

**INFLUENCIA DEL
POLIMORFISMO
GLN223ARG DEL
RECEPTOR DE LEPTINA
EN EL SOBREPESO**

Autor: Alba Diez Ibarbia

Director: Domingo González-Lamuño Leguina

Titulación: Diplomada en Enfermería

Universidad de Cantabria

Santander, 12 Diciembre 2011

RESUMEN

En la mayoría de las situaciones el sobrepeso/obesidad tiene un carácter poligénico, con múltiples genes implicados, con interacciones entre ellos y con el ambiente, sin que hasta la fecha se haya podido cuantificar la contribución real de cada uno de esos factores. Existen, sin embargo, grupos de genes que parecen ser determinantes en relación a la predisposición a los estados de sobrepeso.

Entre los múltiples genes determinantes en la obesidad destacan aquellos implicados en los mecanismos de señalización grasa o lipostato como la leptina, hormona sintetizada por el gen Ob. Mutaciones en el gen Ob o en el gen para el receptor de la leptina (LEPR) se han asociado a formas genéticas de obesidad. Asimismo, variantes polimórficas comunes de estos genes se han asociado con una mayor predisposición a sobrepeso u obesidad en la población general. Entre las variantes más comunes destacamos el polimorfismo Gln223Arg de LEPR, al cual se atribuye un papel relevante en la prevalencia de obesidad en determinadas poblaciones y en el que se centrará este estudio.

Este trabajo tiene como objeto analizar el impacto de la presencia del polimorfismo Gln223Arg sobre la predisposición al sobrepeso en hombres y mujeres sanos, así como su influencia en el número de veces, duración y motivos de las dietas que han realizado a o largo de su vida los portadores hombres o mujeres de cada una de las variantes genéticas.

Nuestra investigación se ha realizado a partir de datos correspondientes al Proyecto PRONAF (Programas de Nutrición y Actividad Física para el tratamiento de la obesidad) realizado durante el pasado año 2010. Se trata de una población adulta de 18-50 años, con sobrepeso, sin criterios de obesidad ni otro tipo de patología, reclutada a través de los medios de comunicación, y que fueron sometidos a dieta y ejercicio físico supervisado. Para nuestros estudios extraemos algunos de los datos obtenidos en la encuesta inicial de captación sobre dietas previas y motivación a participar en el estudio, así como los datos antropométricos que se registraron al inicio de la intervención. Analizamos estos datos en función del genotipo que presentan para el polimorfismo Gln223Arg del gen del Receptor de la Leptina.

Los resultados más relevantes del estudio se pueden resumir de las formas siguientes:

1. La distribución de los distintos genotipos del polimorfismo es diferente en hombres y mujeres lo cual implica un diferente papel en el sobrepeso para cada uno de los sexos. En las mujeres, no existe un equilibrio genético entre los posibles genotipos con un exceso de heterocigotos (Gln/Arg) y una menor presencia de la forma homocigota mutada (Arg/Arg). Podría inferirse de este resultado que la presencia de la forma heterocigota predispondría al sobrepeso en las mujeres, y que la presencia homocigota o bien se asocia a obesidad o a morbilidad asociada al sobrepeso.

2. En lo varones, la edad media del grupo de portadores del polimorfismo sensiblemente inferior a la edad de los no portadores. Este hecho implicaría un papel del polimorfismo en el sobrepeso en edades más precoces.

3. En relación con el número de dietas, las mujeres realizan más dietas y durante más tiempo que los hombres, sin que hayamos encontrado una asociación con el polimorfismo estudiado.

4. Como era previsible tratándose de una población con sobrepeso “sana”, la motivación estética (o estética/salud) ha sido la predominante respecto a la opción de dieta motivada por salud.

PALABRAS CLAVES

Genética, polimorfismo, obesidad.

INTRODUCCIÓN

El conocimiento integral del sobrepeso y de la obesidad es un desafío en el que actualmente están trabajando numerosos investigadores. El gran incremento de la morbilidad y mortalidad de este sector de la población ha originado que sea un tema de gran interés para la salud. En un principio, este trastorno se vio muy simplificado, considerándolo un producto del exceso de la ingesta o una falta de actividad física. Sin embargo, actualmente podemos asegurar que es un trastorno multifactorial dependiente de un complejo fenotipo, influido tanto por factores genéticos como no genéticos (nutricionales, metabólicos, moleculares, psicológicos y sociales) (1,2).

El incremento de la incidencia de la obesidad en los países desarrollados (*Fig.1*) ha generado un enorme esfuerzo por entender los mecanismos que controlan la ingesta de alimentos con la esperanza de buscar una terapéutica adecuada. La importancia del fenómeno radica en su prevalencia, su crecimiento exponencial, la disminución de la expectativa de vida, las complicaciones para la salud y su coste sanitario (3,4).

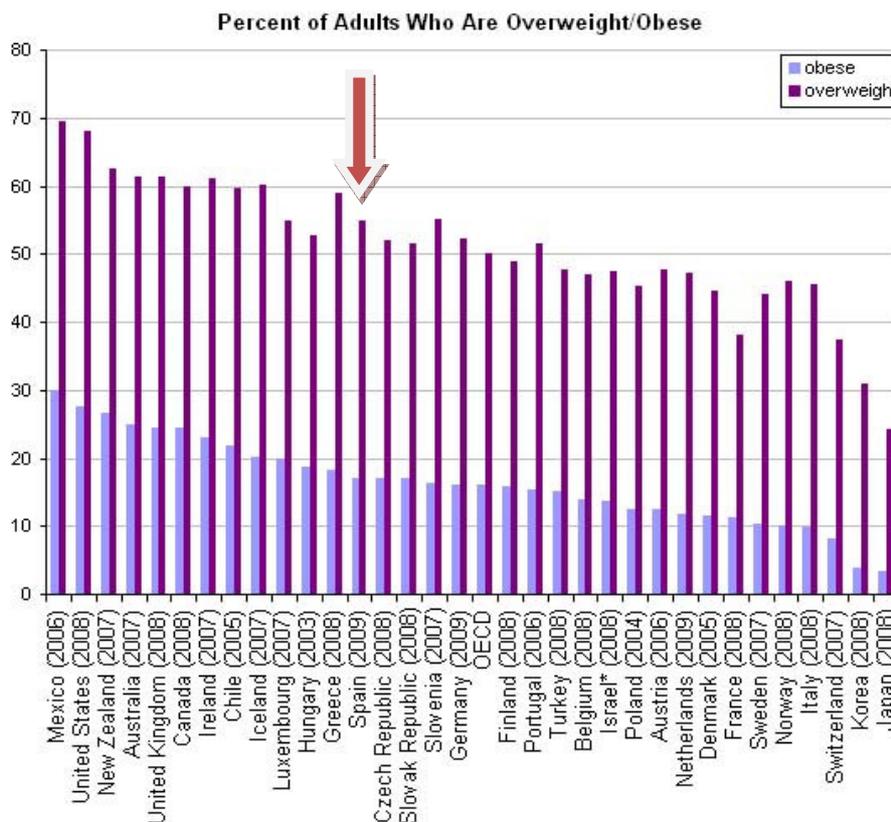


Fig.1: Distribución de la obesidad y el sobrepeso en la población adulta de distintos países.

El sobrepeso y la obesidad tienen una base multigénica compleja, que dificulta las investigaciones, aunque se estén realizando importantes avances en su conocimiento.

La dificultad del estudio genético de la obesidad radica en que salvo en algunos casos minoritarios de obesidad monogénica u oligogénica asociada generalmente a cuadros sindrómicos, en la mayoría de las situaciones, la obesidad posee un carácter poligénico con múltiples genes implicados, con interacciones entre ellos y con el ambiente. Tampoco se ha podido cuantificar la contribución genética y ambiental a la obesidad; así, existen trabajos que valoran la contribución genética en un 70%, mientras que para otros autores, la contribución genética tan sólo representa un 30% (5).

Entre los principales factores genéticos que interactúan en la etiología del sobrepeso y obesidad se encuentran los genes implicados en los múltiples procesos que intervienen en el balance energético: la termogénesis, la lipólisis, la adipogénesis, etc. La identificación de genes candidatos a participar en los procesos relacionados con la obesidad y la caracterización de variantes polimórficas de estos genes han permitido identificar variables genéticas que explican las diferencias individuales en el desarrollo de la obesidad.

Se define polimorfismo como la variación en la secuencia de nuestro código genético del ADN, y que aparecen en la población con una frecuencia mayor al 1%. Una mutación se define como cualquier cambio en la secuencia de nucleótidos o en la ordenación del ADN que se detectan al comparar la secuencia de un gen determinado y que presenta frecuencias inferiores a las descritas para los polimorfismos.

Genes implicados en la regulación de la ingesta de alimentos

Son muchos los estudios que han permitido avanzar en el conocimiento de los genes implicados en la regulación de la ingesta.

La ingesta alimentaria y el apetito se encuentran regulados por diferentes mecanismos, entre los que participan la Leptina, el Receptor de Leptina, el Neuropéptido Y, la Hormona Concentradora de melanina (MHC), la Proopiomelanocortina (POMC) y el Receptor de la Melanocortina 4 (MC4R) como agentes moduladores (6).

Dentro de este control cabe destacar por su importancia como agente regulador a la leptina y su receptor.

Leptina

La leptina es una hormona peptídica descubierta en 1994 y desde su descubrimiento ha sido considerada importante en el desarrollo de la obesidad, dado su efecto anorexigénico. Además está implicada en diversos procesos fisiológicos, como el control de la ingesta alimentaria, en el gasto energético, control del apetito, del peso corporal y del metabolismo de grasas y glúcidos (3,7,8,9).

La leptina para su funcionamiento cuenta con numerosos receptores específicos a nivel central (hipotálamo) y periféricamente en el músculo esquelético, el pulmón y los riñones. Esta hormona es secretada a la sangre por diferentes estructuras y órganos, entre los que cabe destacar el tejido adiposo blanco y, en menor medida, por la placenta, el estómago, etc.

La capacidad de secreción de leptina dentro del tejido adiposo, no se lleva a cabo de forma igualitaria en todos los tejidos, resultando mayor a nivel del tejido adiposo subcutáneo, retroperitoneal, etc. Además a medida que aumentan los depósitos de grasa, las concentraciones de leptina se elevarán en tanta proporción como la cantidad de grasa lo haga. Por ello, sus concentraciones suelen ser mayores en el sexo femenino que en el sexo masculino, ya que las mujeres poseen mayor masa grasa, especialmente a nivel subcutáneo, siendo el tejido adiposo subcutáneo el principal productor de leptina (3,7).

La leptina presenta un ritmo de secreción pulsátil sujeto a variaciones diurnas. Teniendo su mayor secreción durante las primeras horas de la mañana para ir disminuyendo a medida que avanza el día (Fig.2).

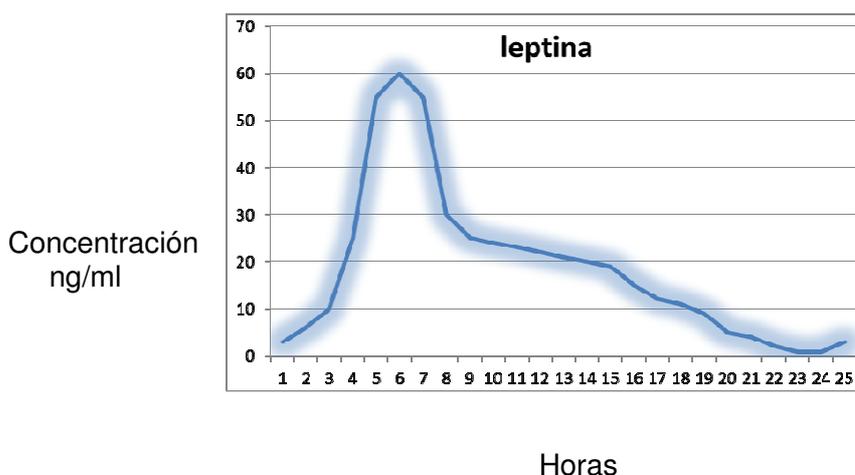


Fig.2: Variaciones de la concentración (nanogramo/mililitro) de la leptina en un período de 24 horas.

La acción de la leptina sobre el hipotálamo es la disminución del apetito, actuando en el núcleo arcuato estimulando hormonas que aumentan el gasto energético y disminuyen la ingesta, e inhibiendo a las hormonas que disminuyen el gasto energético y aumentan la ingesta de alimentos. Se ha comprobado que la leptina no funciona de forma autónoma si no que está influida por el neuropéptido Y para regular de forma más precisa el apetito.

Inicialmente el gen de la leptina se descubrió en ratones (gen *ob*). Este gen está situado en el cromosoma 7, región q31.3 y su ADN posee más de 15000 pares de bases. Este gen contiene tres exones y dos intrones que codifican una proteína madura de 167 aminoácidos con peso molecular de 16KD, que incluyen un péptido señal de 21 aminoácidos. Su estructura tridimensional presenta cuatro hélices alfa y un puente disulfuro entre las cisteínas en posición 96 y 146, siendo este último necesario para la actividad biológica de la hormona (3,7,9,10,11) (Fig.3).

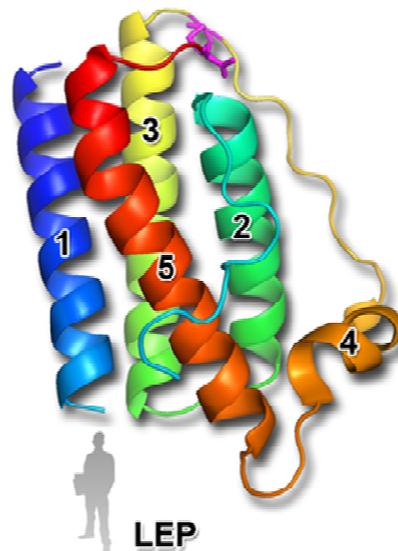


Fig.3: Estructura tridimensional de la leptina.

El polimorfismo más prevalente e influyente que ha sido relacionado con la obesidad ha sido el G-2548A. Este polimorfismo ha sido muy estudiado y consiste en un cambio de guanina por adenina en el nucleótido -2548 correspondiente a la zona promotora de dicho gen.

Las conclusiones de los diferentes investigadores no han sido unívocas dando lugar a cierta controversia. En un primer estudio Mammes y cols (12) concluyeron que la frecuencia del alelo G fue significativamente mayor en sujetos con sobrepeso y con niveles bajos de leptina. Posteriormente, Mammes y cols en el año 2000 (13) y Li y cols 1999 (14) asociaron dicho polimorfismo con la obesidad. Otros estudios no encontraron

ninguna asociación entre el polimorfismo G-2548A y la obesidad (Portoles y cols. 2006 (15); Duarte y cols 2007) (16).

En otros estudios sobre este polimorfismo, el alelo G se ha relacionado con un mayor índice de masa corporal. Hinuy y cols 2008 (17) investigó el incremento del IMC en mujeres mientras que otros estudios han encontrado una fuerte asociación entre el alelo G y el IMC en los hombres pero no en las mujeres (Jiang et al., 2004) (18). Pia Riestra 2010 (19) también relacionó las variables antropométricas y la presencia del sobrepeso y la obesidad. Analizó que el IMC y la circunferencia de cadera era menor en los portadores del alelo A que en los del alelo G.

Dados los resultados se podría confirmar que existe cierta influencia de este gen en la obesidad.

Receptor de la leptina

El receptor de la leptina es una proteína transmembrana, con una estructura similar a los receptores de citoquinas que actúa, tal y como su nombre indica, como receptor de la leptina. Fue descrito por primera vez en 1995 por Tartaglia y cols. (20) utilizando para ello leptina marcada e identificando su existencia en los plexos coroideos de ratón. Este autor observó que, la mutación del receptor de la leptina causa la aparición precoz de obesidad en ratones.

El receptor de la leptina se encuentra en numerosos tejidos como son el pulmón, hígado, riñón, tejido adiposo, músculo esquelético y células hematopoyéticas. Presentan dos isoformas diferentes: formas cortas y largas. Los receptores se componen de una región externa o receptora compuesta por 816 aminoácidos presente en ambas formas (*Fig.4*). Además, la forma larga se compone de un dominio efector intracelular constituido por 303 aminoácidos y responsable de la activación de señales intracelulares. En la actualidad se sabe que las formas largas predominan en el hipotálamo y sus funciones son mediar en las acciones de la leptina a nivel del sistema nervioso central participando en la regulación de la ingesta alimentaria y en el control del peso corporal. Las formas cortas se encuentran en los demás tejidos y sus principales acciones son la regulación del sistema inmune y el transporte de la leptina (7).

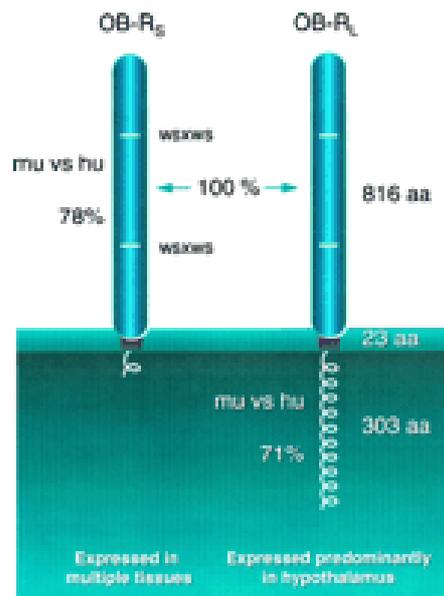


Fig.4: Forma corta y larga del receptor de leptina

El gen del receptor de la leptina se encuentra localizado en el cromosoma 1, en la región p31. (Fig.5) Es el más estudiado en cuanto a su relación con la obesidad, ya que se considera que puede jugar un papel muy importante (3).

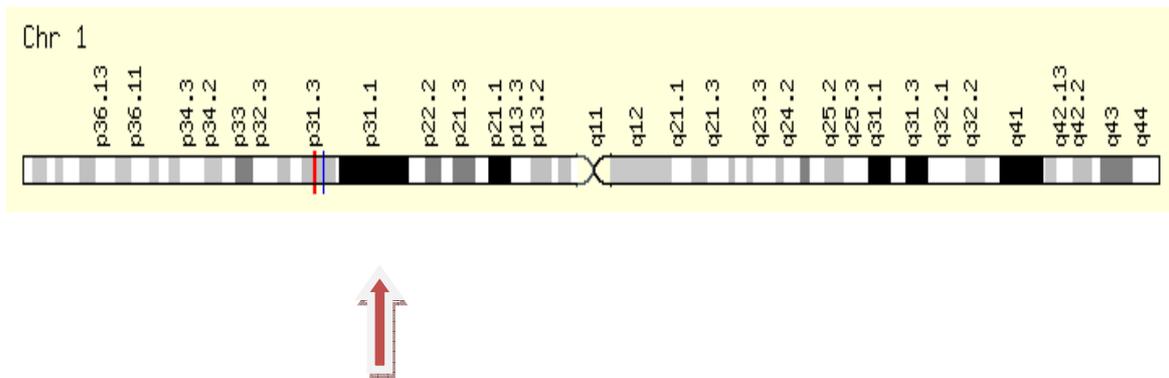


Fig.5: Localización del gen receptor de la leptina.

Para algunas de las variantes genéticas de este receptor se ha demostrado un rol importante en el desarrollo de la obesidad humana. Los tres polimorfismos más estudiados en dicho gen son los siguientes: Lys109Arg, Gln223Arg, y Lys656Asn (3,9).

En el polimorfismo Lys109Arg, se da la variación de adenina por guanina en el codón 109 (AAG - AGG) en el exón 4 dando lugar a un cambio en la proteína de lisina por arginina (9). En diferentes estudios sobre el primer polimorfismo se ha concluido que tiene una relación más o menos fuerte en la adiposidad. En el polimorfismo

Gln223Arg se produce una variación de adenina por guanina en el codón 223 (CAG - CGG) en el exón 6, dando lugar a un cambio de proteína de glutamina por arginina. En el polimorfismo Lys656Asn la variación se da de guanina a citosina en el codón 656 (AAG - AAC) en el exón 14, dando lugar a un cambio en la proteína de lisina por asparagina.

Múltiples estudios realizados en diferentes cohortes han encontrado diferencias en el peso de cada uno de los polimorfismos, con conclusiones no determinantes para los polimorfismos Lys109Arg y Lys656Asn, siendo el polimorfismo Gln223Arg el más relacionado con el probable desarrollo de la obesidad.

Polimorfismo Gln223Arg del gen receptor de la leptina y obesidad

Existen numerosos trabajos que estudian la posible correlación entre dicho polimorfismo con el sobrepeso y/o obesidad con diferentes resultados lo que ha generado una cierta controversia.

Por un lado, se encuentran los estudios realizados, por Chagnon 2000 ⁽²¹⁾, Mammes 2001 ⁽²²⁾, Quinton 2001 ⁽²³⁾, Yiannakaris 2001 ⁽²⁴⁾, Loos 2006 ⁽²⁵⁾ y Riestra 2010 ⁽²⁶⁾ que observan diferentes asociaciones entre la presencia del polimorfismo Gln223Arg del Receptor de la Leptina con el aumento del IMC, del porcentaje de masa grasa corporal, o con los niveles de Leptina en sangre, por lo que lo consideran como un factor de riesgo de obesidad.

Así Chagnon ⁽²¹⁾ se dedicó a estudiar conjuntamente familias caucásicas (522 personas) y familias de raza negra (319 personas negras). Mammes ⁽²²⁾ realizó el estudio dividiendo su muestra en dos grupos. Por un lado 179 parisinos caucásicos entre 30-55 años en el cual 114 eran mujeres y 65 hombres con obesidad. En el otro grupo se puso a 387 personas de la misma edad que el grupo anterior en el que 98 eran personas con obesidad y 289 era el grupo control. Se les prescribió una dieta baja en calorías con una reducción del 25% de ingesta de energía de lo que ellos tomaban habitualmente. Quinton ⁽²³⁾ estudió a 220 mujeres caucásicas post-menopáusicas entre 66-69 años con sobrepeso. Yiannakaris ⁽²⁴⁾ realizó su investigación con adolescentes griegos, 118 sujetos entre 15 -19 años, 62 de los cuales eran mujeres y 56 hombres, 89 con normopeso y 29 con sobrepeso. La línea argumental de todos estos autores aun siendo sus muestras tomadas de diferentes edades, razas y sexos concluye que está ligado este polimorfismo con un aumento del IMC y del porcentaje de masa grasa. Riestra ⁽²⁶⁾ analizó a 806 adolescentes españoles sanos entre 12-16 años, divididos en un grupo control y un grupo con sobrepeso u obesidad. Analizando el polimorfismo Gln223Arg observó que las mujeres con

sobrepeso/obesidad tienen mayor porcentaje de poseer el homocigoto mutado, lo que los predispone a tener mayor IMC y mayores niveles de Leptina que en heterocigotos, que es menor la prevalencia de sobrepeso/obesidad. En los hombres no observó esta diferencia. Dicho polimorfismo del gen LEPR es significativamente asociado con niveles de leptina y un aumento de IMC solamente en mujeres, sugiere una influencia específica del sexo. Loos ⁽²⁵⁾ estudió a 678 sujetos de Quebec con el objetivo de examinar asociaciones entre polimorfismos de la Leptina (LEP) y de su Receptor (LEPR). Extrajo como conclusión que dicho polimorfismo del LEPR contribuye a una variación en el ritmo metabólico.

Mientras que en los estudios realizados por Matsuoka 1997 ⁽²⁷⁾, De Silva 2001 ⁽²⁸⁾, Wauters 2001 ⁽²⁹⁾, Heo 2002 ⁽³⁰⁾, Paracchini 2005 ⁽³¹⁾, Stratigopoulos 2009 ⁽³²⁾ y Huuskonen 2010 ⁽³³⁾, no encontraron resultados que confirmasen una relación entre dicho polimorfismo y el sobrepeso y/o obesidad.

Matsuoka ⁽²⁷⁾ escogió a una población japonesa de 47 personas obesas y 68 no obesas como grupo de control de entre 25-58 años. De Silva ⁽²⁸⁾ estudió a 335 mujeres australianas blancas de 20-83 años, de las cuales 118 eran obesas y 217 no obesas. Wauters ⁽²⁹⁾ analizó a 280 mujeres con sobrepeso y obesas de 18-60 años caucásicas sanas. Huuskonen ⁽³³⁾ realizó su estudio con 48 reclutas militares varones voluntarios durante ocho semanas de entrenamiento físico de 18-20 años y con una dieta prescrita. Heo ⁽³⁰⁾ realizó un meta-análisis en los que incluyó poblaciones africanas, americanas, caucásicas, danesas, finlandesas, francesas, canadienses y nigerianas hasta llegar a 3263 personas. Paracchini ⁽³¹⁾ analizó 18 estudios juntos acerca de dicho polimorfismo del LEPR. Cinco de ellos en EEUU, 3 en Asia, 8 en Europa y 2 en Oceanía. Stratigopoulos ⁽³²⁾ investigó con ratones con el fin de relacionar dicho polimorfismo con la adiposidad. Estos autores no encontraron una asociación evidente entre dicho polimorfismo del LEPR y un aumento de IMC o de masa grasa.

Por otro lado encontramos autores como Pórtoles 2006 ⁽¹⁵⁾ que no se ajustan en sus estudios a las conclusiones anteriores y mantienen un tipo de teoría diferenciada. Se centró en una población española del Mediterráneo (Valencia) de entre 18-70 años que dividió en dos grupos. Un grupo de obesos sanos de 303 personas, de los cuales 101 eran hombres y 202 mujeres. Y un grupo control de 606 personas, de las cuales 202 eran hombres y 404 mujeres. En su estudio el homocigoto mutado fue mucho más prevalente en el grupo control que en obesos.

La relación de autores anteriormente examinada sin ánimo de ser exhaustiva se pretende que sea representativa de lo investigado en este campo. Los resultados obtenidos no son concluyentes y se hace necesario seguir investigando en este

campo. Tanto la población utilizada para las investigaciones como los criterios de inclusión y de exclusión no son normalizados.

JUSTIFICACIÓN

La participación del grupo de Pediatría en el proyecto PRONAF (Programas de Nutrición y Actividad Física para el tratamiento de la obesidad) permite disponer de datos de estilo de vida, intervención y genéticos con el propósito de analizar si existe relación entre la motivación para la pérdida de peso con la presencia de la variante genética Arg223 respecto a la variante nativa Gln223 del Receptor de la Leptina.

La particularidad de este estudio viene definida por la cohorte analizada que incluye únicamente sujetos sanos con sobrepeso sin obesidad. Se trata de una población adulta voluntaria de entre 18-50 años con sobrepeso sanos, sin ningún otro tipo de patología y que fueron sometidos a dieta y ejercicio físico supervisado durante 21 semanas.

Este estudio tiene como objeto analizar el diferente impacto de la presencia del polimorfismo Gln223Arg sobre la predisposición al sobrepeso en hombres y mujeres. Otro objetivo de esta investigación es relacionar este polimorfismo con el número de veces, duración y motivos de las dietas que han realizado en su vida los portadores de cada una de las variantes.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis: La presencia del polimorfismo Gln223Arg del gen del Receptor de la Leptina tiene diferente impacto en el sobrepeso de hombres y mujeres, e influye en el número de dietas para perder peso que realizan hombres y mujeres con sobrepeso.

Objetivos:

- 1.- Analizar la distribución de los diferentes genotipos para el polimorfismo Gln223Arg del gen del Receptor de la Leptina (LEPR) en hombres y mujeres sanos con sobrepeso.
- 2.- Relacionar la presencia del polimorfismo Gln223Arg del gen LEPR con el número de veces, duración y motivo de las dietas que han realizado a lo largo de su vida los participantes de la fase II del Proyecto PRONAF.

La hipótesis planteada es que la distribución de genotipos para el polimorfismo Gln223Arg del gen LEPR sea diferente en mujeres que en hombres, con un mayor peso del polimorfismo que predispone al sobrepeso en mujeres que en hombres.

Por otro lado, nos planteamos que las mujeres portadoras de dicho polimorfismo se sometieron más veces a una dieta que las mujeres no portadoras, ya que las mujeres portadoras, tienen más dificultad para adelgazar si la presencia del polimorfismo les predispone a tener sobrepeso u obesidad. El papel del polimorfismo en los hombres con sobrepeso sería menor que en mujeres, y su comportamiento habitual para conseguir la pérdida de peso se basaría en el ejercicio físico y no en la realización de múltiples dietas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este trabajo se ha realizado con datos correspondientes a la Fase II del Proyecto PRONAF (Proyecto I+D del Plan Nacional 2008-2011: "Programas de Nutrición y Actividad Física para el tratamiento de la obesidad". Referencia: DEP2008-06354-C04-01), que se ha realizado durante el pasado año 2010.

El proyecto PRONAF es un proyecto de investigación coordinado en el que participan la Facultad de Ciencias de la Actividad Física y del Deporte de la Universidad Politécnica de Madrid, la Unidad de Nutrición Clínica y Dietética del Hospital Universitario La Paz de Madrid, el grupo de investigación de Pediatría (Metabolismo, Genética y Nutrición) del Instituto Marqués de Valdecilla de Cantabria (IFIMAV), la Facultad de Informática de la Universidad Complutense de Madrid y en el que colabora el Gimnasio clínico SPE de Majadahonda.

En la fase II de dicho proyecto han participado 109 personas (64 mujeres y 45 varones) con sobrepeso ($25 < \text{IMC} < 30$) reclutadas a través de los medios de comunicación tanto de prensa escrita como Internet en los que se ofertaba la participación en un programa de pérdida de peso mediante dieta y un plan de entrenamiento con cargas bajo supervisión de un entrenador personal, y que fueron seleccionados en base al cumplimiento de una serie de criterios de inclusión/exclusión.

La población a estudio está compuesta por hombres y mujeres de edades comprendidas entre 18 y 50 años, residentes en la comunidad de Madrid que se ofrecen de forma voluntaria a participar en dicho proyecto. Se caracterizan por poseer un IMC comprendido entre $25 - 30 \text{ Kg/m}^2$, tener disponibilidad para asistir a los entrenamientos tres veces a la semana durante el periodo de intervención (6 meses), son sanos sin las alteraciones metabólicas asociadas a la obesidad (diabetes, hipertensión, hipercolesterolemia, síndrome metabólico, etc...), no fumadores y no bebedores habituales.

En este trabajo nos centraremos en los datos obtenidos en la encuesta inicial de captación sobre dietas previas y motivación, así como en los datos antropométricos que se registraron al inicio de la intervención y los analizaremos en función del genotipo que presenten para el polimorfismo Gln223Arg del gen del Receptor de la Leptina.

Cuestionario sobre Dietas previas y Motivación

Del cuestionario sobre dietas previas y motivación de la encuesta inicial de captación que completaron los participantes en el estudio, nos hemos centrado en aquellas preguntas que valoran el número de dietas realizadas anteriormente, el motivo por el que las han realizado y el tiempo que han sido capaces de realizarlas.

El enunciado de dichas cuestiones es el descrito a continuación:

¿Cuántas veces ha realizado algún tipo de dieta para perder peso?

- Ninguna
- 1-5
- 5-10
- Más de 10

¿Por qué ha realizado dieta para perder peso?

- Por salud
- Por estética
- Ambas
- Otras

¿Cuánto es el tiempo máximo que ha realizado una dieta sin abandonarla?

- 1 semana
- 1 mes
- 3 meses
- 6 meses
- Más de 6 meses
- Otra opción

Análisis genético

A todos los participantes se les extrajo ADN de sangre periférica partiendo de un vial de 5 ml de sangre venosa con EDTA como anticoagulante. El análisis genético se realizó mediante la amplificación por PCR y posterior análisis de los fragmentos de restricción generados tras digestión específica con la endonucleasa *Msp* I, siguiendo la técnica descrita por Matsuoka y colaboradores (Matsuoka y cols., 1997) (27).

En primer lugar se amplificó el fragmento mediante la técnica de la “Reacción en Cadena de la Polimerasa” o PCR con los siguientes oligonucleótidos:

LEPR_{Gln223Arg} Up: 5' ACC CTT TAA GCT GGG TGT CCC AAA TAG 3'

LEPR_{Gln223Arg} Down: 5' AGC TAG CAA ATA TTT TTG TAA GCA ATT 3'

Dicha PCR se llevó a cabo en un termociclador GeneAmp PCR System 2400[®] (Perkin Elmer, Applied Biosystems Division, Foster City, California, USA), de acuerdo al siguiente programa de ciclado: un paso previo de desnaturalización a 95 °C durante 5 min, a continuación, 38 ciclos compuestos por 45 seg a 95 °C, 45 seg a 50 °C y 45 seg a 72 °C, y una fase final de 7 min a 72 °C.

Al finalizar, se comprueba si se ha producido la amplificación correctamente mediante una electroforesis del producto obtenido en un gel de agarosa al 1,5 % en TBE 1x (tampón Tris-Borato-EDTA: 0.09 M Tris-Borato, 0.002 M EDTA) con Bromuro de Etidio (10 mg/ml) a 100 voltios durante 30 minutos, visualizándose en un transiluminador de luz ultravioleta.

El fragmento amplificado de 421 bp se digirió con el enzima de restricción Msp I (New England Biolabs, Ipswich, Massachussets, USA) a 37 °C durante toda la noche.

El producto digerido se sometió a una electroforesis en gel de agarosa al 4% en TBE 1x a 100 voltios durante 90 min, y se visualiza en el transiluminador de luz ultravioleta para la lectura del genotipo en función de los diferentes fragmentos de restricción presentes.

Para el genotipo homocigoto normal o Gln/Gln se observa un fragmento de 421 bp, para el genotipo heterocigoto o Gln/Arg presenta tres fragmentos de 421, 294 y 127 bp, mientras que para el homocigoto para la variante polimórfica o Arg/Arg se observan dos fragmentos de 294 y 127 bp (*Fig. 6*).

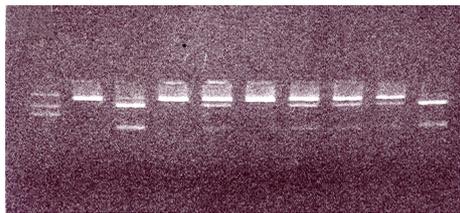


Fig.6: Genotipo del polimorfismo Gln223Arg del Receptor de la Leptina.

Calle 1: Marcador de peso molecular. Calles 2, 4 y 6: Genotipo Gln/Gln.

Calles 5, 7, 8 y 9: Genotipo Gln/Arg. Calles 3 y 10: Genotipo Arg/Arg

Procedimiento de análisis de datos

El programa estadístico utilizado fue el SPSS versión 19.0 para Windows. Se realizó el análisis de los datos mediante el cálculo de estadísticos descriptivos básicos (media, desviación típica) y mediante el test ANOVA. El estudio de la distribución del polimorfismo y su relación con distintas variables se realizó mediante el test de χ^2 . Se consideraron diferencias significativas aquellas en que $p \leq 0,05$.

RESULTADOS

De los 119 participantes en la fase II del Proyecto PRONAF, 10 no consintieron en la realización de la extracción sanguínea por lo que no se pudo hacer el estudio genético. De los 109 participantes restantes, tres sujetos que no completaron las encuestas, por lo que el trabajo se ha realizado con los datos completos de 106 participantes.

La frecuencia alélica para cada una de las variantes del polimorfismo Gln223 del Receptor de la Leptina no demuestra diferencias significativas entre el grupo de mujeres y hombres. La frecuencia alélica encontrada es de 0,61 para el alelo Gln y de 0,39 para el alelo Arg en el grupo de mujeres, y de 0,59 y de 0,41 para las variantes Gln y Arg respectivamente, en el grupo de varones.

La distribución de los diferentes genotipos para el polimorfismo se detalla en la tabla 1. El análisis de χ^2 (chi-cuadrado) de la distribución de genotipos para determinar si la población cumple el equilibrio de Hardy-Weinberg, demuestra que en las mujeres la distribución de genotipos no está en equilibrio ($\chi^2=4,80$ $p=0,028$) con un exceso de formas heterocigotas, mientras que los hombres si se cumplen el equilibrio de los diferentes genotipos ($\chi^2=0,139$ $p=0,709$).

	Todos	Mujeres	Varones
Normal (Gln/Gln)	34 (32,1 %)	19 (31,1 %)	15 (33,3 %)
Heterocigoto (Gln/Arg)	60 (56,6 %)	37 (60,7 %)	23 (51,1 %)
Mutado (Arg/Arg)	12 (11,3 %)	5 (8,2 %)	7 (15,6 %)
Total	106	61	45

Tabla 1. Distribución del genotipo del Receptor de la Leptina

Para el análisis comparativo de los valores antropométricos entre hombres y mujeres se realizó el test ANOVA. Como era esperable se observan diferencias significativas en la talla de ambos grupos (diferencia de 13 cm entre ambos sexos). Dado que la selección de los pacientes está ajustada por IMC, con un intervalo entre 25-30 kg/m² que define el sobrepeso, también existen diferencias significativas en el peso e IMC entre hombres y mujeres (Tabla 2).

	Todos (n =106)	Mujeres (n =61)	Varones (n = 45)
Edad	36,00 ± 8,14	36,37 ± 8,12	35,50 ± 8,225
Peso	79,72 ± 9,76	73,81 ± 6,24 ^a	87,72 ± 7,775 ^a
Talla	168,04 ± 9,26	162,59 ± 6,63 ^a	175,42 ± 6,93 ^a
IMC	28,14 ± 1,255	27,90 ± 1,32 ^b	28,47 ± 1,10 ^b

^a Diferencias significativas p < 0,01. ^b Diferencias significativas p = 0,020

Tabla 2. Variables antropométricas de la población a estudio

Si analizamos los datos antropométricos en función de la presencia o no de dicho polimorfismo, distribuyendo a los participantes como No portadores (homocigotos normales) y Portadores (heterocigotos y homocigotos mutados) para el alelo Arg, encontramos una diferencia casi significativa en la media de edad de los varones (Test ANOVA p=0,051), ya que la media de edad de los portadores es bastante inferior a la de los no portadores (Portadores = 33,8 ± 8,6 años versus No Portadores = 38,8 ± 3,6 años).

		Edad	Peso	Talla	IMC
Mujer (n=61)	No portador (n=19)	34,92±8,17	74,77± 6,62	163,74± 7,6	27,87 ± 1,31
	Portador (n=42)	37,02± 8,10	73,38 ± 6,09	162,07 ± 6,17	27,91 ± 1,31
Hombre (n=45)	No portador (n=15)	38,86 ± 6,35 ^a	88,16 ± 6,42	175,6 ± 6,28	28,58 ± 1,09
	Portador (n=30)	33,82± 8,62 ^a	87,5 ± 8,47	175,33 ± 7,33	28,42 ± 1,11

^a Diferencia casi significativas p=0,051

Tabla 3. Variables antropométricas en función de la presencia o no del polimorfismo

En cuanto al número de dietas previas realizadas por nuestros voluntarios, observamos que existen diferencias significativas entre ambos grupos de hombres y mujeres, siendo el número de dietas que realizan muy diferente. Las mujeres realizan mayor número de dietas que los hombres, siendo el porcentaje de mujeres que realizan más de cinco dietas superiores al 34 % frente al 4 % de los hombres. De forma contraria, la tercera parte de los varones con sobrepeso no han realizado ninguna dieta previa, frente al casi 10% de mujeres. Para poder comparar el número de dietas con un número de participantes similares hemos categorizado la cohorte en tres grupos: ninguna dieta, entre una y cinco dietas o más de cinco.

Número de dietas			
	Todos (n =106)	Mujeres (n =61)	Varones (n = 45)
Ninguna dieta	21 (19.8%)	6 (9,8%) ^a	15 (33,3%) ^a
De 1 a 5 dietas	62 (58,5%)	34 (55,7%) ^a	28 (62,2%) ^a
Más de 5 dietas	23 (21,7%)	21 (34,4%) ^a	2 (4,4%) ^a

^a Diferencias significativas $p < 0,01$

Tabla 4. Número de dietas realizadas anteriormente de la población a estudio

No encontramos diferencias significativas respecto a la presencia del polimorfismo y el número de dietas ni en el grupo de mujeres ni en el de hombres (*Tabla 5*).

Número de dietas				
		Ninguna	De 1 a 5	Más de 5
Mujer (n=61)	No portador (n=19)	1 (5,3%)	10 (52,6%)	8 (42,1%)
	Portador (n=42)	5 (11,9%)	24 (57,1%)	13 (31,0%)
Hombre (n=45)	No portador (n=15)	4 (26,7%)	10 (66,7%)	1 (6,7%)
	Portador (n=30)	11 (36,7%)	18 (60,0%)	1 (3,3%)

Tabla 5 .Número de dietas en función de la presencia del polimorfismo

El análisis de χ^2 (chi-cuadrado) respecto a la duración de las dietas demuestra diferencias muy significativas entre hombres y mujeres. Casi el 38% de los hombres que hacen dieta se mantienen a dieta durante menos de un mes, mientras que casi el 50% de las mujeres son capaces de hacer dieta durante seis meses o más.

Duración de dietas			
	Todos (n =80)	Mujeres (n =51)	Varones (n = 29)
< 1 mes	17 (21,3%)	6 (11,8%) ^a	11 (37,9%) ^a
3 meses	28 (35,0%)	20 (39,2%)	8 (27,6%)
6 meses	18 (22,5%)	12 (23,5%)	6 (20,7%)
+ 6 meses	17 (21,3%)	13 (25,5%) ^a	4 (13,8%) ^a

^a Diferencias significativas p = 0,042

Tabla 6: Duración de las dietas que han realizado

Aunque el análisis de duración de la dieta es poco relevante debido al escaso número de sujetos en cada subgrupo, observamos teniendo en cuenta la presencia del polimorfismo, las mujeres portadoras están más tiempo a dieta que las no portadoras del polimorfismo. La mitad de de las mujeres portadoras realizan dieta durante seis meses o más. El 18% de las mujeres no portadoras realizan dieta durante menos de un mes.

Duración de dietas					
		< 1mes	3 meses	6 meses	+ 6 meses
Mujer (n=51)	No portador (n=16)	3 (18,8%)	8 (50%)	4 (25%)	1 (6,3%)
	Portador (n=35)	3 (8,6%)	12 (34,3%)	8 (22,9%)	12 (34,3%)
Hombre (n=29)	No portador (n=11)	3 (27,3%)	2 (18,2%)	4 (36,4%)	2 (18,2%)
	Portador (n=18)	8 (44,4%)	6 (33,3%)	2 (11,1%)	2 (11,1%)

Tabla 7: Duración de las dietas en función de la presencia del polimorfismo

Analizando el motivo por el que llevó a los participantes a realizar dieta, se identifica la tendencia de que las mujeres realizan dietas por motivos más estéticos (20 %) que los hombres (10 %), aunque en los dos grupos (78 y 90 %) reconocen que se deben tanto a motivos estéticos como por salud, teniendo en cuenta de que se trata de personas sanas sin otras patologías asociadas, este concepto de salud lo entendemos más hacia una mayor calidad de vida.

Motivo de dietas previas			
	Todos (n =84)	Mujeres (n =54)	Varones (n = 30)
Salud	1 (1,2%)	1 (1,9%)	0 (0,0%)
Estética	14 (16,7%)	11 (20,4%)	3 (10,0%)
Ambos	69 (82,1%)	42 (77,8%)	27 (90,0%)

Tabla 8: Motivos de realización de dietas previas

Si analizamos la motivación en función del polimorfismo, tampoco se observan diferencias siendo el motivo más indicado tanto por salud como estética.

Motivo de dietas previas				
		Salud	Estética	Ambos
Mujer (n=51)	No portador (n=17)	1 (5,9%)	3 (17,6%)	13 (76,5%)
	Portador (n=37)	0 (0,0%)	8 (21,6%)	29 (78,4%)
Hombre (n=29)	No portador (n=11)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	11 (100%)
	Portador (n=19)	0 (0,0%)	3 (15,8%)	16 (84,2)

Tabla 9: Motivos de las dietas en función de la presencia del polimorfismo

DISCUSIÓN

El aspecto más relevante de este trabajo se basa en la homogeneidad de la muestra estudiada, ya que se trata de una cohorte suficientemente representativa por tamaño muestral, sin ningún tipo de patología asociada y con un Índice de Masa Corporal (IMC) muy homogéneo, en el rango de sobrepeso excluyendo cifras de obesidad. Por otro lado, nuestra población es una población sana, sin enfermedades reconocidas ni síndrome metabólico manifestado clínicamente, y que ha sido reclutada de forma voluntaria a través de medios de comunicación. Este hecho aparentemente poco relevante implica una gran diferencia respecto a otras series reclutadas en servicios médicos, que puede explicar la gran discrepancia en resultados de diferentes estudios. La morbilidad asociada a la obesidad que se presume cuando las cohortes se recogen en el ámbito hospitalario y la gran dispersión respecto al grado de obesidad hace que el peso de diferentes factores participantes sea muy variable y se incorporen muchos factores de confusión. Otro aspecto diferenciador de nuestro estudio es la motivación de los participantes basado en la forma de reclutamiento que requiere una participación no solo voluntaria si no activa. El presentarse voluntarios para someterse a un programa de dieta y ejercicio supervisado indica una motivación elevada entre los participantes y una tasa baja de abandonos en los programas de intervención.

Una vez definido este contexto, objetivamos que la prevalencia del polimorfismo Gln223Arg del Receptor de la leptina es similar a la esperada, con una frecuencias de 0,60 y 0,40 para los alelos Gln223 y Arg223, respectivamente y sin encontrarse diferencias significativas entre hombres y mujeres. Aunque en un análisis inicial pudiera considerarse este resultado como negativo, es decir que el polimorfismo no influye de forma significativa en el sobrepeso, un análisis detallado de distribución de genotipos de acuerdo a la ley de equilibrio genético de Hardy-Weinberg demuestra que los diferentes genotipos pesan de forma diferente en hombres que en mujeres. Mientras que en hombres el número de homocigotos mutados y heterocigotos se encuentra en equilibrio genético, en el grupo de mujeres los distintos genotipos no se encuentran en equilibrio genético. El número de homocigotas mutadas es significativamente menor al esperado para el número de mujeres heterocigotas.

Esta observación significa por un lado que de forma genérica esta variante genética tiene escasa relación con la predisposición al sobrepeso en los hombres ya que la frecuencia alélica es la propia de la población general y está en equilibrio, y por otro lado que el peso de la forma heterocigota y homocigota es diferente en las mujeres. La

ausencia de equilibrio con un exceso de heterocigotos en el grupo de mujeres implica que este estado favorece el sobrepeso en las mujeres. La interpretación de la escasa presencia de genotipos homocigotos mutados para el número de heterocigotos sería o bien que el estado homocigoto implica un estado protector frente al sobrepeso (hipótesis poco plausible) o una predisposición a BMI superiores al establecido como sobrepeso o bien de morbilidad asociada al sobrepeso (estas dos últimas suposiciones más plausibles que la primera). Comparando nuestras observaciones con otros estudios podríamos profundizar en la interpretación de estos resultados. Por un lado, los estudios realizados por Chagnon 2000 ⁽²¹⁾ y Wauters 2001 ⁽²⁹⁾ señalan una prevalencia del homocigoto mutado ligeramente inferior en mujeres obesas que en el grupo control, con unos datos menos significativos que los de nuestro estudio. Por otro lado, Mammes 2001 ⁽²²⁾, Quinton 2001 ⁽²³⁾ y Riestra 2010 ⁽²⁶⁾ en sus estudios obtuvieron datos con prevalencias mayores del homocigoto mutado en mujeres con sobrepeso. Además, Pórtoles 2006 ⁽¹⁵⁾ que no se ajusta en sus estudios a las conclusiones anteriores, mantiene un tipo de teoría diferenciada. Recogió que dicho polimorfismo era más prevalente en el grupo control que en obesos, pero su teoría fue que dicho polimorfismo actuaba como un “factor protector” y que favorecía estar delgado.

En relación a la edad de los sujetos, hemos señalado que en el grupo de varones de nuestra cohorte la edad media del subgrupo de portadores es inferior a la edad del grupo de los no portadores con una diferencia próxima a la significación estadística ($p < 0,051$). El grupo no portador, homocigotos normales (Gln/Gln), tienen una media de edad superior que el grupo de portadores, heterocigotos (Arg/Gln) y homocigotos mutados (Arg/Arg), esto puede deberse a que los portadores desarrollen el sobrepeso a edades más tempranas que los no portadores por lo que podríamos considerar al polimorfismo como un factor de riesgo de sobrepeso y tal vez de obesidad en hombres más jóvenes.

Con respecto al número de dietas, como era de esperar, las mujeres realizan significativamente mayor número de dietas que los hombres, siendo el porcentaje de mujeres que realizan más de cinco dietas superiores al 34 % frente al 4 % de los hombres. En general, tanto en hombres como en mujeres la duración de las dietas no suele sobrepasar los tres meses, aunque podemos observar que las mujeres son más constantes que los hombres. Un 25% de las mujeres realiza las dietas durante más de 6 meses frente a un 13%. Además los hombres que solo soportan tener una dieta durante menos de un mes son el 38% frente al 12% de las mujeres.

Debido probablemente a la subdivisión de la muestra en múltiples subgrupos lo cual condiciona un escaso tamaño muestral, no podemos concluir que la presencia del polimorfismo modifique de forma significativa el número de dietas o la duración de las mismas, a pesar de que las portadoras de la variante polimorfica hacen dieta durante más tiempo que las no portadoras.

Por último, con respecto a la motivación, en esta cohorte de población sana la motivación exclusiva por “motivos de salud” está poco representada tanto en hombres como en mujeres. Debemos considerar el factor de que nuestra población está muy motivada a realizar dieta y ejercicio. Si investigamos acerca de las razones que mueven a dichas personas adultas con sobrepeso sanas a realizar este tipo de experimentos, observamos que tanto en hombres como en mujeres lo que les mueve son tanto la estética como la salud. En hombres en un 90 por ciento y en mujeres casi llega al 78 por ciento. Pero si analizamos de forma exclusiva el motivo estético, este tiene mayor predominio entre las mujeres.

Nuestro estudio permite establecer una serie de conclusiones derivadas de las características de la cohorte analizada y que se resumen en que la presencia heterocigota del polimorfismo Gln223Arg del receptor de la leptina es un factor favorecedor del sobrepeso en mujeres, y de la aparición temprana de sobrepeso en varones. La escasa presencia de formas homocigotos mutadas en el grupo de mujeres sugiere que dicho genotipo se asociaría con formas de mayor índice de masa corporal u obesidad, o con morbilidad asociada al sobrepeso.

CONCLUSIONES

1. La distribución de los distintos genotipos del polimorfismo es diferente en hombres y mujeres lo cual implica un diferente papel en el sobrepeso para cada uno de los sexos. En las mujeres, no existe un equilibrio genético entre los posibles genotipos con un exceso de heterocigotos (Gln/Arg) y una menor presencia de la forma homocigota mutada (Arg/Arg). Podría inferirse de este resultado que la presencia de la forma heterocigota predispondría al sobrepeso en las mujeres, y que la presencia homocigota o bien se asocia a obesidad o a morbilidad asociada al sobrepeso.
2. En lo varones, la edad media del grupo de portadores del polimorfismo sensiblemente inferior a la edad de los no portadores. Este hecho implicaría un papel del polimorfismo en el sobrepeso en edades más precoces.
3. En relación con el número de dietas, las mujeres realizan más dietas y durante más tiempo que los hombres, sin que hayamos encontrado una asociación con el polimorfismo estudiado.
4. Como era previsible tratándose de una población con sobrepeso “sana”, la motivación estética (o estética/salud) ha sido la predominante respecto a la opción de dieta motivada por salud.

Con los resultados de nuestro estudio observamos que la presencia heterocigota del polimorfismo es un factor favorecedor del sobrepeso en mujeres, y del aparición temprana de sobrepeso en varones. La escasa presencia de formas homocigotos mutadas en el grupo de mujeres sugiere que dicho genotipo se asociaría con formas de obesidad o patología asociada al sobrepeso/obesidad.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Marti A, Martinez- González MA y Martinez A. "Interaction between genes and lifestyle factors on obesity". Proceedings of the nutrition society 2008, 67, 1-8.
- 2) Vaquero M.P, Arola L, Arroyo E, Balges I, Bermejo Bermejo M, Boada J y cols. "Genética, Nutrición y Enfermedad". Instituto Tomás Pascual Sanz y Consejo Superior de Investigaciones Científicas. EDIMSA, Editores Médicos. Año 2008. Capitulo II.
- 3) Moreno Esteban B, Monereo Megías S, y Álvarez Hernández J. "Obesidad: la epidemia del siglo XXI". Madrid: Editorial Díaz de Santos S.A. 2ª edición, 2000.
- 4) Salas-Salvadó J, Rubio MA, Barbany M, Moreno B y Grupo Colaborativo SEEDO. Consenso SEEDO 2007 para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y el establecimiento de criterios de intervención terapéutica. Conferencia de consenso. Med Clin (Barc) 2007; 184-96.
- 5) Martí A, Moreno-Aliaga MJ, Hebebrand J and Martínez JA. "Genes, lifestyles and obesity". Int J Obes Relat Metab Disord 2004; 28: S29-36.
- 6) Bienertová-Vaskú J, Bienert P, Forejt M, Tomandi J, Brázdová Z y Vasku A. "Genotype X nutrient association of common polymorphisms in obesity-related genes with food preferences and time structure of energy intake". British journal of nutrition 2010. 352-59.
- 7) González Jiménez E, Aguilar Cordero MJ, García García CJ, García López PA, Álvarez Ferre J y Padilla López CA. "Leptina: un péptido con potencial terapéutico en sujetos obesos". Endocrinología y nutrición. Elsevier Doyma. 2010.322-27.
- 8) Shimokawa I, e Higami Y. "Leptin signaling and aging: insight from caloric restriction". Mechaniscs of Ageing and development 2001. 1511-19.
- 9) Paracchini V, Pedotti P y Taioli E. "Genetics of Leptin and obesity: a huge review". American journal of epidemiology 2005. 101-14.
- 10) Chung WK, Power-Kehoe L y Chua M. "Genomic structure of the human OB receptor and identification of two novel intronic microsatellites". Genome research 1996. 1192-99.

- 11) Valassi E, Scacchi M y Cavagnini F. "Neuroendocrine control of food intake". Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases 2008. Elsevier. 158-68.
- 12) Mammés O, Betoulla D, Aubert R, Giraud V, Tuzet S, Petiet A y cols. "Novel Polymorphisms in the 5´ region of the LEP gene. Association with Leptin Levels and Response to Low-Calorie diet in Human Obesity". Brief genetics report, Vol 47, March 1998.
- 13) Mammes O, Betouille D, Aubert R, Herberth B, Siest, G. y Fuebron F. 2000. "Association of the G-2548A polymorphism in the 5´ region of the LEP gene with overweight". Ann Hum Genet 64, 391-94.
- 14) Li WD, ReeD DR, Lee, JH, Xu W, Killer RI, Sodam BR y Price RA. 1999. "Sequence variants in the 5´ flanking region of the leptin gene are associated with obesity in women". Ann Hum Genet 63, 227-34.
- 15) Portolés O, Sorlí JV, Francés F, Cotell O, González JI, Sáiz C y cols. "Effect of genetic variation in the leptin gene promoter and the leptin receptor gene on obesity risk in a population-based case-control study in Spain". European journal of epidemiology 2006; 21. 605-12.
- 16) Duarte SF, Francischetti EA, Genelhu VA, Cabello PH, y Pimentel MM. 2007. "LEPR p.Q223R, beta3-AR p.W64R and LEP c-2548G-A gene variants in obese Brazilian subjects". 2007. Genet Mol Res 6, 1035-043.
- 17) Hinuy HM, Hirata MH, Forti N, Diament J, Sampaio MF, Armaganijan D, Salazar LA y hirata RD. 2008. "Leptin G2548A promoter polymorphism is associated with increased plasma leptin and BMI in Brazilian women". Arq Bras Endocrinol Metab Res 34, 611-16.
- 18) Jiang Y, Wil, JB, Borecki Y, Williamson S, DeEstefano AL, Xu G, Liu J, Ellison, RC, Province M y Myers RH.2004. "Common variants in the 5 Region of the Leptin Gene Are associated with Body Mass Index in Men from the National Heart, Lung, and Blood". Institute Family Heart Study. Am J. Hum. Genet. 2004. 220-30.
- 19) Riestra P. García- Anguita A, Vituroo E, Schoppen S, Oya M y Garcés C. "Influence of the leptin G-2548A polymorphism on leptin levels and anthropometric measurements in healthy Spanish adolescents". Annals of human genetics 2010. 335-39.
- 20) Tartaglia LA. "The leptin receptor". J Biol Chem 1997;272:6093-96.

- 21) Chagnon YC. Jack H. Wilmore, Ingrid B. Borecki, Gagnon J, y cols. "Associations between the Leptin Receptor Gene and Adiposity in Middle-Aged Caucasian Males from the HERITAGE Family Study". *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* Vol.85 n°1.2000.
- 22) Mammes O. Aubert R. Betoulle D. Pean F. Herbeth B. Visvikis S y cols. "LEPR gene polymorphisms: association with overweight, fat mass and response to diet in women". *European journal of clinical investigation*31.398-404. 2001.
- 23) Quinton ND. Lee AJ. Richard J. Ross M. Eastell R. Alexandra I. y cols. "A single nucleotide polymorphism (SNP) in the leptin receptor is associated with BMI, fat mass and leptin levels in postmenopausal Caucasian women". *Human genetic* 108. 233-236. 2001.
- 24) Yiannakouris N, Yannakoulia M, Melistas L y cols. "The Q223R polymorphism of leptin receptor gene is significantly associated with obesity and predicts a small percentage of body weight and body composition variability". *The journal of clinical endocrinology and metabolism* 2001;86;4434-39.
- 25) Loos RJF. Rankinen T. Chagnon Y. Tremblay A. Perusse L y Bouchard C. "Polymorphisms in the leptin and leptin receptor genes in relation to resting metabolic rate and respiratory quotient in the Quebec Family." *Study. International journal of obesity* 30; 183-190.2006.
- 26) Riestra P. García-Anguita A. Schoppen S. López- Simón L. Oya M y Garcés C. "Sex-specific association between leptin receptor polymorphisms and leptin levels and BMI in healthy adolescents". *Acta paediatrica* ISSN 803-5253. 2010.
- 27) Matsuoka N, Ogawa Y, Hosoda K, Matsuda J, Masuzaki H, Miyawaki T, y cols. "Human leptin receptor gene in obese Japanese subjects: evidence against either obesity-causing mutations or association of sequence variants with obesity". *Diabetologia* 1997; 40: 1204-1210.
- 28) De Silva A. Walder KR. Boyko EJ. Whitecross KF. Nicholson G. Kotowicz M. y cols. "Genetic variation and obesity in Australian women: a prospective study." *Obesity research* vol.9.N° 12.2001.

- 29) Wauters M. Mertens I. Chagnon M. Rankinen T. Considine RV. Chagnon YC. Y cols. "Polymorphisms in the leptin receptor gene, body composition and fat distribution in overweight and obese women. *International journal of obesity*". 25. 714-720. 2001.
- 30) Heo M. Leibel RL. Fontaine KR. Boyer BB. Chung WK. Koulou m. y cols. "A meta-analytic investigation of linkage and association of common leptin receptor (LEPR) polymorphisms with body mass index and waist circumference". *International journal of obesity* 26. 640.646.2002.
- 31) Paracchini V. Pedotti P y Taioli E. "Genetics of Leptin and Obesity: A Huge Review". *American journal of epidemiology*. Vol.162.Nº2. 2005
- 32) Stratigopoulos G, LeDuc CA, Matsuoka N, Gutman R, Rausch R, Robertson SA, y cols. "Functional consequences of the human leptin receptor (LEPR) Q223R transversion". *Obesity (Silver Spring)*. Enero 2009; 17. 126-35.
- 33) Huuskonen A. Lappalainen J. Tanskanen M. Oksala N. Kyrolainen H y Atalay M. "Genetic variations of leptin and leptin receptor are associated with body composition changes in response to physical training". *Cell Biochem Funct* 28: 306–312. 2010