 25 mujeres con HTA (casos), todas ellas cumplieron con los criterios de inclusión. En la tabla 3 se presentan las características generales de la población. Como se puede observar, no se encontraron diferencias significativas para la edad y los parámetros bioquímicos evaluados, los cuales fueron glucosa, colesterol, triglicéridos y colesterol LDL. En el caso del colesterol HDL se observa que su concentración es significativamente mayor para el caso de las mujeres hipertensas ($p \leq 0.05$).

Tabla 3. Características generales de la población, agrupados por sujetos con obesidad clase 3 normotensos vs hipertensos

Variables		Media \pm DE	Valor <i>P</i>
EDAD (años)	Normotenso	33.04 \pm 5.73	0.195
	Hipertenso	35.13 \pm 5.49	
ÍNDICE DE MASA CORPORAL (Kg/m ²)	Normotenso	43.60 \pm 6.83	0.099
	Hipertenso	47.14 \pm 8.05	
GLUCOSA (mg/dL)	Normotenso	97.94 \pm 7.28	0.981
	Hipertenso	98.00 \pm 9.77	
COLESTEROL (mg/dL)	Normotenso	173.19 \pm 22.19	0.065
	Hipertenso	193.23 \pm 56.12	
TRIGLICÉRIDOS (mg/dL)	Normotenso	149.23 \pm 56.12	0.700
	Hipertenso	156.83 \pm 80.09	
HDL (mg/dL)	Normotenso	37.92 \pm 6.92	0.039*
	Hipertenso	43.14 \pm 10.16	
LDL (mg/dL)	Normotenso	109.22 \pm 19.14	0.130
	Hipertenso	121.69 \pm 35.92	

N=25 para el grupo de mujeres normotensas; N= 25 para el grupo de mujeres hipertensas. *Diferencia significativa entre grupos valor $p < 0.05$.

Se determinaron las concentraciones en suero de leptina de las mujeres que aceptaron entrar al estudio. En ambos grupos encontramos que las concentraciones en suero estaban por encima de los valores de referencia (3-18 ng/mL), con respecto a los sujetos con IMC normal sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los controles y los casos (figura 1).

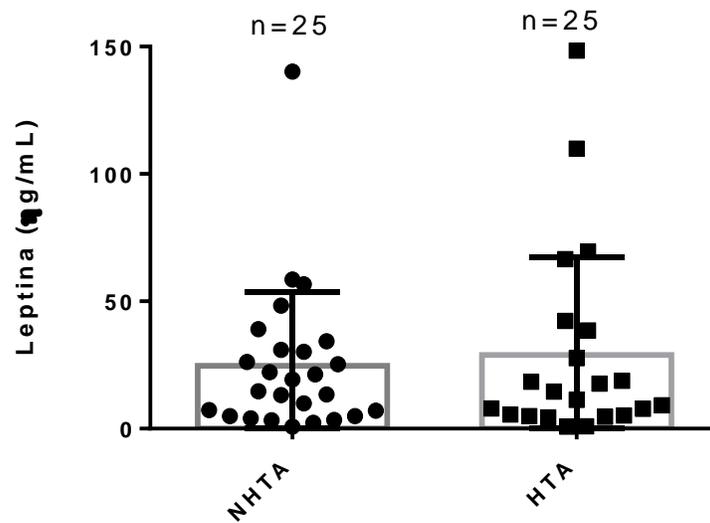


Figura 1. Resultados con su desviación estándar de la concentración en suero de leptina, agrupados por mujeres normotensas (NHTA) vs hipertensas (HTA). No se observan diferencias significativas.

De igual forma, se llevó a cabo el análisis de la expresión del gen de leptina (LEP) en el tejido adiposo subcutáneo. No se encontraron diferencias en la expresión de dicho gen en los grupos de estudio (figura 2).

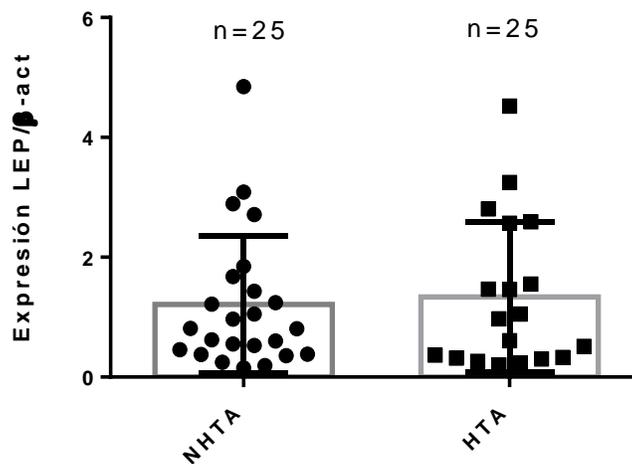


Figura 2. Resultados con su desviación estándar de la expresión de LEP del tejido adiposo subcutáneo, agrupados por mujeres normotensas (NHTA) vs hipertensas (HTA). Se utilizó β -actina como gen constitutivo para normalizar los resultados obtenidos por qPCR

Asimismo, se determinó la expresión del receptor de leptina (LEPR) en el tejido adiposo subcutáneo, y se presentan los resultados de manera gráfica en la figura 3. No se observan diferencias significativas en la expresión de LEPR para las mujeres hipertensas al compararse con las normotensas.

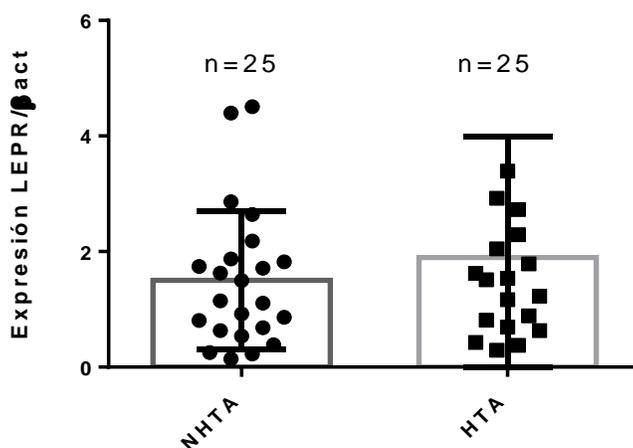


Figura 3. Resultados con su desviación estándar de la expresión de LEPR del tejido adiposo subcutáneo, agrupados por mujeres normotensas (NHTA) vs hipertensas (HTA). Se utilizó β -actina como gen constitutivo para normalizar los resultados obtenidos por qPCR.

En la tabla 4 se presentan los resultados resumidos de las concentraciones en suero de leptina, así como la expresión del gen LEP y de LEPR obtenidas del tejido adiposo subcutáneo de ambos grupos de estudio.

Tabla 4. Resultados de la concentración de leptina en suero, así como de la expresión de LEP y LEPR

Variables		N	Media \pm EE	Valor p
CONCENTRACIÓN DE LEPTINA EN SUERO (3-18 ng/mL)***	Normotenso	25	24.70 \pm 5.66	0.669
	Hipertenso	25	28.88 \pm 8.16	
EXPRESIÓN LEP T.A. SUBCÚTANEO	Normotenso	25	1.21 \pm 0.23	0.736
	Hipertenso	25	1.34 \pm 0.29	
EXPRESIÓN LEPR T.A. SUBCÚTANEO	Normotenso	25	1.53 \pm 0.27	0.448
	Hipertenso	25	1.90 \pm 0.48	

T.A.: Tejido Adiposo.

*Diferencia significativa entre grupos valor $p < 0.05$

***Valor de referencia para individuos con IMC normal (20.0-24.9 Kg/m²)

Por otra parte, se llevó a cabo la determinación de las concentraciones en suero de adiponectina de las mujeres que aceptaron entrar al estudio; no se encontraron diferencias entre ambos grupos (figura 4).

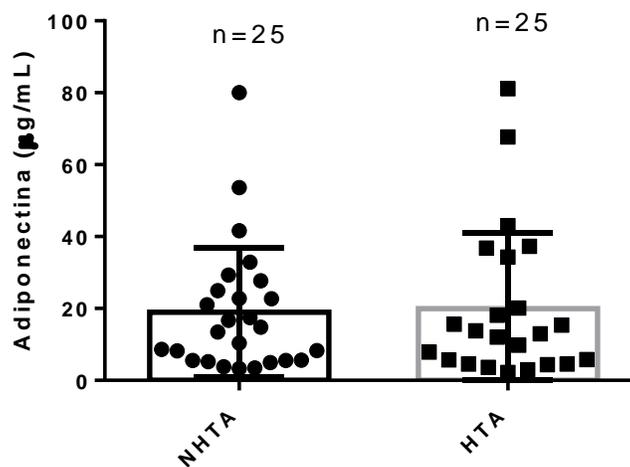


Figura 4. Resultados con su desviación estándar de la concentración sérica de adiponectina, agrupados por mujeres normotensas (NHTA) vs hipertensas (HTA).

De igual forma, se llevó a cabo el análisis de la expresión del gen de adiponectina (ADIPOQ) tanto en tejido adiposo subcutáneo (figura 5), como en el tejido adiposo visceral (figura 6), y se presentan los resultados encontrados agrupados para mujeres no hipertensas y las hipertensas. No se encontró diferencia significativa entre los grupos.

En este caso se determinó la expresión de adiponectina para ambos tejidos ya que en la literatura existe una controversia entre el tipo de tejido adiposo que expresa en mayor proporción esta adipocina.

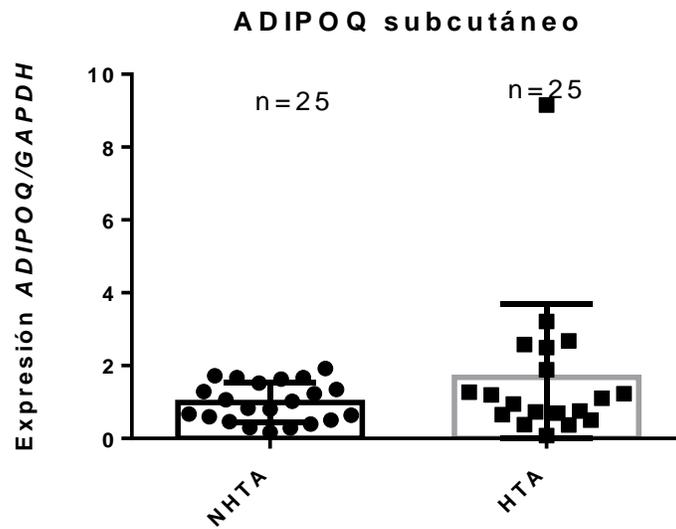


Figura 5. Resultados con su desviación estándar de la expresión de ADIPOQ en tejido adiposo subcutáneo, agrupados por mujeres normotensas (NHTA) vs hipertensas (HTA). Se utilizó GAPDH como gen constitutivo para normalizar los resultados obtenidos por qPCR.

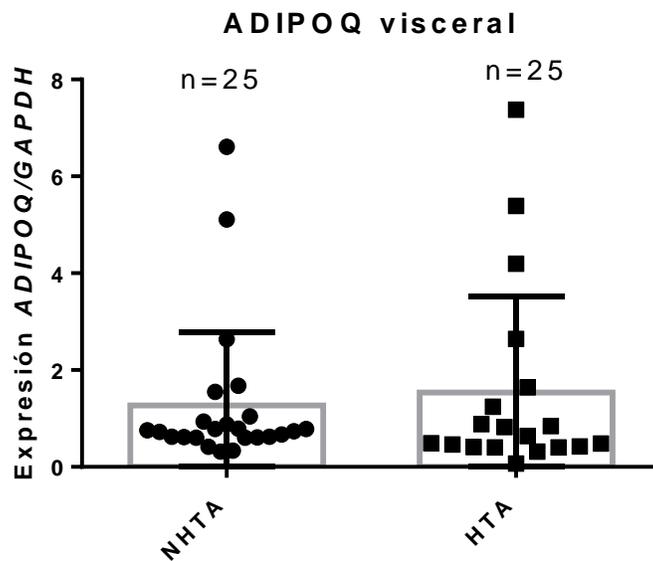


Figura 6. Resultados con su desviación estándar de la expresión de ADIPOQ en tejido adiposo visceral, agrupados por mujeres normotensas vs hipertensas. Se utilizó GAPDH como gen constitutivo para normalizar los resultados obtenidos por qPCR.

Asimismo, se procedió al análisis de la expresión del gen del receptor de adiponectina 1 y 2 (ADIPOR 1 y 2) en el tejido adiposo subcutáneo (figuras 7, 8, 9 y 10), y se presentan los resultados encontrados agrupados para mujeres no hipertensas y las hipertensas. Se observa una amplia dispersión de los resultados, sin diferencia significativa entre los grupos.

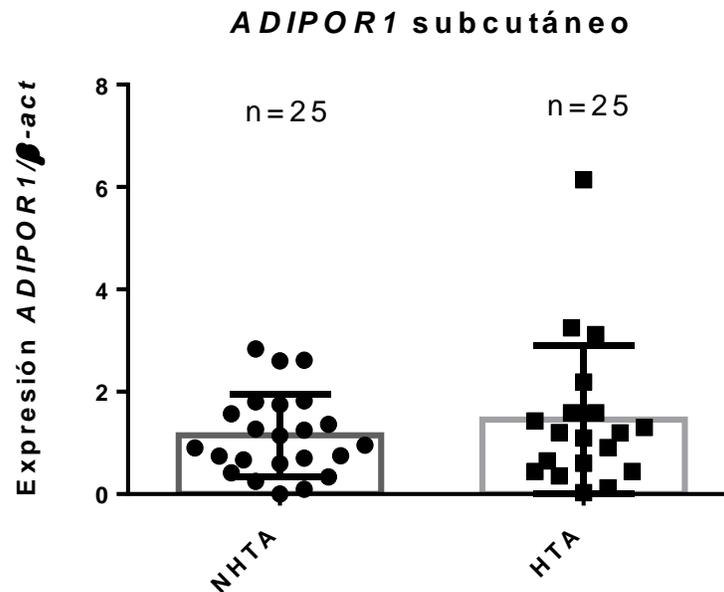


Figura 7. Resultados con su desviación estándar de la expresión de ADIPOR1 en el tejido adiposo subcutáneo agrupados por mujeres normotensas (NHTA) vs hipertensas (HTA). Se utilizó GAPDH como gen constitutivo para normalizar los resultados obtenidos por qPCR.

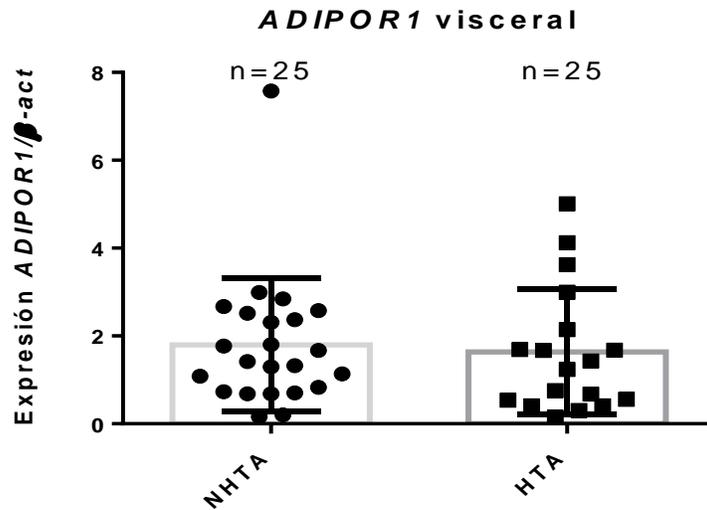


Figura 8. Resultados con su desviación estándar de la expresión de ADIPOR1 en el tejido adiposo visceral agrupados por mujeres normotensas (NHTA) vs hipertensas (HTA). Se utilizó GAPDH como gen constitutivo para normalizar los resultados obtenidos por qPCR.

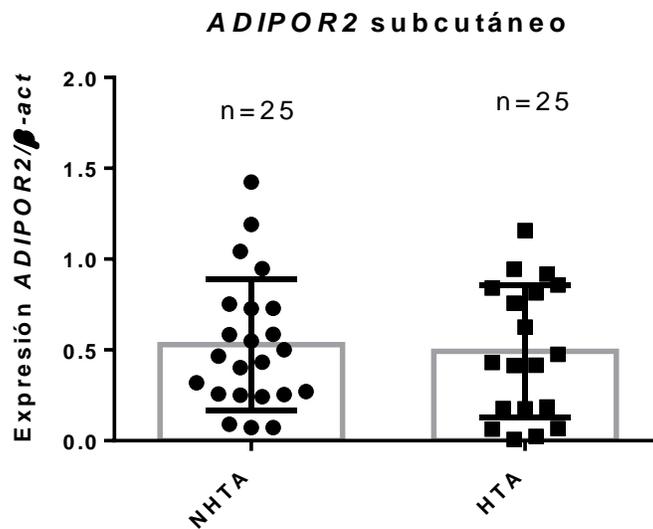


Figura 9. Resultados con su desviación estándar de la expresión de ADIPOR2 en el tejido adiposo subcutáneo agrupados por mujeres normotensas (NHTA) vs hipertensas (HTA). Se utilizó GAPDH como gen constitutivo para normalizar los resultados obtenidos por qPCR.

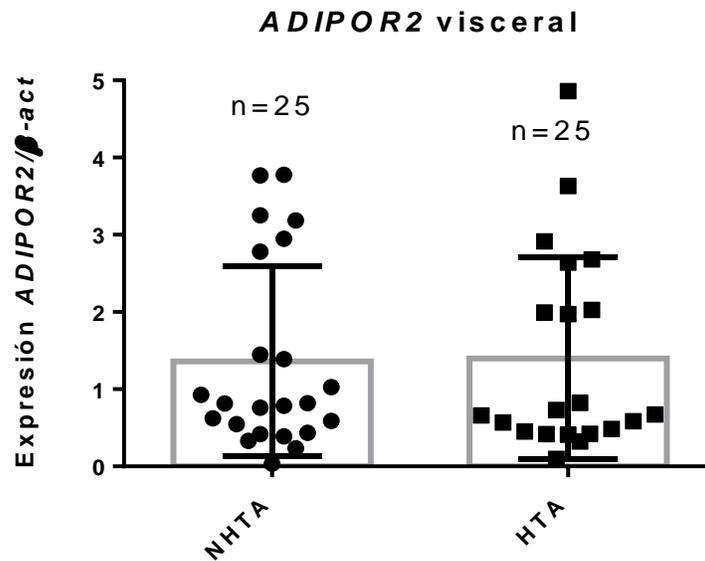


Figura 10. Resultados con su desviación estándar de la expresión de ADIPOR2 en el tejido adiposo visceral agrupados por mujeres normotensas (NHTA) vs hipertensas (HTA). Se utilizó GAPDH como gen constitutivo para normalizar los resultados obtenidos por qPCR.

En la tabla 5 se presenta el análisis estadístico correspondiente para la concentración sérica de adiponectina, así como el de la expresión de su gen y de sus receptores en tejido adiposo subcutáneo y visceral. Se puede observar que las mujeres hipertensas muestran una tendencia a presentar una mayor expresión de ADIPOQ sólo en el tejido adiposo subcutáneo. En relación a la concentración en suero de adiponectina, así como de la expresión de ADIPOR1 y ADIPOR2, no se observa esta tendencia entre los grupos.

Tabla 5. Resultados de la concentración de adiponectina en suero, así como de la expresión de ADIPOQ, ADIPOR1 y ADIPOR2, agrupados por mujeres normotensas vs hipertensas

		N	Media ± EE.	Valor p
CONCENTRACIÓN DE ADIPONECTINA EN SUERO (0.5-30 µg/mL)**	Normotenso	25	18.93 ± 3.51	0.850
	Hipertenso	25	19.99 ± 4.40	
EXPRESIÓN ADIPOQ T.A. SUBCÚTANEO	Normotenso	25	0.99 ± 0.12	0.163
	Hipertenso	25	1.68 ± 0.46	
EXPRESIÓN ADIPOQ T.A. VISCERAL	Normotenso	25	1.27 ± 0.31	0.622
	Hipertenso	25	1.53 ± 0.46	
EXPRESIÓN ADIPOR1 T.A. SUBCÚTANEO	Normotenso	25	1.15 ± 0.17	0.388
	Hipertenso	25	1.46 ± 0.33	
EXPRESIÓN ADIPOR1 T.A. VISCERAL	Normotenso	25	1.80 ± 0.32	0.727
	Hipertenso	25	1.63 ± 0.34	
EXPRESIÓN ADIPOR2 T.A. SUBCÚTANEO	Normotenso	25	0.53 ± 0.08	0.746
	Hipertenso	25	0.49 ± 0.08	
EXPRESIÓN ADIPOR2 T.A. VISCERAL	Normotenso	25	1.36 ± 0.26	0.920
	Hipertenso	25	1.40 ± 0.29	

T.A.: Tejido Adiposo

***Diferencia significativa entre grupos valor $p \leq 0.05$**

****Valor de referencia para individuos con IMC normal (20.0-24.9 Kg/m²)**

Se llevó a cabo el cálculo del cociente leptina/adiponectina (tabla 6), ya que se ha mencionado en la literatura que este cociente es un mejor indicador del desarrollo de ciertas comorbilidades asociadas al síndrome metabólico, en comparación de cada adipocina por separado. En este caso no se encontró diferencia significativa entre los grupos

Tabla 6. Análisis del cociente Leptina/Adiponectina entre mujeres normotensas e hipertensas.

		N	Media ± EEM	p
Leptina/Adiponectina	Normotenso	25	2.58 ± 0.73	0.930
	Hipertenso	25	2.68 ± 0.87	

Por otra parte se llevaron a cabo los análisis de correlación entre las diversas variables evaluadas (Tabla 7-9)

Tabla 7-9. Análisis de correlación entre los diferentes parámetros evaluados

		ÍNDICE DE MASA CORPORAL
CONCENTRACIÓN DE LEPTINA EN SUERO	Correlación de Pearson	.315*
	Sig. (bilateral)	.029*
	N	50

*Diferencia significativa $p < 0.05$

		EXPRESIÓN LEPR T.A. SUBCÚTANEO
HDL	Correlación de Pearson	.469**
	Sig. (bilateral)	.002*
	N	50

*Diferencia significativa $p < 0.05$

		Glucosa
EXPRESIÓN ADIPOQ T.A. VISCERAL	Correlación de Pearson	-.469**
	Sig. (bilateral)	.002*
	N	50

*Diferencia significativa $p < 0.05$

11.0 Discusión

El sobrepeso y la obesidad son considerados como un problema de salud pública, debido a su alta prevalencia en la población mexicana, además de su asociación con un aumento en el riesgo de desarrollar diversas comorbilidades, entre las que se encuentra la hipertensión (11,22,23).

La HTA relacionada a la obesidad es un trastorno multifactorial presente frecuentemente en la población. Hasta el momento no se conoce la etiología de esta enfermedad, sin embargo, se piensa que factores genéticos pueden interactuar con factores ambientales y nutricionales, que en conjunto favorecerían el desarrollo de esta enfermedad. Un factor importante en el desarrollo de la hipertensión es la desregulación por parte del tejido adiposo, en la síntesis y secreción de diversas adipocinas, entre las que se encuentran la leptina y adiponectina(24–28).

Lo anterior pudiera deberse a cambios en la expresión de estas adipocinas y entre las más estudiadas en diversas poblaciones, por el rol que juegan en el desarrollo de hipertensión relacionada a la obesidad, son la leptina y la adiponectina (17,21,29,30).

Con base en lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar la concentración de adiponectina y leptina en el suero de mujeres con obesidad clase 3 con hipertensión y sin hipertensión; así como la expresión de estas dos adipocinas y sus receptores en el tejido adiposo proporcionado por las mujeres que aceptaron participar en el estudio y que fueron candidatas a la cirugía bariátrica.

Diversos estudios han descrito el aumento en la concentración sérica de leptina de manera proporcional al IMC, en este proyecto se cuantificó la concentración en suero de leptina, no se encontró diferencia significativa entre los grupos de normotensas e hipertensas, pero se si se observa que la media encontrada para cada grupo es mayor a la concentración de esta adipocina en personas normopeso, por lo que se observa claramente la relación directa de su concentración con el índice de masa corporal; por otra parte en diversos estudios realizados en ratones se ha descrito que la leptina regula la presión arterial al unirse a su receptor

mediante el aumento en la actividad de SNS en una gran número de tejidos, incluidos aquellos involucrados en la regulación cardiovascular, tales como los riñones y vasos sanguíneos, por lo que se esperaba que la concentración de leptina fuera significativamente mayor en el caso de las mujeres con hipertensión. (17,23,26,27,29,31). En la figura 11 se muestra la vía de señalización a través del cual la leptina ejerce sus efectos y se relaciona con la regulación de la presión arterial (32).

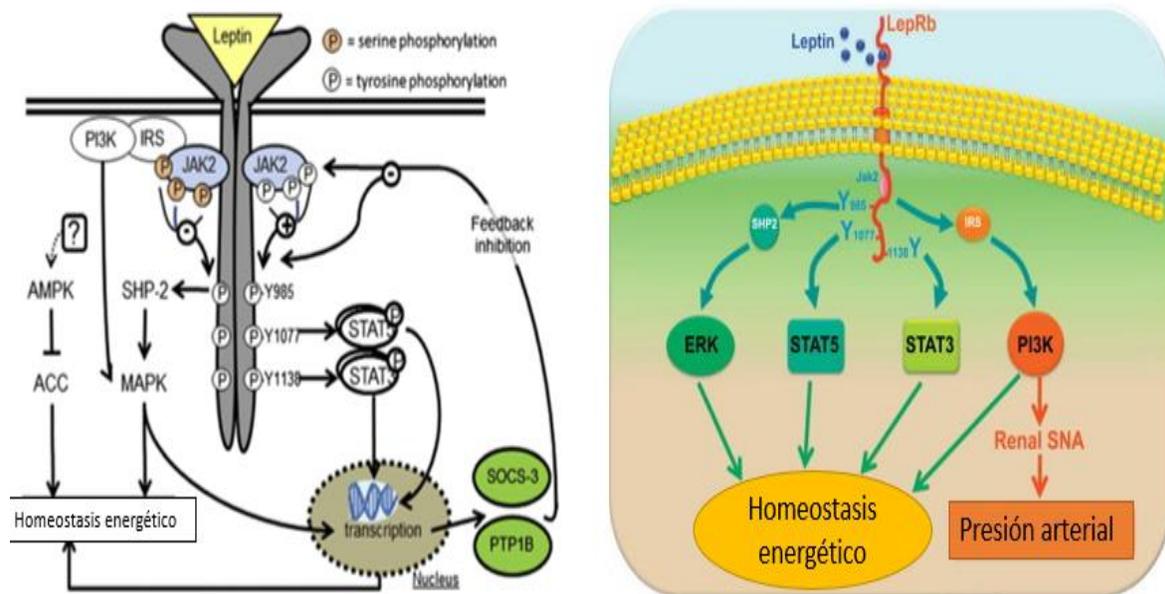


Figura 11. Mecanismo de acción de la leptina y su relación con la presión arterial. Tomado de Zhou Y, Rui L., Front Med.,2014;7(2):207–22.

A su vez se determinó la expresión de leptina y su receptor en el tejido adiposo subcutáneo, esto debido a que se ha descrito que con el aumento del IMC existe un aumento de la expresión del gen de leptina y su receptor debido a la desregulación del tejido adiposo, aumentando la secreción de esta adipocina, por lo que se esperaba que sus funciones se vieran incrementadas, entre las múltiples funciones que tiene la leptina esta la regulación de la presión arterial a través del sistema nervioso simpático, en este proyecto se evaluó la expresión del gen de leptina y su receptor, al compararse ambos grupos no se encontró diferencia significativa, pero si se observa una mayor expresión tanto de la adipocina como de su receptor en las mujeres con hipertensión(29,31).

Se sabe que la leptina regula la presión arterial de manera directa por la interacción con su receptor en las neuronas del hipotálamo, a través del SNS; en este caso debido a la dificultad de evaluar la expresión del receptor en ese tejido se evaluó en el tejido adiposo subcutáneo, ya que se sabe que tiene funciones autocrinas y paracrinas en el tejido adiposo, como lo es la angiogénesis, por lo que se pensaría que al haber un aumento en la expresión tanto de la adipocina como de su receptor habría un aumento en la vascularización del tejido adiposo de manera proporcional a la hiperplasia del tejido, y tendría un papel en la regulación de la presión arterial de manera indirecta; en este estudio al comparar la expresión del receptor entre los dos grupo no se encontró diferencia significativa pero si se observa una tendencia a la alta en la expresión en la mujeres con hipertensión, que podría arrojar un diferencia si se aumenta la N.

Otra de las adipocinas que ha sido extensamente estudiada es la adiponectina, que con base en diversos estudios se le ha asignado un papel en la regulación de la presión arterial al disminuir la disfunción endotelial, incrementar la síntesis de moléculas antiinflamatorias, así como la producción de óxido nítrico y suprimiendo la actividad del sistema nervioso simpático (1,21,30,33,34). Adiponectina se relaciona inversamente con el IMC, por lo que en personas con obesidad se ha visto una reducción en su concentración plasmática, aumentando con ello el riesgo de desarrollar las comorbilidades asociadas a la obesidad.

En este estudio se cuantificó la concentración de adiponectina en el suero de las mujeres que aceptaron participar en el estudio; no se encontró diferencia significativa entre los grupos, pero es interesante observar que la concentración es ligeramente mayor en el grupo de las hipertensas, siendo que estas tienen un IMC mayor en comparación con el otro grupo, y esto contradice lo reportado anteriormente en la literatura. En un estudio realizado por Dreier y cols. (35) encontraron que no había diferencia significativa entre la concentración de adiponectina en suero al compararse un grupo de hombres hipertensos y uno de normotensos, pero si había diferencia al compararse con controles con normopeso y sin hipertensión, estos últimos tenían una mayor concentración de adiponectina a

pesar de que ambos entraran dentro del rango normal. En relación a nuestros resultados, encontramos algo similar sin embargo al no tener controles con normopeso, esta última comparación no se puede realizar.

Otra posible explicación del por qué no encontramos diferencias significativas entre las concentraciones de adiponectina entre ambos grupos, pudiera ser a que ésta, no tiene una regulación directa sobre la PA, ya que su efecto lo lleva a cabo a través de la expresión y función de otras moléculas que realizan esta función (35).

Por otra parte, es importante referir que nosotros cuantificamos la adiponectina total en suero, pero se sabe que adiponectina tiene al menos tres isoformas con diferente afinidad hacia sus receptores y por lo tanto diferente intensidad en la cascada de señalización subsecuente; se menciona ampliamente que la isoforma más activa y abundante en personas con IMC normal es la pesada y es través de esta que lleva a cabo sus principales efectos; pero al haber obesidad existen cambios en la proporción de las isoformas aunque la concentración total no se modifique (18).

A su vez se realizó el análisis de la expresión del gen de adiponectina tanto en el tejido adiposo subcutáneo como en el visceral, ya que existe una controversia en la literatura acerca de cuál es el tejido que lo expresa en mayor proporción, en este caso no se observa un diferencia significativa entre la expresión de los tejidos, pero si se observa un ligero aumento en la expresión por parte del tejido adiposo subcutáneo, esto se pudiera relacionar a que el tejido adiposo visceral es el que se ha visto más relacionado al desarrollo de las co-morbilidades asociadas a la obesidad, y a su vez es en donde se ha observado una disminución en el expresión de adiponectina que impactaría de manera negativa y daría lugar al desarrollo de estas co-morbilidades; por el contrario el tejido adiposo subcutáneo en ciertos estudios se ha relacionado como un factor protector en el desarrollo de estas enfermedades, esto al comparar que las mujeres presentan menor prevalencia de enfermedades cardiovasculares que los hombres, al poseer estos últimos mayor cantidad de tejido adiposo visceral y menor subcutáneo en comparación, por lo que se pensaría en un mecanismo regulatorio por parte del tejido adiposo subcutáneo al expresar en mayor proporción adiponectina (5)(36).

A su vez se sabe que adiponectina modula la presión arterial, al desencadenar una cascada de señalización que lleva a la producción de óxido nítrico y moléculas antiinflamatorias, sin embargo no se había realizado ningún estudio que buscará relacionar la expresión de esta adipocina a nivel de tejido con la hipertensión, en este caso al realizar la comparación de la expresión no se encontró diferencia significativa entre los grupos con la n evaluada, pero como se mencionó anteriormente se sabe que adiponectina presenta modificaciones post-traduccionales que se podrían ser afectadas por la desregulación en el tejido adiposo que tendrían como consecuencia el cambio en la proporción de las isoformas, disminuyendo la formación de la isoforma con mayor actividad.

Adiponectina regula la presión arterial, a través de sus dos receptores transmembranales ADIPOR1 y ADIPOR2, expresados en diversos tejidos, con la mayor concentración en músculo esquelético y el hígado, respectivamente.

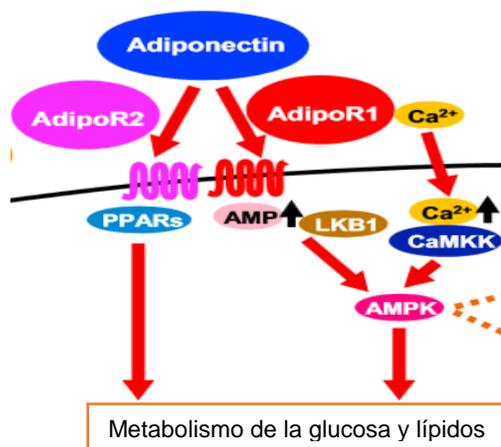


Figura 12. Vía de señalización de la adiponectina. Tomado de Ebrahimi-Mamaeghani M, Vascular Health and Risk Management. 2015. p. 55–70.

En la figura 12 se muestra la vía de señalización de adiponectina a través de sus dos receptores. Se ha descrito que la expresión de los receptores (AdiporRs) es regulada por las condiciones fisiológicas y patológicas; de hecho se ha observado un incremento del mRNA de los AdipoRs en el hígado y el músculo esquelético en ratones después del ayuno (37). Además en otro estudio, se demostró que la insulina regula negativamente el nivel de expresión de los receptores, así como la sensibilidad a ésta, por lo que observan que la resistencia a la

insulina/hiperinsulinemia asociada a la obesidad, puede causar una regulación a la baja de los receptores AdipoRs (38). Asimismo, un estudio realizado en niños con HTA, encontraron una relación inversa entre la expresión de los receptores ADIPORs en los neutrófilos y la concentración de adiponectina en el suero, así como una relación positiva de la expresión con la gravedad de la hipertensión (3); sin embargo no se ha estudiado la expresión de los ADIPORs en el tejido adiposo en busca de su relación con la hipertensión.

En este proyecto se evaluó la expresión de los dos receptores tanto en tejido adiposo subcutáneo como en visceral, ya que se reporta en la literatura de su amplia expresión en diversos tejidos incluyendo ambos tipos de tejido adiposo, no observamos diferencias significativas al comparar entre grupos para cada tejido(38,3).

Por otra parte, se llevó a cabo el análisis de correlación entre los diferentes parámetros bioquímicos evaluados, se encontró una relación directamente proporcional entre la concentración de leptina con respecto al IMC ($r^2=0.315$, $p=0.029$), siguiendo lo anteriormente reportado en la literatura, ya que al aumentar la proporción de tejido adiposo hay un aumento en la expresión de LEP, lo que lleva a un incremento en la concentración de leptina circulante(9,15,39,40).

A su vez se encontró una correlación positiva en cuanto a la expresión del receptor de leptina con respecto a la concentración de HDL ($r^2=0.469$, $p=0.002$), esto es interesante ya que existe un estudio en población mexicana que habla de polimorfismos en *LEPR*, que nos hacen susceptibles de presentar cambios en la concentración de lípidos de acuerdo a la dieta (41), además de que la vía de señalización de este receptor está involucrada directamente con el metabolismo de ácidos grasos (8).

Se realizó un análisis de correlación entre la expresión de *ADIPOQ* en el tejido adiposo visceral y la concentración de glucosa en suero, observamos una correlación inversamente proporcional ($r^2= -0.469$, $p=0.002$) Estos resultados están de acuerdo a lo que diversos autores mencionan acerca del importante rol de la adiponectina en la homeostasis de la glucosa (34,42–44).

Asimismo, encontramos una estrecha relación entre los diversos parámetros bioquímicos evaluados, ya que al realizar los análisis pertinentes, se observa que hay correlación entre la concentración en suero con la expresión de los genes evaluados; así como de la expresión entre ellos. Lo anterior posiblemente es debido a que se ven involucrados en la regulación de los diversos procesos inherentes al metabolismo, de tal forma suponemos es lógico la existencia de una regulación entre ellos, para llevar a cabo sus funciones.

Por otra parte, no se encontró diferencia significativa para los parámetros antropométricos entre los grupos, pero si se observa que el grupo de mujeres con hipertensión presenta una media mayor para el IMC, glucosa, triglicéridos, colesterol y LDL. Esto es muy interesante ya que, a pesar de no encontrarse diferencia significativa, es un reflejo del estado metabólico de la muestra poblacional, ya que la mayoría de ellas estaban bajo tratamiento si presentaban dislipidemias y/o hipertensión.

Para el caso del colesterol, HDL si se encontró diferencia significativa entre los grupos, observando que las mujeres con hipertensión presentan una media mayor en comparación con las mujeres normotensas; la concentración de HDL es usado como un marcador de protección metabólica (a mayor concentración, menor riesgo cardiovascular); por lo que es interesante que la media para este parámetro sea mayor en los sujetos con hipertensión, sin embargo se podría atribuir a que el colesterol total también se encuentra en mayor concentración en las mujeres con hipertensión y que a su vez la mayoría de las mujeres con dislipidemia estaban siendo tratadas.

Este estudio es novedoso, debido a que, hasta el momento, no existe en la literatura, un análisis en población mexicana (y en ninguna otra población) que relacione la concentración y expresión de estas adipocinas y sus receptores en el tejido adiposo de sujetos con obesidad grado 3 sin diabetes o intolerancia la glucosa, con la presencia o ausencia de hipertensión.

Es importante mencionar que este fue un proyecto piloto, por lo que se podría atribuir a que no se encontraron diferencias significativas al tamaño de muestra evaluado, ya que la N inicialmente calculada fue a partir de lo reportado en la literatura, pero al no haber algo que englobará totalmente los objetivos de este proyecto la N fue insuficiente, por lo que con los resultados obtenidos en este proyecto se puede recalcular el tamaño de muestra para encaminar a un proyecto más grande y con nuevas perspectivas

12.0 Conclusiones

Se llevó a cabo la determinación de las concentraciones séricas de adiponectina y leptina en 25 mujeres con obesidad grado 3 y sin hipertensión (controles) y en 25 mujeres con obesidad grado 3 con hipertensión (casos).

No se encontró diferencia significativa al evaluar la concentración de ambas adipocinas entre los grupos de mujeres hipertensas y normotensas.

Para el caso de leptina, se encontró una concentración ligeramente mayor en el grupo de las mujeres con hipertensión y esto corrobora lo anteriormente mencionado en la literatura acerca de la mayor expresión de la adipocina con un aumento en el IMC.

A su vez se determinó la expresión de los genes de leptina y su receptor, en el tejido adiposo subcutáneo, no se encontró diferencia significativa entre los grupos evaluados.

Se logró determinar la expresión de los genes de adiponectina y sus dos receptores (ADIPOR1 Y ADIPOR2), tanto en tejido adiposo subcutáneo como en el visceral; no se encontró diferencia significativa en la expresión al compararse ambos grupos.

13.0 Perspectivas

Al término de este proyecto no se encontraron diferencias significativas en la expresión de las adipocitocinas o de sus receptores. Es importante referir que con la muestra de 25 mujeres por grupo no se obtuvo el poder estadístico necesario para observar diferencias significativas en la expresión de las adipocitocinas o sus receptores; ya que, al recalcular el tamaño de muestra necesario de acuerdo a los resultados obtenidos, se obtuvo una muestra de 40 pacientes por grupo. Con base en lo anterior, se propone continuar captando pacientes para alcanzar nuestro tamaño de la muestra a 40 pacientes con HTA y 40 sin HTA y obesidad clase 3. De igual forma, no necesariamente tiene que haber una concordancia entre cambios en la expresión a nivel del RNAm con la expresión de la proteína, de tal forma que propone también identificar la proteína de leptina, de adiponectina y de sus dos receptores (ADIPOR1 y ADIPOR2) en el tejido adiposo de ambos grupos de pacientes.

Por otra parte, se sabe que el control epigenético es un mecanismo regulatorio adicional que permite a los humanos mantener estables los patrones de expresión génica a través de generaciones (Irmak et al 2006). Al mismo tiempo, el control epigenético permite cierta plasticidad del genoma ante cambios en el ambiente, los cuales eventualmente desencadenan estrés metabólico que puede modificar diversas variables bioquímicas y fisiológicas. Se ha propuesto que la HTA es una enfermedad multifactorial compleja, en la que factores ambientales genéticos y epigenéticos interactúan para su desarrollo (Irmak et al 2006), esto es evidenciado, por la discrepancia de la presentación de la enfermedad en gemelos homocigotos, el inicio tardío de la enfermedad y su patrón progresivo que no pueden solo ser explicados tomando como base las estrategias de secuenciación del DNA (Wang y Snieder, 2010a,b). También se ha descrito que diferentes grados de metilación del DNA se correlacionan con el inicio, el tiempo y la gravedad de HTA esencial (Wise and Charchar, 2016). Aunado a lo anterior, diversos estudios han demostrado cambios epigenéticos en genes relacionados a la obesidad e hipertensión arterial.

14.0 Referencias

1. DeMarco VG, Aroor AR, Sowers JR. The pathophysiology of hypertension in patients with obesity. *Nat Rev Endocrinol* [Internet]. 2014;10(6):364–76. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24732974>
2. Rahmouni K, Sigmund CD. Editorial: Id3, E47, and SREBP-1c: Fat factors controlling adiponectin expression. *Circ Res*. 2008;103(6):565–7.
3. Gackowska L, Litwin M, Trojanek J, Eljaszewicz A, Kubiszewska I, Niemirska A, et al. Expression of Adiponectin Receptors on Peripheral Blood Leukocytes of Hypertensive Children Is Associated with the Severity of Hypertension. *Biomed Res Int* [Internet]. 2015;2015:1–11. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/742646/>
4. A, Montalvo- Arenas CE, Cruz- Mendez T, Hernandez- Trujillo R. Tejido Adiposo. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2010;18(1):1–7.
5. Karastergiou K, Smith SR, Greenberg AS, Fried SK. Sex differences in human adipose tissues – the biology of pear shape. *Biol Sex Differ* [Internet]. 2012;3(1):13. Available from: <http://www.bsd-journal.com/content/3/1/13>
6. Bogaert YE, Linas S. The role of obesity in the pathogenesis of hypertension. *Nat Clin Pract Nephrol*. 2009;5(2):101–11.
7. Fu S, Fan J, Blanco J, Gimenez-Cassina A, Danial NN, Watkins SM, et al. Polysome Profiling in Liver Identifies Dynamic Regulation of Endoplasmic Reticulum Translatome by Obesity and Fasting. *PLoS Genet*. 2012;8(8):1–11.
8. Wada N, Hirako S, Takenoya F, Kageyama H, Okabe M, Shioda S. Leptin and its receptors. *J Chem Neuroanat* [Internet]. 2014;61:191–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchemneu.2014.09.002>
9. Chehab FF. Leptin as a regulator of adipose mass and reproduction. *Trends Pharmacol Sci*. 2000;21(8):309–14.

10. Fasshauer M, Blüher M. Adipokines in health and disease. *Trends Pharmacol Sci.* 2015;36(7):461–70.
11. Messenger SA, Moreau JM, Ciriello J. Effect of chronic intermittent hypoxia on leptin and leptin receptor protein expression in the carotid body. *Brain Res* [Internet]. 2013;1513:51–60. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2013.03.022>
12. Han C, Wu W, Ale A, Kim MS, Cai D. Central leptin and TNF α in diurnal control of blood pressure and hypertension. *J Biol Chem* [Internet]. 2016;291(29):jbc.M116.730408. Available from: <http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.M116.730408>
13. Masuo K, Mikami H, Ogihara T, Tuck ML. Familial obesity, sympathetic activation and blood pressure level. *Blood Press* [Internet]. 2001;10(4):199–204. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11800057>
14. Simonds SE, Pryor JT, Ravussin E, Greenway FL, Dileone R, Allen AM, et al. Leptin mediates the increase in blood pressure associated with obesity. *Cell* [Internet]. 2014;159(6):1404–16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2014.10.058>
15. Park HK, Ahima RS. Physiology of leptin: energy homeostasis, neuroendocrine function and metabolism. *Metabolism* [Internet]. 2014;64(1):24–34. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2014.08.004>
16. Farias DR, Franco-Sena AB, Rebelo F, Salles GF, Struchiner CJ, Martins MC, et al. Polymorphisms of Leptin (G2548A) and Leptin Receptor (Q223R and K109R) Genes and Blood Pressure During Pregnancy and the Postpartum Period: A Cohort. *Am J Hypertens* [Internet]. 2017;30(2):130–40. Available from: <http://ajh.oxfordjournals.org/lookup/doi/10.1093/ajh/hpw147>
17. Xie D, Bollag WB. Obesity, hypertension and aldosterone: Is leptin the link? *J*

Endocrinol. 2016;230(1):F7–11.

18. Zhou Y. Effect of serum high molecular weight adiponectin level on the occurrence of eclampsia during subsequent pregnancy in patients. 2017;213–8.
19. Seo JB, Moon HM, Noh MJ, Lee YS, Jeong HW, Yoo EJ, et al. Adipocyte determination- and differentiation-dependent factor 1/sterol regulatory element-binding protein 1c regulates mouse adiponectin expression. *J Biol Chem*. 2004;279(21):22108–17.
20. Nour-Eldine W, Ghantous CM, Zibara K, Dib L, Issaa H, Itani HA, et al. Adiponectin Attenuates Angiotensin II-Induced Vascular Smooth Muscle Cell Remodeling through Nitric Oxide and the RhoA/ROCK Pathway. *Front Pharmacol* [Internet]. 2016;7(April):1–15. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2016.00086>
21. Peri-Okonny PA, Ayers C, Maalouf N, Das SR, de Lemos JA, Berry JD, et al. Adiponectin protects against incident hypertension independent of body fat distribution: Observations from the Dallas Heart Study. *Diabetes Metab Res Rev*. 2016;
22. do Carmo JM, da Silva AA, Wang Z, Fang T, Aberdein N, de Lara Rodriguez CEP, et al. Obesity-Induced Hypertension: Brain Signaling Pathways. *Curr Hypertens Rep* [Internet]. 2016;18(7). Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11906-016-0658-1>
23. Hass A, Oz H, Mashavi M, Shargorodsky M. Role of RAAS and adipokines in cardiovascular protection: Effect of different doses of angiotensin II receptor blocker on adipokines level in hypertensive patients. *J Am Soc Hypertens* [Internet]. 2014;8(10):709–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jash.2014.07.033>

24. Hall JE, Do Carmo JM, Da Silva AA, Wang Z, Hall ME. Obesity-Induced Hypertension: Interaction of Neurohumoral and Renal Mechanisms. *Circ Res*. 2015;116(6):991–1006.
25. Van Stijn CMW, Kim J, Barish GD, Tietge UJF, Tangirala RK. Adiponectin expression protects against angiotensin II-mediated inflammation and accelerated atherosclerosis. *PLoS One*. 2014;9(1).
26. Fontana V, de Faria APC, Oliveira-Paula GH, Silva PS, Biagi C, Tanus-Santos JE, et al. Effects of angiotensin-converting enzyme inhibition on leptin and adiponectin levels in essential hypertension. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* [Internet]. 2014;114(6):472–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24428812>
27. Lim K, Barzel B, Burke SL, Armitage JA, Head GA. Origin of Aberrant Blood Pressure and Sympathetic Regulation in Diet-Induced Obesity. *Hypertension*. 2016;68(2):491–500.
28. Kim DH, Kim C, Ding EL, Townsend MK, Lipsitz LA. Adiponectin levels and the risk of hypertension: A systematic review and meta-analysis. *Hypertension*. 2013;62(1):27–32.
29. Do Carmo JM, Da Silva AA, Wang Z, Freeman NJ, Alsheik AJ, Adi A, et al. Regulation of Blood Pressure, Appetite, and Glucose by Leptin after Inactivation of Insulin Receptor Substrate 2 Signaling in the Entire Brain or in Proopiomelanocortin Neurons. *Hypertension*. 2016;67(2):378–86.
30. Allison MA, Jenny NS, McClelland RL, Cushman M, Rifkin D. The associations of adipokines with selected markers of the renin-angiotensinogen-aldosterone system: the multi-ethnic study of atherosclerosis. *J Hum Hypertens Febr* [Internet]. 2015;29(2):127–33. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=ovftq&AN=00005309-201502000-00011>

31. Bell BB, Rahmouni K. Leptin as a Mediator of Obesity-Induced Hypertension. *Curr Obes Rep* [Internet]. 2016; Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s13679-016-0231-x>
32. Stern JH, Rutkowski JM, Scherer PE, Crujeiras AB, Carreira MC, Cabia B, et al. Leptin resistance in obesity: An epigenetic landscape. *Cell Metab*. 2015;23(5):770–84.
33. Ebrahimi-Mamaeghani M, Mohammadi S, Arefhosseini SR, Fallah P, Bazi Z. Adiponectin as a potential biomarker of vascular disease. Vol. 11, *Vascular Health and Risk Management*. 2015. p. 55–70.
34. Aguilar-Salinas CA, García E, Robles L, Riaño D, Ruiz-Gomez DG, García-Ulloa AC, et al. High adiponectin concentrations are associated with the metabolically healthy obese phenotype. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(10):4075–9.
35. Dreier R, Asferg C, Berg JO, Andersen UB, Flyvbjerg A, Frystyk J, et al. Similar Adiponectin Levels in Obese Normotensive and Obese Hypertensive Men and No Vasorelaxant Effect of Adiponectin on Human Arteries. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* [Internet]. 2016;118(2):128–35. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/bcpt.12452>
36. White T. Function. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1842(3):377–92.
37. Pierard M, Conotte S, Tassin A, Boutry S, Uzureau P, Boudjeltia KZ, et al. Interactions of exercise training and high-fat diet on adiponectin forms and muscle receptors in mice. *Nutr Metab* [Internet]. 2016;13(1):1–13. Available from: <http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L613266699%5Cnhttp://dx.doi.org/10.1186/s12986-016-0138-2%5Cnhttp://wt3cf4et2l.search.serialssolutions.com?sid=EMBASE&issn=17437075&id=doi:10.1186/s12986-016-0138-2&atitle=Interactio>

38. Tsuchida A, Yamauchi T, Ito Y, Hada Y, Maki T, Takekawa S, et al. Insulin/Foxo1 pathway regulates expression levels of adiponectin receptors and adiponectin sensitivity. *J Biol Chem*. 2004;279(29):30817–22.
39. Zhou Y, Rui L. Leptin signaling and leptin resistance. *Front Med*. 2014;7(2):207–22.
40. Sahin-Efe A, Polyzos SA, Dincer F, Zaichenko L, McGovern R, Schneider B, et al. Intracellular leptin signaling following effective weight loss. *Metabolism* [Internet]. 2015;64(8):888–95. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2015.04.006>
41. Domínguez-Reyes T, Astudillo-López CC, Salgado-Goytia L, Muñoz-Valle JF, Salgado-Bernabé AB, Guzmán-Guzmán IP, et al. Interaction of dietary fat intake with APOA2, APOA5 and LEPR polymorphisms and its relationship with obesity and dyslipidemia in young subjects. *Lipids Health Dis* [Internet]. 2015;14(1):106. Available from: <http://www.lipidworld.com/content/14/1/106>
42. Nigro E, Scudiero O, Monaco ML, Palmieri A, Mazzarella G, Costagliola C, et al. New insight into adiponectin role in obesity and obesity-related diseases. *Biomed Res Int*. 2014;2014.
43. Guenther M, James R, Marks J, Zhao S, Szabo A, Kidambi S. Adiposity distribution influences circulating adiponectin levels. *Transl Res*. 2014;164(4):270–7.
44. Moreno-Castellanos N, Guzmán-Ruiz R, Cano DA, Madrazo-Atutxa A, Peinado JR, Pereira-Cunill JL, et al. The Effects of Bariatric Surgery-Induced Weight Loss on Adipose Tissue in Morbidly Obese Women Depends on the Initial Metabolic Status. *Obes Surg*. 2015;1–11.
45. **Fox, Stuart Ira.** *Fisiología humana*. s.l. : McGraw-Hill, 2011.
46. **Organización Mundial de la Salud.** [En línea] 31 de Enero de 2017. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>.

Anexo 1. Carta de consentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN MÉDICA

Título del protocolo: “ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE LEPTINA, ADIPONECTINA Y SUS RECEPTORES, EN TEJIDO ADIPOSO DE INDIVIDUOS CON OBESIDAD GRADO 3 CON Y SIN HIPERTENSIÓN”

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento.

Justificación del estudio: La obesidad es principal factor de riesgo para desarrollar hipertensión arterial (HTA); sin embargo, el hecho que algunos individuos con obesidad no presentan HTA, deja varias preguntas abiertas. Por lo que es importante conocer los mecanismos moleculares que subyacen a la obesidad y su relación con las enfermedades cardiovasculares y en particular para este proyecto, la posible implicación de leptina, adiponectina y sus receptores en la etiología de la HTA asociada a la obesidad. Lo que permitirá desarrollar nuevas estrategias de prevención y tratamientos para esta enfermedad.

Objetivo del estudio: Evaluar la expresión de leptina, adiponectina y sus receptores en el tejido adiposo, así como analizar las concentraciones de estas adipocinas en el suero de individuos con obesidad grado 3 con y sin HTA.

Beneficios del estudio: Mediante este trabajo se podrá conocer si la leptina, adiponectina y sus receptores participan en el desarrollo de la HTA.

Procedimiento del estudio: En caso de aceptar participar en el estudio se le realizarán algunas preguntas sobre usted, sus hábitos y sus antecedentes médicos. Para este estudio se le tomará una muestra de sangre en una sola ocasión para ver medir las concentraciones de leptina y adiponectina, así como su expresión génica en el tejido adiposo obtenido después de la cirugía.

Riesgos asociados con el estudio: Posterior a la toma de sangre, se puede ocasionalmente presentar dolor o se puede llegar a formar una equimosis o morete en el lugar de la toma de la muestra.

Aclaraciones

- Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.
- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar participar.
- Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee.
- No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio.
- No recibirá pago por su participación.
- La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.

Yo, _____ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informada y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación.

Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

Firma del participante

Fecha

Testigo

Fecha

Testigo

Fecha

Esta parte debe ser completada por el Investigador (o su representante):

He explicado al Sr. o a la Sra. _____ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apegó a ella.

Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

Firma del investigador

Fecha

Anexo 2. Cuantificación de RNA

Espectrofotometría de luz UV

El espectrofotómetro ND-1000 ayuda a estimar la cantidad de RNA total y verificar su calidad, dependiendo de la densidad óptica obtenida a dos diferentes longitudes de onda 260 nm y 280 nm. Se considera que el RNA tiene una adecuada pureza cuando el cociente de densidad óptica 260/280 nm es de 1.8, mientras que si es mayor a 2.0 se considera el RNA de la muestra podría tener algún tipo de contaminación que pueden ser sales o proteínas.

Procedimiento:

- Colocar 2 μ L de buffer de elución (kit Fatty Tissue RNA Purification kit de NORGEN BIOTEK Corp. (Thorold, Canadá)), en el lector del aparato, cerrar el brazo del lector y realizar la asignación del elemento considerado blanco
- Limpiar el lector utilizando solamente material apropiado (*kim wipes*)
- Colocar ahora 2 μ L de la muestra problema y realizar la lectura

Tomar los datos referentes a esa lectura

Anexo 3. Integridad del RNA

Para verificar la integridad del RNA el método por excelencia es la separación en gel de agarosa, el cual permite la identificación y purificación de fragmentos de ácidos nucleídos además de verificar la integridad.

Pasos:

- Preparar gel de agarosa al 1%, colocar en cámara de electroforesis con una solución buffer TBE 1X
- A 2 μ L de muestra agregar 3 μ L de buffer de carga 6X, cargar en el gel y correr a 60 V durante 1 h
- Observar en el transiluminador

Nota: Aquellas muestras que presentan un barrido se consideran como degradadas esto en proporción a la fluorescencia de las bandas de integridad del RNA.

Anexo 4. Condiciones de la PCR para conversión de mRNA a cDNA

Para cada reacción con el kit Reverse Transcription System de PROMEGA (Wisconsin, EUA)

Componente	Cantidad
MgCl ₂ , 25mM	4 µL
10X Buffer	2 µL
dNTP Mix, 10 nM	2 µL
RNasin	0.5 µL
AMV Transcriptasa reversa	15 u; 0.1 µL
Random Primers	0.5 µg; 0.5 µL
RNA total	1 µg

Termociclador

1. Incubar 10 minutos a temperatura ambiente
2. Incubar a 42°C por 60 minutos
3. Calentar a 95°C por 5 minutos
4. Enfriar de 0-5°C por 5 minutos