

**Obesidad y Niveles de Leptina en Mujeres Embarazadas, en el Postparto,
en sus Hijos y Análisis Bio-Informático de Genes Asociados a Obesidad.**

Carlos Armando Echandía Álvarez, MD.

Universidad del Valle
Facultad de Salud
Escuela de Ciencias Básicas
Doctorado en Ciencias Biomédicas
Santiago de Cali, Noviembre 9 de 2015

Director de Tesis:

Doctor Adalberto Sánchez Gómez, Biólogo-Genética Universidad del Valle, PhD en Genética Texas A&M University, PostDoctoral Fellow Complex Genome Analysis Dupont-Pioneer, Profesor Titular, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias Básicas, Universidad del Valle.

Co-Director de Tesis:

Doctor Felipe García Vallejo, Biólogo Universidad del Valle, PhD en Ciencias Universidad de Sao Paulo en Brasil, PostDoctoral en Inmunología y Enfermedades Infecciosas Universidad de Harvard, Profesor Titular, Departamento de Ciencias Fisiológicas, Escuela de Ciencias Básicas, Universidad del Valle. Director Científico del Grupo de Investigación Laboratorio de Biología Molecular y Patogénesis (Labiomol).

Dedicatoria:

A mi esposa Dolly, mis hijos Carlos Armando y Connie Alejandra, mi nieta Renata, mi madre Nubia y mis hermanas.

Agradecimientos:

A los Biólogos Alejandra Rodríguez y Diego Armando Piedrahita, al Profesor Hugo Hurtado, a mis Tutores, a la Escuela de Ciencias Básicas y a la Escuela de Medicina de la Universidad del Valle.

Tabla de Contenido

Pág.

Resumen.....	7
2.1. Introducción.....	8
2.2. Capítulo 1. La Obesidad y sus asociaciones.....	10
2.2.1. Objetivo.....	10
2.2.2. Metodología.....	10
2.2.3. Resultados y Discusión.....	10
2.3. Capítulo 2. Obesidad y Niveles de Leptina en Madres durante el Embarazo, en el Postparto y en sus Hijos.....	21
2.3.1. Objetivos.....	21
2.3.2. Metodología.....	21
2.3.3. Resultados y Discusión.....	24
2.4. Capítulo 3. Genes Asociados con Obesidad, expresados en Tejido Adiposo Humano	33
2.4.1. Objetivos.....	33
2.4.2. Metodología.....	33
2.4.3. Resultados y Discusión.....	35
2.4.4. Conclusiones.....	49
Referencias bibliográficas.....	52
Anexo 1 Acta de Aprobación del CIREH de la Facultad de Salud.....	57
Anexo 2 Datos generales y descriptivos de genes evaluados.....	59

Listado de Tablas

	Pág.
Tabla 1. Características Demográficas y Clínicas Maternas al ingreso al Ensayo clínico. 2010-2011. N=74.....	25
Tabla 2. Evolución de la Antropometría y Laboratorios Maternos. 2010-2013.	26
Tabla 3. Antropometría y Laboratorios de Neonatos e Hijos a los 21 meses de Edad.....	28
Tabla 4. Índice de Masa Corporal, Porcentaje de Grasa Corporal y Niveles de Leptina, en las tres evaluaciones maternas.....	30
Tabla 5. Genes asociados con Obesidad.....	36
Tabla 6. Categorías Ontológicas extraídas de la Red de Obesidad con el Plugin BinGO de Cytoscape.....	41
Tabla 7. Datos Topológicos extraídos de la Red de Obesidad Cytoscape 3.2.	42
Tabla 8. Interacciones Físicas destacadas en la Red construida en Genemania.....	43

Listado de Figuras

	Pág.
Figura 1. Estructura de la Leptina.....	14
Figura 2. Número de Interacciones Proteicas Encontradas.....	37
Figura 3. Red de Interacciones y Expresión de Obesidad.....	38
Figura 4. Ampliación del nodo NRF1.....	39
Figura 5. Mapa de Expresión para Grupo Control (A) y Grupo de Obesos (B)	45
Figura 6. Análisis de Componentes Principales para Grupo de Obesos y Grupo Controles.....	46
Figura 7. Paseo Cromosómico de 100 Kpb teniendo en cuenta Secuencias Repetidas Alu, Islas CpG y genes cada 10 Kpb.....	47
Figura 8. Ampliación de la región 10 Kpb rio arriba teniendo en cuenta el número de Islas CpG.....	48

RESUMEN

Introducción. La obesidad es una enfermedad inflamatoria crónica, una pandemia y factor de riesgo para enfermedades metabólicas como la diabetes mellitus, hipertensión arterial, síndrome metabólico y muchos tipos de cáncer.

Objetivo. Determinar la relación entre obesidad y los niveles de leptina en un grupo de madres durante el embarazo, en el postparto y en sus hijos e identificar *in Silico* la expresión e interacción de otros genes asociados con obesidad, expresados en el tejido adiposo humano.

Metodología. Se evaluaron 74 binomios madre hijo, provenientes de un ensayo clínico. Se tomó información del binomio durante el embarazo y nacimiento, se realizaron mediciones antropométricas y niveles de leptina a los 21 meses postparto. Se realizó un análisis Bio-informático de genes asociados con obesidad, se creó una red de interacción y expresión de genes con el programa Cytoscape 3.2, un mapa de expresión y un paseo cromosómico.

Resultados y conclusiones. Las mujeres que ingresaron a las $14,5 \pm 2,1$ semanas de gestación con sobrepeso u obesidad (los mayores IMC), permanecieron así a las 32 semanas y a los 21 meses postparto y se correlacionaron con mayores IMC y CC en los hijos a los 21 meses de vida. Se encontró una correlación significativa, entre el índice de masa y los niveles de leptina, durante el embarazo, a los 21 meses postparto y en sus hijos. Las variables que mejor predijeron un estado de sobrepeso/obesidad en las madres a los 21 meses de postparto, fueron los niveles de leptina y el porcentaje de grasa a las 14,5 semanas y el Índice de Masa a las 32 semanas.

En el estudio *in Silico*, se encontró que el gen con el mayor número de interacciones proteicas fue el factor de transcripción NRF1, siendo a su vez, el centro del nodo más grande encontrado en la red. En la tres personas obesas, la co-expresión de genes fue diferente a las no obesas: la IL6 junto con el gen KCMF1, estuvieron sobre-expresados y la interacción física que más peso tuvo en la red, fue entre la IL6 y su receptor. Se resalta a la IL6, como un potencial biomarcador para el diagnóstico clínico de obesidad, debido a su expresión diferencial y estar asociada con el estado de inflamación crónica presente en la obesidad.

Palabras clave: Obesidad, Embarazo, Leptina; Índice de Masa Corporal, Bioinformática, Microarreglos de ADN, Red de interacción, Interleuquina 6, Paseo cromosómico.

2.1. INTRODUCCIÓN

La obesidad ha alcanzado proporciones epidémicas a nivel mundial, produciendo serias dificultades médicas, sociales y muertes prematuras. La obesidad afecta entre el 10 y 25% de la población europea y aproximadamente un tercio de la población en los EU, con una tendencia hacia el aumento.¹⁻⁶ Cada año, la obesidad causa al menos 300000 muertes en exceso en los EU.⁴

Cada vez es más frecuente la aparición de obesidad e Hipertensión Arterial (HTA) en edades muy tempranas de la vida. Los niños y adolescentes que son obesos probablemente serán obesos cuando sean adultos y por lo tanto tendrán mayor riesgo de sufrir las Enfermedades Crónicas No Transmisibles (ECNT).¹⁻⁹ Por estas razones la Organización Mundial de la Salud (OMS) creó una comisión para estudiar y dar estrategias que disminuyan la obesidad en los niños, clave para alcanzar una vida saludable en la vida adulta y lograr una disminución de la prevalencia de obesidad mundial.^{5,10}

La obesidad es una enfermedad crónica de origen multifactorial, que resulta de la interacción entre el ambiente y el individuo. En la mayoría de las veces, obedece a una ingesta elevada de alimentos ricos en calorías más inactividad física y susceptibilidad genética. Otra proporción, está asociada a enfermedades del sistema nervioso central, endocrino o metabólico y factores genéticos.^{2,4,5,11-13}

Los trastornos en la nutrición materna durante el embarazo, son el mayor estímulo para la “Programación de la ECNT.” La desnutrición, la obesidad y la diabetes durante el embarazo, tienen mayores riesgos de complicaciones en la madre y en el producto. En los hijos aumenta el riesgo de presentar en la niñez, adolescencia y vida adulta obesidad, Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2), HTA y las otras ECNT.^{6,11,13-23,25-30}

La Leptina (LEP), es un regulador hormonal de muchos procesos biológicos en los mamíferos. Tiene un papel muy importante en las vías de señalización que regulan el metabolismo de energía, su acumulo en reservas a largo plazo (tejido adiposo), la regulación del apetito, del peso corporal y la sensibilidad a la insulina. La hiperleptinemia está asociada con la obesidad, pre-eclampsia, DM2, diabetes gestacional, HTA, cierto tipos de cáncer y otras ECNT.^{4,6,11-23,25-30}

En la última década, uno de los campos de la biología molecular, que ha contribuido al entendimiento de enfermedades complejas como la obesidad, es la genómica funcional que lleva al conocimiento de aspectos dinámicos de los genes como son su grado de expresión e interacciones. Una de las técnicas

más común en este campo son los micro-arreglos de ADN, que da a conocer el nivel de expresión del gen a nivel transcripcional y ayuda a seleccionar aquellos genes que sirven como biomarcadores para el diagnóstico clínico de enfermedades. Por otro lado, las redes de interacción y expresión de genes dan información acerca de su dinámica, con una amplia visión de sus funciones como también de su relación con el desarrollo de patologías.

El objetivo de este estudio, en el Primer Capítulo fue conocer el estado del arte actual sobre obesidad, la LEP y el embarazo. En el Segundo Capítulo fue determinar la relación entre obesidad y los niveles de LEP en un grupo de madres durante el embarazo, en el postparto y en sus hijos. En el Tercer Capítulo fue identificar *in Silico* la expresión e interacción de otros genes asociados con obesidad, expresados en el tejido adiposo humano.

2.2. CAPITULO 1. OBESIDAD Y SUS ASOCIACIONES

2.2.1. Objetivo. Conocer el estado del arte actual sobre obesidad, la LEP y el embarazo.

2.2.2. Metodología. Se realizó una búsqueda en la base de datos electrónica PubMed, hasta mayo de 2015, usando diferentes combinaciones de los términos MeSH: “obesity”, “leptin” y “pregnancy”. Esta búsqueda fue restringida a artículos publicados entre el 2005 y 2015 en seres humanos.

2.2.3. Resultados y Discusión. Con el término “obesity” se encontraron 100442 artículos; utilizando los términos “obesity AND leptin”: 4606 artículos y con los términos “obesity AND leptin AND pregnancy”: 199 artículos.

La obesidad se caracteriza por un acumulo excesivo de grasa o hipertrofia general del tejido adiposo en el cuerpo, hasta el punto de tener un efecto negativo, al incrementar los problemas en salud y/o llevar a la reducción de la esperanza de vida. La Asociación Médica Americana la declaró como una enfermedad en el año 2013.^{1-6,10}

El Índice de Masa Corporal (IMC) es un método simple y ampliamente usado para estimar la proporción de grasa corporal. Otros métodos son la medición de la Circunferencia de Cintura (CC), los pliegues cutáneos y el Porcentaje de Grasa Corporal (PGC) por análisis de impedancia bio-eléctrica.¹⁻⁶

El IMC se calcula dividiendo el peso en kilogramos por la altura en metros al cuadrado. La OMS, ha establecido las siguientes definiciones: IMC menor de 18,5 k/m² como peso bajo, entre 18,5 y 24,9 k/m² como peso normal, entre 25 y 29,9 k/m²: sobrepeso y 30 k/m² o más: obesidad. En los niños la obesidad no se define como un número absoluto del IMC, sino en relación con el IMC en un grupo de niños de referencia; así la obesidad sería tener un IMC mayor del percentil 95 para la edad y el sexo.¹⁻⁶

El estudio de la Carga global de la enfermedad en 2013, publicada en el 2014, mostró que 37% de los hombres y 38% de las mujeres en el mundo tienen un IMC de 25 k/m² o más; un aumento del 28% en los adultos y del 47% en los niños desde 1980. También reportó que mientras algunos países desarrollados han mostrado un aparente enlentecimiento en el aumento de la prevalencia de la obesidad desde 2006, ningún país ha reportado disminución significativa por tres décadas.¹

En el Reino Unido, la prevalencia de obesidad aumentó de 6% en hombres y 8% en mujeres en 1980 a 24% en hombres y 25% en mujeres en 2012. En el 2012 aproximadamente 3 de cada 10 niños entre 2 y 15 años de edad estaban en sobrepeso u obesidad.³

El Centro para el Control de la Enfermedades en los Estados Unidos (CDC), reportó en el 2012 que la obesidad en niños se ha duplicado y en adolescentes se ha triplicado en los últimos 30 años y uno de cada tres norteamericanos es obeso.^{3,6-9}

La Encuesta Nacional sobre la Situación Nutricional, ENSIN 2010, mostró que uno de cada dos colombianos adultos y uno de cada 6 niños y adolescentes en Colombia presenta sobrepeso u obesidad.²⁴

Este problema de salud pública, afecta a todos los países del mundo, pero en cada uno de ellos la población más vulnerable es aquella de los estratos socioeconómicos más bajos, por la falta de recursos y educación para lograr una dieta adecuada y realizar actividad física.⁴⁻⁶

La prevalencia de sobrepeso y obesidad entre lactantes, niños y adolescentes se ha incrementado dramáticamente en el mundo, asociadas con comorbilidades tales como desordenes emocionales, en el aprendizaje y músculo esqueléticos en la niñez y posteriormente mayor riesgo de iniciar tempranamente DM2, HTA, apnea obstructiva del sueño, enfermedad cardiovascular, algunos tipos de cáncer y osteoartritis.¹⁻⁹

La patogénesis de la obesidad es compleja e involucra los efectos combinados de factores ambientales, culturales, biológicos, genéticos y sus interacciones. Un ambiente obeso-génico, la cultura y la familia, favorecen una dieta pobre, baja en macro y micronutrientes, alta en calorías y falta de actividad física. Condiciones médicas tales como enfermedades hereditarias y desbalances hormonales, por ejemplo el hipotiroidismo.^{1-6,11-13}

Con respecto a los trastornos alimentarios durante el embarazo, inicialmente el grupo de Barker y col. mostraron que las personas nacidas en Inglaterra, Pequeñas para la Edad Gestacional (PEG), por desnutrición materna, tuvieron mayores riesgos de presentar en la vida adulta obesidad, DM2, HTA, las otras ECNT y morir por enfermedad cardiovascular.^{13,25}

Sin embargo, después se empezó a conocer que las personas nacidas Grandes para la Edad Gestacional (GEG) o macrosómicas (peso al nacer

mayor de 4000 g), por obesidad durante el embarazo y/o diabetes gestacional, tenían también los mismos riesgos en la vida adulta. Los niveles persistentemente elevados de glucosa pasan a la circulación fetal, quien responde con hiperinsulinismo, que a su vez produce mayor masa de tejido adiposo y peso al nacer, al estimular el Factor de Crecimiento similar a la Insulina (IGF-1) y adipogénesis.^{5,6,11-23,25-30}

El número de mujeres en edad reproductiva con sobrepeso y obesidad se ha incrementado y el número de niños macrosómicos y con posterior sobrepeso también se ha incrementado. Se ha estimado que más de la mitad de las mujeres embarazadas en los EU tienen sobrepeso u obesidad.^{6,13-23,26}

Bouchard y col.¹⁵⁻¹⁸ realizaron un seguimiento a mujeres embarazadas hasta el momento del parto, buscando el desarrollo de diabetes gestacional y en la placenta y en sangre de cordón, el nivel de metilación del gen de LEP y de Adiponectina (ADIPOQ) (genes involucrados en el metabolismo de energía y regulación de la sensibilidad a la insulina). A mayor hiperglicemia materna, encontraron menor grado de metilación de los dos genes, en el lado fetal de las placentas; mientras que en el lado materno, vieron un aumento de la metilación de LEP y disminución de la metilación de ADIPOQ; disparando posiblemente a largo plazo la susceptibilidad a la obesidad y DM2 en sus hijos.

La presencia de desnutrición materna o insuficiencia útero placentaria durante el embarazo, produce pobre nutrición y oxigenación en la vida fetal temprana, pobre crecimiento fetal y el subsecuente desarrollo de obesidad, DM2 y las otras ECNT en la vida postnatal. Esta teoría de la “Programación fetal de las ECNT” está soportada por modelos experimentales y estudios epidemiológicos.^{6,11-23,25,30-36}

Los modelos, concluyen que cuando ocurren algunos eventos adversos durante la vida fetal, producidos por insuficiencia útero placentaria (ligadura de arteria uterina) y/o desnutrición materna (restricción calórica al 50% o de proteína al 8%), en periodos tempranos de la organogénesis, se producen cambios adaptativos tempranos en el feto, para preservar la circulación y aporte de nutrientes y oxígeno al cerebro a expensas de disminuir la circulación a otros tejidos como el hígado, el páncreas, el riñón y el músculo.³¹⁻³³

Se producen alteraciones estructurales y en la elasticidad de grandes arterias como la aorta y en la microcirculación de los órganos anteriormente mencionados, llevando a que tengan poca vascularización y sean más pequeños, principalmente el páncreas. En estos modelos el páncreas, presenta menor masa de células beta y produce menos insulina y (IGF-1). En recién

nacidos PEG, se han encontrado estos cambios en la aorta y estrechamiento de las arterias coronarias.^{6,30-33}

Además de estas alteraciones estructurales, el feto adapta su metabolismo a condiciones de nutrientes y oxígeno limitados, creando un “Fenotipo Ahorrador,”²⁵ que guarda permanentemente en sus depósitos grasos, estos escasos nutrientes que le llegan, lo cual se perpetúa en la niñez y en la vida adulta con alteración permanente del metabolismo de la glucosa y de la insulina.^{6,11,18,25}

La primera evidencia en humanos la reportó Ravelli y col.³⁴ al encontrar en la quinta década de la vida de personas expuestas prenatalmente a la hambruna en Ámsterdam, entre 1944 y 1945 por la ocupación nazi durante la Segunda Guerra Mundial, mayores riesgos de presentar HTA, DM2, obesidad, síndrome metabólico y mayores tasas de mortalidad por accidente cerebro vascular y por cardiopatía isquémica, que los sujetos controles nacidos antes o un año después de la ocupación.

Heijmans y col.^{35,36} estudiando en esta misma población, 15 genes relacionados con el crecimiento, desarrollo y metabolismo energético, encontraron en la sexta década de la vida, más baja metilación del gen del IGF-2 y más alto nivel de metilación de los genes de Interleukina 10 (IL10), LEP, el transportador de colesterol: ATP-Binding Cassette, subfamilia A1 (ABCA1), Señal de transducción intracelular mediada por cAMP (GNASAS) y MEG3, comparados con sus hermanos del mismo sexo y no expuestos.

La LEP es una de las citoquinas pro-inflamatorias junto con el Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNFalfa), la Interleukina 6 (IL6) y la Resistina, que son secretadas al torrente sanguíneo por el tejido adiposo. Es una proteína de 167 amino ácidos, cuya estructura tridimensional de cuatro hélices alfa es similar a las Citoquinas tipo 1. Su nombre se deriva de la raíz griega *leptos* que significa delgado.^{4,18,20,37,38} Figura 1.

Su gen (gen Ob) se encuentra en el cromosoma 7q31.3 y sus mutaciones son poco frecuentes, teniendo la gran mayoría de las personas obesas, aumentada la expresión y los niveles de leptina.^{4,14,20}

Síntesis: Si no se trata de una mujer en estado de embarazo, la LEP es producida en su gran mayoría por el tejido adiposo blanco y en menor medida por el tejido adiposo marrón, el estómago, el hígado, el hipotálamo y los ovarios. En la mujer embarazada, hay expresión y secreción de grandes cantidades de LEP por la placenta.^{4,16,19,23,37}

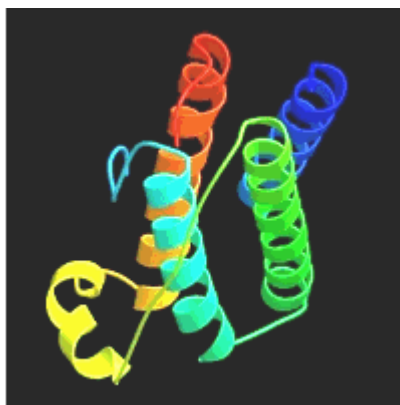


Figura 1. Estructura de la Leptina.³⁸

Se ha encontrado expresión de mRNA para LEP, aproximadamente 2 a 3 veces mayor en los adipocitos de la grasa subcutánea que en los de la grasa visceral. Los adipocitos de mayor tamaño producen mayor cantidad de LEP.^{4,20,37}

Regulación. Los niveles séricos de LEP, reflejan la cantidad de energía depositada en el tejido adiposo, por lo tanto sus niveles circulantes son proporcionales a la cantidad de grasa corporal.^{19,21,37,39}

Entonces la regulación de su secreción a mediano y largo plazo está dada por el aumento de la grasa almacenada en los adipocitos. Cuando la masa grasa aumenta y llega a un punto límite, de equilibrio, el mismo tejido adiposo libera al torrente sanguíneo LEP, que lleva una señal nutricional de adecuadas reservas energéticas al cerebro, para que se inhiba el apetito, se aumente la tasa metabólica basal y la termogénesis.^{19,37}

A corto plazo, la expresión y sus niveles están influenciados por la ingesta alimentaria, como también por niveles séricos de varias hormonas y citoquinas. Un ayuno prolongado disminuye sustancialmente sus niveles, mientras que una sobrealimentación los incrementa. Después de una alimentación, se elevan los niveles de glucosa en sangre, se libera insulina, la cual estimula la producción de LEP en el adipocito, elevando sus niveles sanguíneos.^{4,11,19}

Además de la insulina, los glucocorticoides y los estrógenos son reguladores positivos de la síntesis de LEP, mientras que las catecolaminas a través de sus receptores beta-adrenérgicos, los andrógenos y los ácidos grasos de cadena larga inhiben su síntesis.^{4,19,20,39}

Los niveles plasmáticos de LEP conservan una relación inversa con los niveles de cortisol y con la hormona del crecimiento. Otros factores derivados de los adipocitos, como las citoquinas pueden regular positivamente la expresión y los niveles de la LEP. Los procesos infecciosos, así como algunas citoquinas relacionadas (Factor de Necrosis Tumoral: TNF e interleuquina 1) estimulan la síntesis de LEP, lo que puede conducir a anorexia en estados patológicos como el cáncer y las infecciones, que cursan con altos niveles de citoquinas.^{4,19,20,39}

Mecanismo de acción. Después de ser producida, la LEP es secretada al torrente sanguíneo y para poder realizar sus funciones, debe unirse a sus receptores trans-membranosos específicos, localizados en el sistema nervioso central y en los órganos periféricos. Su receptor (*Ob-R*, LEPR, OBR) es homólogo al receptor de la familia de las Citoquinas clase 1.^{4,20,37}

Existen por lo menos 6 isoformas, incluyendo 4 formas cortas (*Ob-Ra*, *Ob-Rc*, *Ob-Rd* y *Ob-Rf*), relacionadas con las múltiples funciones biológicas a nivel periférico; una larga (*Ob-Rb*) que predomina en regiones hipotalámicas como el núcleo arcuado, regiones para-ventricular y ventro-medial y una forma soluble (*Ob-Re*).^{4,20,37}

En el cerebro la LEP, atraviesa la barrera hemato-encefálica, mediante un mecanismo de transporte que es saturable, por medio de su receptor *Ob-Ra* y en el hipotálamo se une a su receptor largo *Ob-Rb* e inhibe en el núcleo arcuado la expresión de moléculas orexigénicas, principalmente el Neuro Péptido Y (NPY), el más potente agente orexigénico, el cual aumenta la ingesta de alimentos y disminuye los niveles de la hormona estimulante del tiroides (TRH). De esta manera la LEP disminuye la ingesta de alimentos, aumenta la actividad tiroidea y la simpática sistémica, la tasa metabólica basal, la temperatura corporal y el gasto de energía.^{4,12,20,22,37}

Simultáneamente estimula la secreción de neuropéptidos anorexigénicos tales como la hormona estimulante de alfa melanocito, la cual actúa en el receptor melanocortin 4, transcritos regulados por cocaína y anfetaminas y la hormona liberadora de corticotropina.^{4,22,37}

A nivel periférico, en los adipocitos incrementa la termogénesis, al inducir la expresión y la actividad de proteínas desacopladoras de la cadena de electrones en la mitocondria (UCPs) y altera el punto de equilibrio hormonal para que no se almacene más tejido adiposo (disminuye la lipogénesis) y aumenta la lipólisis.^{4,20}

Existen receptores cortos en las células *beta* del páncreas, por medio de los cuales la LEP inhibe la secreción de insulina, mediada por el estímulo de hiperglicemia. En el hígado reduce la gluconeogénesis a partir de diferentes precursores y es capaz de aumentar la síntesis de ácidos grasos.^{20,37}

En las suprarrenales, inhibe directamente la producción de glucocorticoides, los cuales en el hipotálamo disminuyen los niveles de TRH, similar al NPY. En ayunas o tras una restricción calórica, los niveles de LEP y de TRH se disminuyen y aumentan el cortisol y el NPY. En abundancia de comida ocurre lo contrario, aumenta la producción de LEP, TRH y disminuye el cortisol y el NPY.^{20,37}

El sistema LEP puede funcionar como un mecanismo adaptativo en un ambiente de escasos alimentos. Al disminuir sus niveles, uno de sus principales papeles sería conservar energía al disminuir la termogénesis inducida por la hormona tiroidea y movilizar reservas de energía al aumentar la secreción de glucocorticoides de estrés, la lipólisis, mientras suprime la función gonadal y además previene demandas de energía de un embarazo y la lactancia.^{20,37}

La LEP además de regular el apetito, el peso corporal y la termogénesis, es un regulador neuroendocrino de una gran diversidad de procesos: también regula a nivel central la maduración del sistema reproductivo (pubertad y fertilidad) y del sistema inmune, la respuesta inflamatoria, la angiogénesis y el tono vascular.^{4,19,20,22,37}

Niveles en sangre. La LEP actúa más como una señal de adiposidad, que como una señal de saciedad, teniendo sus niveles séricos una alta correlación con el IMC y el PGC en humanos y en animales. La mayoría de la LEP, circula en sangre unida a proteína, fundamentalmente a la isoforma soluble (Ob-Re) de su receptor específico y una fracción en forma libre. La isoforma soluble regula su concentración libre en el plasma.^{19,21,37,39}

Sus niveles, por radioinmunoanálisis específico o por ensayo inmuno enzimático (ELISA), en personas con peso normal, pueden estar entre 3 y 18 ng/ml y en personas con un IMC mayor de 30, se pueden encontrar valores de 30 o más ng/ml.^{4,20}

Un estudio realizado en población uruguaya, encontró los siguientes niveles de acuerdo al IMC: En mujeres y hombres no obesos: $17,1 \pm 10,5$ ng/ml y $8,9 \pm 4,8$ ng/ml, respectivamente. En mujeres y hombres obesos: $33,5 \pm 16,8$ ng/ml y 15 ± 14 ng/ml, respectivamente.⁴⁰

Aún después de ajustar por masa grasa, las mujeres tienen niveles más altos que los hombres debido a su diferente distribución de la grasa corporal o al efecto inducido por los estrógenos, progestágenos combinado con el efecto de supresión de los andrógenos en la expresión de la LEP.^{4,20}

LEP y Obesidad. Defectos genéticos que implican la ausencia del gen que expresa LEP en ratones ob/ob y en humanos, determinan la aparición temprana de obesidad mórbida, infertilidad y menor temperatura corporal, actividad locomotriz y del sistema inmune, que pueden ser revertidos con la administración de dicha hormona.^{4,20,37}

Personas con deficiencia de LEP, probablemente representan solamente una minoría de humanos obesos. En contraste la mayoría de humanos obesos tienen elevados sus niveles, presentando una hiperleptinemia, que se ha explicado por los mayores PGC y a un estado de resistencia a la LEP en la obesidad.^{4,14,16,19,20}

Este estado de resistencia a la LEP se caracteriza por tener un apetito exagerado a pesar de tener unos mayores niveles en suero y a mayores niveles de glicemia por que induce resistencia periférica a la insulina. Siendo la producción de LEP por unidad de masa grasa, su vida media así como también su actividad biológica, similar en individuos obesos y no obesos.^{4,14,20,29}

Incrementos en los niveles de LEP por encima de 25 a 30 ng/ml (umbral), no son transportados al líquido cefalorraquídeo en igual proporción, lo cual puede resultar en una aparente resistencia a la LEP. Caro JG y col. determinaron niveles de LEP tanto en líquido cefalorraquídeo como en suero, y encontraron que a pesar de que los obesos tenían valores en suero 318% superiores a los delgados, en el líquido la diferencia era tan solo de 30%, lo que sugiere que la LEP entra al cerebro por sistema transporte saturable. La capacidad de transporte al cerebro es más baja en los obesos y puede producir un mecanismo de resistencia.^{20,41}

En personas delgadas con una relativa pequeña masa de tejido adiposo, casi toda la LEP circulante está unida a proteína y muy poca cantidad está libre, mientras en los obesos la proporción libre es mucho mayor. Esta forma libre tiene mayor degradación proteica o depuración renal. Además la LEP que circula unida a proteína tiene una mayor actividad biológica debido a modificaciones bioquímicas, lo cual puede ser otra explicación de la resistencia a la LEP en la obesidad.^{19,37,41}

Otra explicación para esta resistencia a la LEP, tiene que ver con que en la obesidad, hay un proceso inflamatorio crónico. El tejido adiposo, secreta una variedad de citoquinas, llamadas colectivamente adipoquinas, que regulan el metabolismo energético, la sensibilidad a la insulina y procesos pro y antiinflamatorios.^{14,18,19,27,37,39}

La LEP y la Proteína C Reactiva (PCR), esta última liberada en todo proceso inflamatorio y/o infeccioso bacteriano, se encuentran elevadas en la obesidad, aterosclerosis, infarto de miocardio, accidente cerebrovascular y pre-eclampsia.¹⁴

La LEP y la IL-6, secretadas por el tejido adiposo, estimulan en el hígado y el endotelio la liberación de la PCR. Los niveles de LEP correlacionan positivamente con los niveles de la PCR. A su vez la PCR, se une a la LEP y bloquea su acción biológica. Por ejemplo, evita que la LEP active por la vía de señalización de la Fosfatidil Inositol 3 Kinasa (PI3K), la liberación de óxido nítrico a nivel endotelial, produciendo aumento del tono vascular, empeoramiento de la función endotelial, hipertensión y aumenta el riesgo cardiovascular.^{19,37}

Se ha encontrado en mujeres embarazadas obesas (a mayor IMC), mayor aumento de citoquinas pro-inflamatorias en sangre y placenta, que puede tener relación con el desenlace de obesidad en los hijos.^{14,39}

Por último, se han postulado posibles defectos genéticos en los componentes de las vías de señalización de la LEP, anomalías en sus receptores en el plexo coroideo, el hipotálamico o en los mecanismos de transducción post-receptor, como responsables por la resistencia en las personas obesas. Cuesta y col. afirman que la vía hipotalámica LEP/Melanocortin es crítica en muchos casos de obesidad monogénica, por una mutación en el gen del receptor melanocortin-4.^{4,12,14,20,37}

LEP y Embarazo. En la pre-adolescencia la mujer alcanza una cantidad crítica de reservas energéticas (acumulo de tejido adiposo) y como señal se elevan los niveles de LEP en sangre, indicándole al cerebro la suficiencia de los depósitos grasos que aseguran el desarrollo del sistema reproductor, el inicio de la pubertad, el mantenimiento del ciclo menstrual y la fertilidad para la reproducción, el crecimiento, etc. Se ha mostrado que las adolescentes extremadamente delgadas, desnutridas, atletas o bailarinas de ballet, comienzan la pubertad y fertilidad de forma tardía, debido a los pocos depósitos grasos y energía almacenada para sostener un embarazo.^{20,22}

Entonces cuando la pre-adolescente alcanza el peso corporal crítico, la LEP actúa sobre los receptores hipotalámicos y estimula la liberación del factor regulador de la secreción de gonadotropinas hipofisarias (LHRH), dando inicio a la liberación de hormona luteinizante (LH) y la hormona estimulante de los folículos (FSH) prepuberal, las que estimulan a las gónadas, con la consecuente secreción de los esteroides sexuales, (estradiol y testosterona) que promueven el desarrollo del aparato reproductor y la inducción de la pubertad. La administración de LEP mejora y corrige la amenorrea que frecuentemente se presenta en las pacientes con obesidad.²⁰⁻²²

Ya en la mujer embarazada, se presenta un incremento progresivo de los niveles de LEP a través de la gestación, particularmente durante el segundo y el tercer trimestre, declinando inmediatamente antes del parto. Estas grandes cantidades de LEP, expresadas y secretadas por la placenta, tanto por las células del trofoblasto como por las del amnios, inicialmente sirven para angiogénesis y la adecuada invasión de las vellosidades coriónicas en las arterias espirales uterinas y luego para la transferencia de nutrientes al feto, principalmente carbohidratos y lípidos.^{16,22,23,29,30}

En el último trimestre de un embarazo normal hay un estado “diabetogénico”, la LEP disminuye el umbral para liberar insulina como respuesta al nivel de glucosa, produciendo resistencia a la insulina e hiperinsulinemia. Esto junto con la lipólisis que produce, favorece la disponibilidad de nutrientes al feto. En modelos se ha visto que la LEP está involucrada con el desarrollo y maduración de muchos órganos del feto, incluidos el corazón, cerebro, riñones y el páncreas. También ha sido postulada como un factor de crecimiento para el feto.²¹⁻²³

Durante el embarazo ocurre una hiperleptinemia fisiológica, con niveles 3 a 4 veces mayores de los de una mujer no embarazada. Esta hiperleptinemia no produce sensación de saciedad y disminución del apetito como ocurriría en un estado de no embarazo, lo cual representa un estado de resistencia a la LEP con respecto al control del apetito, análogo a la hiperleptinemia y resistencia a la LEP observada en las personas con obesidad.^{6,14,16,30}

Catov y col. encontraron los siguientes niveles de LEP en 77 embarazadas que tuvieron bebés con peso adecuado: 15,2 ng/ml a las 18 semanas, 17,3 ng/ml a las 28 semanas y 20,7 ng/ml a las 40 semanas.⁴²

En las mujeres embarazadas obesas hay mayores niveles plasmáticos de LEP, de glucosa, mayores niveles de LEP en sangre de cordón y mayor adiposidad del recién nacido. En estos recién nacidos han encontrado también mayores niveles de LEP.^{21,28,29}

Zhao y col. buscando la correlación entre el IMC y el PGC con desenlaces gestacionales, encontraron mayores tasas de DG e HTA en las madres embarazadas con sobrepeso y obesidad. Además los niveles de LEP fueron significativamente más altos en mujeres obesas ($24,7 \pm 18,3$) y con sobrepeso ($20,7 \pm 15,1$) comparadas con las embarazadas con IMC normales ($13,3 \pm 6,5$). El PGC se correlacionó más fuertemente al desarrollo de DG e HTA que el IMC.²⁷

Niveles de LEP muy elevados en las primeras fases del embarazo, son un predictor para el desarrollo de DG, pre-eclampsia y nacer PEG, independiente de adiposidad pre-embarazo. Se postula que alteraciones en los niveles plasmáticos maternos durante el desarrollo fetal y organogénesis, puede modificar el desarrollo del feto y contribuir al aumento del riesgo de las ECNT.^{13-15,21-23,31}

Después del parto se produce un descenso de las concentraciones de LEP en el recién nacido, fenómeno que podría ser un estímulo para iniciar la actividad de succión y amamantamiento. Sus niveles disminuyen paulatinamente desde el periodo neonatal hasta los dos años de edad y luego aumentan antes de la pubertad, como la masa grasa corporal incrementa y alcanza su pico al comienzo de la pubertad.^{12-15,19}

2.3. CAPITULO 2. OBESIDAD Y NIVELES DE LEPTINA EN MADRES DURANTE EL EMBRAZO, EN EL POSTPARTO Y EN SUS HIJOS.

2.3.1. Objetivos. 1. Determinar las características demográficas, antropométricas y de laboratorio, en las madres al ingreso al ECC ($14,5 \pm 2,1$ semanas de embarazo), características antropométricas y de laboratorio a las 32 semanas de embarazo, a los $21 \pm 2,4$ meses postparto y de sus hijos recién nacidos y a los 21 meses de edad.

2. Determinar si hay correlación entre el IMC, el PGC y los niveles de LEP a las 14,5 semanas, a las 32 semanas, a los 21 meses postparto y en sus hijos a los 21 meses de edad.

3. Determinar si las mujeres con sobrepeso/obesidad (mayores IMC) a las 14,5 semanas, permanecieron así a las 32 semanas y a los 21 meses postparto. Y si se correlacionaron con recién nacidos con mayor peso e índice ponderal al nacer y con hijos a los 21 meses de edad con mayores IMC y CC.

4. Determinar cuáles variables evaluadas predicen mejor a aquellas mujeres que terminaron con sobrepeso / obesidad a los 21 meses postparto. Y cuáles variables predicen mejor a aquellos hijos con mayores IMC y CC a los 21 meses de edad.

5. Determinar si las mujeres con los mayores niveles de LEP a las 14,5 semanas, permanecieron así a las 32 semanas y a los 21 meses postparto.

6. Determinar si hay correlación entre el IMC y la CC en los niños a los 21 meses.

2.3.2. Metodología. Se evaluaron 74 binomios madre-hijo, provenientes del Ensayo Clínico Controlado (ECC): "Efecto del ejercicio físico y de la complementación con micronutrientes sobre factores maternos y placentarios asociados a la programación fetal de enfermedades crónicas no transmisibles," realizado entre 2010 y 2011.⁴³

En este ensayo clínico, captaron 407 primigestantes sanas, entre las 16 y 20 semanas de embarazo, Aleatoriamente, fueron asignadas a 4 grupos (ejercicio, ejercicio con micronutrientes, micronutrientes y control). Al ingreso ($14,5 \pm 2,1$ semanas) y a las 32 semanas, se realizaron medidas antropométricas y

exámenes de laboratorio. Al momento del parto tomaron todas las medidas antropométricas del recién nacido y de la placenta.

Criterios de Inclusión. Madres del ECC mencionado, con la disposición a participar en este nuevo estudio con sus hijos de aproximadamente 21 meses de edad, mediante la firma del consentimiento informado.

Criterios de exclusión. No se puedan localizar telefónicamente, no deseen participar en el estudio o cuando el hijo tenga una enfermedad metabólica tipo diabetes, malformaciones mayores o haya muerto.

Procedimientos. Entre noviembre de 2012 y mayo de 2013, cuando el grupo de mujeres controles tenían 21 meses postparto, se les realizaron llamadas telefónicas, invitándolas a participar en este nuevo estudio y aquellas madres que aceptaron fueron trasladadas con sus hijos, por el servicio de taxis contratado, hasta la sede San Fernando de la Universidad del Valle.

Se tomó información de las historias del ECC como: edad de la madre (años) al ingreso, etnia, nivel educativo, estrato socioeconómico y régimen de seguridad social. Peso, talla, IMC, PGC, además los niveles de hemoglobina (g/dl), de LEP (ng/ml) y de la PCR (mg/L) en plasma a las 20 y 32 semanas y el resultado de otros exámenes. De los recién nacidos se obtuvo información de la fecha de nacimiento, sexo, peso (g), talla (cm), índice ponderal (g/cm^3), perímetro cefálico (cm), vía de nacimiento y el peso de la placenta (g).

El día de la consulta en la Sección de Nutrición (Edificio 100), a las madres se les midió peso (k), talla (m), PGC y con el peso y la talla se calculó el IMC. Se utilizó una balanza Tanita Modelo 2001. A los niños se les realizó una consulta pediátrica, se les midió peso (k), talla (cm), perímetro cefálico y Circunferencia de Cintura (cm). Con el peso y la talla se calculó el IMC. Se dieron recomendaciones de puericultura, vacunación, se solicitaron exámenes y se formularon medicamentos según necesidad. Por medio del Software WHO-antro se determinó el puntaje z del peso, la talla, IMC y perímetro cefálico, para la edad y sexo de los niños.

Al final de la consulta, se tomó una muestra de 3 ml de sangre venosa a la madre y al menor, que fueron transportadas en neveras de icopor con baterías de hielo, hasta el laboratorio de Bioquímica del 5º piso del Edificio 116, donde se realizó el protocolo existente para “Extracción de capa de blancos”: después de centrifugar la muestra de sangre venosa a 3000 rpm durante 10 minutos, el plasma y la capa de blancos obtenidos, se guardaron por separado en la nevera a -70°C hasta su análisis.

Por servicios técnicos, se determinaron los niveles de LEP en plasma (ng/ml) de las madres a los 21 meses postparto y de sus hijos, por inmunoensayo enzimático (EIA), en el Laboratorio de Referencia Andino en Bogotá.

Entre septiembre y octubre de 2013, se volvieron a buscar telefónicamente estas madres para un segundo seguimiento y aceptaron participar 14 binomios madre-hijo. Esta vez se realizó solo la valoración antropométrica del binomio y la consulta pediátrica.

Plan de análisis. Para el objetivo 1, se editaron cada una de las variables analizadas, las cualitativas por medio de distribuciones de frecuencias absolutas y relativas, y las cuantitativas por medio de promedios, Desviación Estándar (DE), rango, mediana y Rango Intercuartil (RIC). Se determinó la distribución de las variables continuas con la prueba de Kolmogorov Smirnov para una muestra.

Para los objetivos 2, 3 y 6, se buscó correlación entre el IMC, PGC y los niveles de LEP a las 14,5, 32 semanas de embarazo y a los 21 meses postparto, con las pruebas de Pearson (r) o Spearman (p), según la distribución. Se buscó Correlación entre el IMC a las 14,5 semanas de embarazo y el peso al nacer, el índice ponderal, el IMC y la CC de los niños a los 21 meses de edad.

Para el objetivo 3 y 5, se categorizó el IMC a las 14,5 y 32 semanas de embarazo y a los 21 meses postparto, en 1: menor del promedio y 2: igual o mayor que el promedio, realizándose posteriormente la prueba Kappa en búsqueda de concordancia. Se realizó igual procedimiento con los niveles de LEP a las 14,5 y 32 semanas de embarazo y a los 21 meses postparto.

Para el objetivo 4, se realizó un modelo de regresión lineal tomando como variable dependiente el IMC de las madres a los 21 meses postparto y como variables independientes, las variables continuas a las 14,5 y 32 semanas de embarazo. Se realizó lo mismo tomando como variable dependiente el PGC, luego el nivel de LEP en las madres a los 21 meses postparto. Por último se tomó como variable dependiente el IMC en los niños, luego la CC y por último el nivel de LEP en los niños.

Aspectos Éticos. El ECC "Efecto del ejercicio físico y de la complementación con micronutrientes sobre factores maternos y placentarios asociados a la programación fetal de enfermedades crónicas no transmisibles," tiene Registro Trial NCT 00872365 y fue evaluado y aprobado por el Comité Institucional de Revisión de Ética Humana (CIREH) de la Facultad de Salud de la Universidad del Valle.

El presente estudio derivó del proyecto “Efecto de la complementación con micronutrientes antioxidantes durante la gestación sobre la regulación epigenética de genes relacionados con estrés oxidativo en el niño menor de 2 años”, financiado por Convocatoria Interna de la Universidad del Valle 02-2012, código 1702 y también evaluado y aprobado por el CIREH de la Facultad de Salud de la Universidad del Valle, mediante Acta 08-012 y código 062-12. (Anexo 1)

En el presente estudio, se cambió de tres genes relacionados con estrés oxidativo a un solo gen, el de LEP. Este cambio fue aprobado por el CIREH de la Facultad de Salud de la Universidad del Valle, por medio de oficio fechado el 27 de marzo de 2014.

2.3.3. Resultados y Discusión.

Objetivo 1. A las $14,5 \pm 2,1$ semanas de embarazo, estas 74 madres tenían una edad promedio de 20 años, la mayoría provenían de los barrios Siloé y Terrón Colorado de la ciudad de Cali, tenían educación secundaria, eran del régimen de seguridad social subsidiado, eran mestizas y en unión libre seguido por madres solteras. Tabla 1.

De las variables continuas, el PGC a las 14,5 semanas, el peso y la talla al nacer y la edad gestacional neonatal, no mostraron distribución normal.

A las 14,5 semanas de gestación, la mayoría de las madres (65%) tenían un IMC normal y un porcentaje alto (20,2%) tenía sobrepeso u obesidad. A las 32 semanas, la mayoría de las madres subieron a un IMC de sobrepeso u obesidad (65,7%), debido al aumento del peso a través del embarazo, porque cada vez son mayores el líquido amniótico, la placenta y el feto. A los 21 meses postparto, una proporción de estas madres regresó al rango de IMC normal (47,7%), pero muchas (35,7%) quedaron con sobrepeso u obesidad, quedando más pesadas que al ingreso al estudio (20,2%). Tabla 2.

Las guías de práctica clínica sobre ganancia de peso durante el embarazo, recomiendan que la mujer no llegue a él con sobrepeso u obesidad, por todas las complicaciones conocidas en la misma mujer y en su producto. Además recomiendan a los servicios de salud, vigilar la ganancia de peso durante el mismo. Las mujeres con IMC pre-embarazo normal deben aumentar entre 11,5 y 16 k; las mujeres con sobrepeso u obesidad pre-embarazo deben solo aumentar entre 7 y 11,5 k y las que ingresan con bajo peso, son las que más deben aumentar (12,5 y 18 k).²⁶

Tabla 1. Características Demográficas y Clínicas Maternas al ingreso al Ensayo Clínico. 2010-2011. (n=74)

Característica	N (%)
Escolaridad	
Primaria	5 (6,8)
Secundaria	66 (89,2)
Universitaria	3 (4)
Seguridad social	
Contributivo	4 (5,4)
Subsidiado	70 (94,6)
Estado Civil	
Casada	3 (4,1)
Soltera	28 (37,8)
Unión libre	43 (58,1)
Etnia	
Mestiza	68 (91,9)
Afro	6 (8,1)
Edad (años)	
Promedio $\pm$ DE	20,4 $\pm$ 3,4
PAS (mm Hg)	
Promedio $\pm$ DE	109,1 $\pm$ 8,8
PAD (mm Hg)	
Promedio $\pm$ DE	64,6 $\pm$ 7,5

DE: Desviación estándar.

A las 14,5 semanas de gestación, el peso promedio fue de $54,8 \pm 9,6$ k, con un rango entre 38,5 y 82,5 k. Entre las 14,5 y 32 semanas del embarazo, la ganancia de peso promedio fue de $8,8 \pm 3,6$ k, con un rango entre 2,5 y 16,5 k. A excepción de una madre, todas aumentaron de peso. Entre la semana 32 del embarazo y la evaluación actual, la pérdida promedio de peso fue de $4,9 \pm 6,3$ k con un rango entre 9 y 17,1 k. Once madres en vez de disminuir, aumentaron de peso entre 0,2 y 20 k. Seis de estas 11 madres, habían presentado sobrepeso u obesidad a las 14,5 y 32 semanas y ahora a los 21 meses postparto.

La mediana del PGC inicial fue de 32% con RIC entre 29,7% y 34,7%. A las 32 semanas no se encontró datos del PGC y a los 21 meses postparto fue de 29,2% (RIC 6 y 47%). Tabla 2.

A las 14,5 y 32 semanas de embarazo, solamente 24 madres tenían determinación de LEP y PCR. Al ingreso el promedio de LEP en plasma fue de $27,7 \pm 16,5$ ng/ml. A excepción de 4 madres, la mayoría tenían niveles, por

encima del promedio de LEP encontrado por Catov y col, en mujeres con 18 semanas de embarazo (15,2 ng/ml).⁴² Tabla 2.

Así como se comportaron el peso y el IMC, el promedio de LEP aumentó a las 32 semanas y luego disminuyó a los 21 meses postparto, pero quedo por encima del nivel de ingreso. Tabla 2.

A las 32 semanas, el promedio de LEP aumentó a $34,3 \pm 15,3$ ng/ml con un rango entre 14,6 y 76,2 ng/ml. Entre las 14,5 y 32 semanas el aumento promedio fue de $6,5 \pm 17,1$ ng/ml, con un rango entre 0,28 y 32,3 ng/ml. A excepción de 3 madres de 24, la mayoría tenían niveles de LEP, por encima de lo encontrado por Catov y col. para mujeres con 28 semanas de embarazo (17,3 ng/ml).⁴²

Siete madres por el contrario presentaron disminución de sus niveles entre 0,29 y 42,2 ng/ml. Lo ocurrido en estas 7 madres tampoco está de acuerdo con la biología normal: en toda mujer embarazada, los niveles de LEP aumentan progresivamente entre el segundo y tercer trimestre del embarazo y solo decaen antes del parto.^{16,22,23,29,30}

Tabla 2. Evolución de Antropometría y Laboratorios Maternos. 2010-2013.

Variable	14,5 Semanas de Gestación (n=74)	32 Semanas de Gestación (n=73)	21 meses postparto (n=67)
Índice Masa C (k/m ²)			
< 18,5	11 (14,8%)	2 (2,7%)	11 (16,4%)
18,5 - 24,9	48 (64,8%)	23 (31,5%)	32 (47,7%)
25 o más	15 (20,2%)	48 (65,7%)	24 (35,7%)
Índice Masa C (k/m ²)			
Promedio $\pm$ DE	$22,6 \pm 3,7$	$26,2 \pm 4,1$	$24,1 \pm 5,5$
Porcentaje Grasa Corporal			
Mediana $\pm$ RIC	32% (29,7; 34,7%)		32% (29,7; 34,7%)
Leptina (ng/ml) (n=24)			
Promedio $\pm$ DE	$27,7 \pm 16,5$	$34,3 \pm 15,3$	$30,6 \pm 29,5$
Proteína C Reactiva (mg/L)			
Promedio $\pm$ DE	$0,7 \pm 0,5$	$0,7 \pm 0,48$	
Hemoglobina (g/dl) (n=74)			
Promedio $\pm$ DE	$12,4 \pm 0,9$	$11,4 \pm 1,3$	

A los 21 meses postparto, se determinaron niveles de LEP plasmática a 56 madres, encontrando que su promedio disminuyó a $30,6 \pm 29,5$ ng/ml, con un rango entre 2,6 y 103,1 ng/ml., pero quedó superior al promedio de LEP del ingreso al estudio. Contrario a lo esperado, cinco madres presentaron aumento de leptina entre 1,1 y 17,1 ng/ml. Tabla 2.

Este promedio de LEP a los 21 meses postparto, también fue superior al nivel de referencia para mujeres no embarazadas y no obesas ($17,1 \pm 10,5$ ng/ml) y similar al nivel para mujeres obesas ($33,5 \pm 16,8$ ng/ml).⁴⁰

El promedio inicial de la PCR fue bajo: $0,7 \pm 0,5$ mg/L, con un rango entre 0,1 y 2,1 mg/L, siendo similar a las 32 semanas: $0,7 \pm 0,5$ mg/L, con un rango entre 0,1 y 1,8 mg/L. La hemoglobina inicial promedio fue de $12,4 \pm 0,9$ g/dl con un rango entre 9,8 y 14,3 g/dl y a las 32 semanas: $11,4 \pm 1,3$ g/dl con un rango entre 8,8 y 15,2 g/dl (n: 39). Los resultados de la serología (n: 73) fueron negativos. Tabla 2.

Estas 74 madres tuvieron niños con un peso promedio al nacer de $3206 \pm 386,6$ g (rango entre 2120 y 4265 g), masculinos el 51,4%. Tabla 3. Dos niños nacieron con bajo peso (menor de 2500 g) pero eran adecuados para las 37 semanas de gestación y dos nacieron macrosómicos (4000 g o más).

El índice ponderal promedio al nacimiento fue de $2,53 \pm 0,3$ g/cm³ con un rango entre 1,86 y 3,29 g/cm³. Veinte y tres niños nacieron con IP bajo (desproporcionados o asimétricos, IP menor de 2,44 g/cm³), 47 con IP normal (proporcionados o simétricos, IP entre 2,44 y 3,05 g/cm³) y 4 con IP elevado (mayor de 3,05 g/cm³).⁴⁴

Entre noviembre de 2012 y mayo de 2013, estos 74 niños, tenían un promedio de edad de $20,7 \pm 2,4$ meses con un rango entre 17 y 30 meses. El puntaje z promedio del peso para la edad y el sexo fue de $0,18 \pm 1,1$, con un rango entre -2,4 y 4,21. Tabla 3.

Su IMC promedio fue de $16,6 \pm 1,6$ k/m² con un rango entre 13,9 y 24,3 k/m². El puntaje z promedio del IMC para la edad y el sexo fue de $0,59 \pm 1$, con un rango entre -1,4 y 5,1. Tabla 3. Seis niños mostraron obesidad (más de 2DE), en dos de ellos sus madres habían sido obesas y en uno su madre había presentado sobrepeso. No se encontraron niños con desnutrición por el puntaje z del IMC.

Tabla 3. Antropometría y Laboratorios de Neonatos e Hijos a los 21 meses de edad.

Recién nacidos (n=74)		Lactantes (n=74)	
Edad gestacional (sema)		Edad (meses)	
Promedio $\pm$ DE	38,8 $\pm$ 1,2	Promedio $\pm$ DE	20,7 $\pm$ 2,4
Peso al nacer (g)		Peso/edad (z)	
Mediana (RIC)	3137,5 (2950; 3450)	Promedio $\pm$ DE	0,18 $\pm$ 1,12
Índice ponderal (g/cm ³)		Índice Masa C	
Promedio $\pm$ DE	2,5 $\pm$ 0,3	Promedio $\pm$ DE	16,6 $\pm$ 1,6
Talla al nacer (cm)		Índice Masa C/edad	
Mediana (RIC)	50 (49; 51)	Promedio $\pm$ DE	0,59 $\pm$ 1,05
Perímetro cefálico (cm)		Circunferencia cintura	
Promedio $\pm$ DE	34 $\pm$ 1,6	Promedio $\pm$ DE	45,3 $\pm$ 3,4
Peso Placenta (g)		Leptina (ng/ml) (n=26)	
Promedio $\pm$ DE	459,1 $\pm$ 82,9	Promedio $\pm$ DE	2,42 $\pm$ 1,51

DE: Desviación estándar. RIC: Rango intercuartil.

La Circunferencia de Cintura (CC) promedio en esos niños fue de 45,3 $\pm$ 3,4 cm con un rango entre 39 y 62 cm. Tabla 3. En 24 de estos niños su valor de CC era bajo (percentil 3 o menos para la edad y sexo), 45 niños con valores de CC normales (entre los percentiles 10 y 75) y solo 2 con valores de CC elevados (uno en percentil 90 y el otro superiores al 95).⁴⁵

Se determinaron niveles de LEP en plasma en 26 de estos niños, encontrando un promedio de 2,4 $\pm$ 1,5 ng/ml con un rango entre 0,8 y 6 ng/ml, valores muy inferiores a los encontrados en sus madres, por su menor tamaño corporal. Tabla 3.

Objetivo 2. A las 14,5 semanas de embarazo, se encontró una correlación significativa entre el IMC y los niveles de LEP (Coeficiente de correlación de Spearman, p : 0,649 p =0,001). Lo cual está de acuerdo con lo reportado en la literatura, a mayor IMC, mayor nivel de LEP en la mujer embarazada.^{19,21,37,39} El IMC también mostró correlación significativa con la presión arterial sistólica (p : 0,263 p =0,024). Tabla 4.

A las 32 semanas de gestación y a los 21 meses postparto, el IMC continuó teniendo una correlación significativa con sus niveles de LEP, respectivamente, (p : 0,584 p = 0,003) y (p : 0,936 p =0,000). En los hijos, también el IMC mostró correlación significativa con sus niveles de LEP (p : 0,468 p =0,016). En la Tabla 4. están las 24 madres con niveles de LEP, ordenadas por IMC de menor a

mayor a las 14,5 semanas y se puede ver que a medida que aumenta el IMC a las 14,5 y 32 semanas y 21 meses postparto, aumenta su correspondiente nivel de LEP.

A las 14,5 semanas de embarazo, se encontró una correlación significativa, pero inversa, entre el PGC y el IMC ($p: -0,825$ $p=0,000$): a menor IMC mayor PGC y viceversa. Como se puede ver en la Tabla 4, siete de 8 madres con los IMC más bajos, presentaron los mayores PGC y 14 de 15 madres con sobrepeso y obesidad, tenían los PGC más bajos. La correlación entre el PGC y el nivel de LEP también fue negativa ($p: -0,433$ $p=0,034$).

Estas correlaciones negativas del PGC no están de acuerdo con la biología normal: en toda persona, a mayor IMC (sobrepeso/obesidad) debe haber mayor PGC y a su vez mayores niveles de LEP, porque esta es producida y liberada por el tejido adiposo. En la mujer embarazada ocurre lo mismo, pero sus niveles son mucho mayores, por la producción adicional de la placenta y por la resistencia a la LEP que existe en ellas.^{6,14,16,30} Una posible explicación es que esta variable tuvo una distribución no normal al ingreso y que no sea un buen indicador por las condiciones fisiológicas específicas del embarazo.

Cuando estas mujeres ya no estaban en embarazo, el PGC mostró una distribución normal y una correlación significativa y positiva con el IMC ($p: 0,929$ $p=0,000$) y con los niveles de LEP ($p: 0,874$ $p=0,000$). Tabla 4.

A las 14,5 semanas, los niveles de LEP presentaron una correlación significativa con la PCR ($r: 0,489$ $p=0,021$), debido a que las dos son proteínas pro-inflamatorias y la LEP induce la producción de la PCR en hígado y en el endotelio.^{19,37} A las 32 semanas, no se encontró esta correlación ($p: 0,141$). Si se encontró una alta concordancia entre la PCR a las 14,5 y a las 32 semanas (Kendall: $0,436$ $p=0,005$).

Objetivo 3. Se encontró una alta concordancia entre el IMC a las 14,5 y a las 32 semanas (Kendall: 0,772, $p=0,000$) y al categorizar estas dos variables en su promedio, las pruebas de Kappa y Q de Cochran, mostraron alta concordancia ($p= 0,000$), determinando que las madres que ingresaron con IMC elevados a las 14,5 semanas, continuaron con IMC elevados a las 32 semanas.

Tabla 4. Índice de Masa Corporal, Porcentaje de Grasa y Niveles de Leptina (n=24), en las tres evaluaciones maternas. 2010-2013.

CODIGO	IMC 14S	PGRA 14S	LEP 14S	IMC 32S	LEP 32S	IMC 21M	PGRA 21M	LEP 21M
RQ051	15,6	60,7	8,85	17,8	17,01	14,5	6	3,71
RI158	17,2	43,2	16,81	21,6	16,52	18,2	21	9,48
NI221	17,3	38,9	13,26	23,3	34,86	16,7	15	5,01
HP013	19,1	32,2	18,24	22,9	31,74	22,9	28	34
SA109	19,9	39,6	19,08	26,8	30,43	21,7	23	13,7
NQ067	20,3	32,8	19,75	23,8	20,25	23	28	16,2
WW105	20,3	33,5	17,41	24,4	46,46	18,7	18	7,22
TY124	20,6	34,7	29,78	24,5	24,1	23,9	29	29,9
MM130	21,2	33,5	22,06	26,0	28,94	21,5	25	20
WP251	21,2	29,1	11,45	26,8	43,76	25,3	34	36,3
NQ012	21,5	30,8	18,22	25,3	14,61	21,2	21	8,11
MP090	21,7	32,1	17,95	26,8	30,25	22,2	31	24,4
RT061	21,8	39		25,1		23,4	28	
NK164	21,9	29,7	37,78	26,3	51,51	21,5	29	12,7
MJ222	22,2	35,5	14,8	25,7	29,78	22,8	24	5,78
SQ046	22,2	30,8	31,48	26,6	23,8	23,7	28	13,6
TP066	22,6	32,5	73,84	28,0	31,58	29,6	38	31,5
MA001	22,8	29,7	15,76	25,9	27,67			
WY236	24,5	31,3	40,92	26,0	22,16			
WE299	24,6	27,5	31,18	28,1	58,18	25,8	36	45,2
TG219	24,8	30,8	52,92	29,6	36,2	29,9	40	42,6
ZU062	25,2	27,9	33,8	29	63,4	30,6	42	64,5
ZW351	27,5	30,1	64,84	32,4	76,28	30,2	46	57,3
NT188	28,6	29,1	30,08	32,3	30,36	27,6	31	47,5
TV006	31,5	27,3	26,64	35,2	35,14			

La prueba de Kendall mostró alta concordancia entre el IMC a las 14,5 semanas y el IMC a los 21 meses postparto; y alta concordancia entre el IMC a las 32 semanas y el IMC a los 21 meses. Además al categorizar la variable IMC a las 14,5, 32 semanas y a los 21 meses postparto en su promedio, las pruebas Kappa y Q de Cochran, mostraron que en los tres tiempos, las madres tienen la misma distribución: las mismas madres con IMC elevados a las 14,5 semanas, continuaron con IMC elevados a las 32 semanas y a los 21 meses postparto. Y viceversa, las mismas madres con IMC bajos a las 14,5 semanas, continuaron con IMC bajos a las 32 semanas y a los 21 meses postparto.

En estos binomios, no se encontró correlación significativa entre el IMC, el PGC ni los niveles de LEP de la madre a las 14,5 semanas, con el peso, talla, perímetro cefálico ni índice ponderal al nacer. Varias publicaciones han mostrado que mujeres embarazadas con mayores IMC, PGA y niveles de LEP, tienen recién nacidos con mayores pesos al nacer y mayores contenidos de grasa corporal.^{21,28,29} Si se encontró que a mayor IMC materno a las 14,5 semanas, hay mayores IMC mayores CC en los hijos a los 21 meses de edad.

La única correlación significativa, encontrada con el peso al nacer fue con el peso placentario ($p: 0,451$ $p = 0,000$), el cual tuvo un promedio fue de $459,1 \pm 82,9$ g (rango entre 292 y 690 g). Tabla 3.

Objetivo 4. La primera regresión lineal, mostró que los niveles de LEP a las 14,5 semanas y el IMC a las 32 semanas, predicen mejor a aquellas madres con mayores IMC a los 21 meses postparto.

La segunda regresión lineal, mostró que el IMC, los niveles de LEP y de PCR maternos a las 14,5 semanas de embarazo, predicen mejor a los niños que a los 21 meses de edad, muestran los mayores IMC.

La regresión lineal con el PGC a los 21 meses postparto, mostró que las variables que mejor lo predicen son la LEP y el PGC a las 14,5 semanas de embarazo.

Objetivo 5. No se encontró concordancia entre los niveles de LEP a las 14,5 y a las 32 semanas ($k: 0,217$, $p: 0,137$) y la correlación fue significativa ($r: 0,424$ $p = 0,039$). Al categorizar estas dos variables en su promedio, la pruebas de Kappa y Q de Cochran, no mostraron concordancia ($p = 0,521$), indicando que las madres que ingresaron con LEP elevada a las 14,5 semanas, no continuaron igual a las 32 semanas.

La prueba de Kendall no mostró concordancia entre el nivel de LEP a las 14,5 semanas y el nivel a los 21 meses postparto. Además al categorizar la variable LEP a las 14,5, 32 semanas y a los 21 meses postparto en su promedio, las pruebas Kappa y Q de Cochran, mostraron que en los tres tiempos, las madres no tienen la misma distribución: las mismas madres con LEP elevada a las 14,5 semanas, no continuaron así a las 32 semanas ni a los 21 meses postparto.

Objetivo 6. En los niños a los 21 meses, el peso para la edad, mostró correlación positiva con la CC ($p: 0,777$ $p=0,000$) y con los niveles de LEP ($p: 0,539$ $p=0,004$). EL IMC también mostró correlación con los niveles de LEP ($p: 0,468$ $p=0,016$) y con la CC. ($p: 0,845$ $p=0,000$).

Entre septiembre y octubre de 2013, se volvieron a evaluar 13 de estas madres, ya con 30 meses postparto en promedio (RIC 27; 32). La mediana del peso materno fue de 57,8 k (RIC 46,4; 60k) con un mínimo y máximo entre 41,8 y 80 k.

El comportamiento del peso entre los 21 y 30 meses postparto en estas 13 madres fue estable. La mediana de descenso de peso fue de 0,4 k con un rango entre 0,2 y 11 k. Cuatro madres aumentaron entre 0,4 y 2,4 k entre estos periodos. La mediana del IMC materno fue de 22,6 k/m^2 (RIC 20,3; 25,6) con un mínimo y máximo entre 16,6 y 30,1 k/m^2 . Dos madres presentaban delgadez, 6 estaban normales, 4 con sobrepeso y una obesa. La madre con el IMC más bajo, tuvo IMC bajo a las 20 y 32 semanas de embarazo y a los 21 meses postparto. La madre obesa, tuvo sobrepeso a las 20 y 32 semanas y obesidad a los 21 meses postparto. La correlación entre el IMC a los 21 y 30 meses postparto fue significativa ($p: 0,848$ $p=0,000$).

La mediana del PGC materno fue de 28% (RIC 21; 31%) con un mínimo y máximo entre 10 y 37%. En esta segunda evaluación, también se encontró una correlación entre el IMC y el PGC significativa y positiva ($p: 0,924$ $p=0,000$).

Sus 13 niños tenían una mediana de edad de 30 meses (RIC 27; 32) con un mínimo y máximo entre 24 y 34 meses. Tenían una mediana del puntaje z del peso para la edad y el sexo de -2,14 (RIC -2,64; -1,43) con un rango entre -2,95 y 0,18). Con este indicador, siete niños presentaban desnutrición (menos de 2 DE) y 5 en riesgo de desnutrición (entre -2 y -1 DE). La mediana del puntaje z del IMC para la edad y el sexo fue de 0,02 (RIC -0,75; 0,4) con un mínimo y máximo entre -1,94 y 3,21. Dos niños presentaban obesidad (mayor de 2 DE) con una de sus madres que había presentado sobrepeso. Ninguno presentaba desnutrición (menos de 2 DE) y 2 en riesgo de desnutrición (entre -2 y -1 DE).

2.4. CAPITULO 3. BIOLOGÍA SISTÉMICA Y OBESIDAD

2.4.1. Objetivo. Identificar *in Silico* la expresión e interacción de otros genes asociados con obesidad, expresados en el tejido adiposo humano.

2.4.2. Metodología. Se realizó un Análisis Bio-informático, iniciando con una búsqueda de artículos en la página: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed> usando como filtro de búsqueda los artículos publicados entre 2010 y 2015, de trabajos en los que se haya utilizado micro-arreglos de ADN en células de tejido adiposo de personas obesas y controles. Se seleccionaron aquellos genes que estuvieran presentes en dos o más artículos con una proporción mayor de 1,5 de expresión en personas obesas y valor de p menor de 0,05.

Descripción general de genes asociados: Con el fin de realizar un mejor análisis, se colectaron y organizaron en una tabla dinámica en Microsoft Excel, ciertos datos generales de cada uno de los genes seleccionados, utilizando recursos del Genome Browser de la Universidad de California, como locus, número de exones, tamaño del gen y su respectivo ARNm en pares de bases y total de genes y repeticiones en el cromosoma. Además de esto se calculó el índice de complejidad de cada gen, haciendo la relación entre el tamaño del ARNm sobre el tamaño total del gen en pares de bases.

Se buscó interacciones proteicas físicas, entre estos 37 genes, utilizando información de interacciones proteicas físicas depositada en las bases de datos BioGRID (<http://thebiogrid.org/>) y PINA2 (<http://cbg.garvan.unsw.edu.au/pina/>). Con la información obtenida de interacción de proteínas de cada uno de los genes, se creó una matriz de interacción proteína-proteína inicialmente en Excel, que se trasladó a formato .TXT. Además se realizó una gráfica de barras.

Se creó una segunda matriz con los datos de z-score de expresión génica de cada gen en las tres personas obesas y en las tres personas no obesas, en formato .TXT. El z-score se calculó con la fórmula (valor de intensidad – promedio total/ desviación estándar total), obtenidos de un trabajo depositado por Oñate B. y col., en el Gene Expression Omnibus (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>). Número de plataforma GPL6244 y número de serie GSE48964.⁴⁶

Para construir la red de expresión e interacción se importaron al programa Cytoscape 3.2, la matriz de interacciones proteicas de los 37 genes en formato .TXT y la matriz de expresión génica total, también en formato .TXT.

El objetivo principal del estudio de Oñate y col, fue aclarar el mecanismo por el cual los adipocitos de personas con obesidad mórbida tienen menos células madres. Para esto tomaron muestras de tejido adiposo blanco subcutáneo de abdomen, en tres pacientes con obesidad mórbida: GSM1187673, GSM1187674 y GSM1187675 que fueron llevados a bypass gástrico y muestras en tres personas sin obesidad: GSM1187676, GSM1187677, GSM1187678, a quienes se les practicó lipectomía abdominal. Las células adiposas maduras fueron extraídas y cultivadas bajo condiciones de hipoxia para luego extraer el ARN total, que fue convertido a ADN de doble cadena y se hizo la transcripción de todos los genes, expresados en una micro-matriz de Affymetrix para evaluar la intensidad de expresión de los genes en células de tejido adiposo.⁴⁶

Categorías GO y datos topológicos: Las categorías ontológicas fueron extraídas de la red en el programa Cytoscape 3.2 utilizando el plugin Bi interacciones proteicas NGO, el cual establece una conexión remota con la base de datos Gene Ontology (<http://geneontology.org/>), reportando los procesos biológicos más destacados de la red, con su respectivo p-valor (corrección de Bonferroni). Para este trabajo se escogieron los 20 procesos con menor p-valor. Los datos topológicos de la red, por su parte, se extrajeron por medio de la función "Network Analyzer" con el fin de analizar mejor la red en términos estadísticos. Del programa GENEMANIA (<http://www.genemania.org/>) se extrajo información acerca de las interacciones físicas de mayor peso entre los genes asociados evaluados. Esta información fue organizada en una tabla dinámica de Microsoft Excel.

Análisis Multivariado: La colinealidad de las variables incluidas en este estudio, fue confirmada a través de una matriz de análisis y por la prueba de esfericidad de Bartlett ($p < 0,05$). Con base en los resultados, el modelo multivariado seleccionado para el siguiente análisis fue un Análisis de Componentes Principales (ACP). De acuerdo a resultados previos, el número de componentes fue estimado teniendo en cuenta una alta varianza de 60%, como el gráfico de sedimentación y los criterios de valores mayores que 1. Esto último interpretado como la cantidad de varianza explicada por cada uno de los componentes.

Se usó el paquete SPSS 20.0 para determinar el rango de expresión de cada uno de los genes evaluados en los dos grupos (control y obesos). El espacio muestral fue reducido de 37 variables a dos componentes principales en muestras de pacientes obesos comparados con las de no obesos. Además usando el programa Cytoscape 3.2, se construyó un mapa de expresión para diferenciar genes con incrementada o disminuida expresión en tejido adiposo de obesos y en grupo control.

Se realizó un paseo cromosómico en las zonas 100Kpb rio arriba y rio abajo de cada gen, teniendo en cuenta el número de secuencias repetidas Alu, islas CpG y genes. Para esto se utilizó información proporcionada por el Genome Browser de la Universidad de California y el Map Viewer del NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview/>). Se recorrieron las dos zonas dando “pasos” de 10Kpb y finalmente se construyó un gráfica de barras en Microsoft Excel. Posteriormente, debido a la gran cantidad de islas CpG de la zona 10Kpb rio arriba, se realizó una ampliación de esta zona y así conocer la ubicación más exacta de las islas CpG.

2.4.3. Resultados y Discusión. Se encontraron 37 genes -ANGPTL4, ADIPOQ, ACACB, ELOVL6, LPL, VEGFA, TNMD, MMP9, FTO, SCD, FASN, NEGR1, TMEM18, MAF, MTCH2, LEP, C9orf116, IL6, PPARGC1A, SOD2, IRAK3, IPO8, KDM2B, ITIH5, KCNMA1, MEDAG, ADCY3, MC4R, BDNF, SH2B1, SULT1A2, HMGCR, NPC1, IGF1, NOS3, NRF1, KEAP1- reportados como asociados con obesidad. Tabla 5.

La información general de cada uno de los 37 genes evaluados se presenta en el Anexo 2. En la Tabla 5 se muestra el símbolo, nombre y z-score de expresión de cada uno de ellos, de menor expresión (-3) a mayor expresión (+3). El gen con mayor expresión fue el Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (VEGFA) con z-score 2,0769 y el gen de menor expresión fue el Tenomodulin con -1,7748. El gen de la LEP mostró una expresión un poco menor del promedio: -0,3140.

Interacciones proteicas: El gen que presentó mayor número de interacciones proteicas fue el Factor Nuclear Respiratorio (NRF1) con un total de 908 interacciones, seguido por KCNMA1 con 140, Sintasa de Ácidos Grasos (FASN) con 127 y KEAP1 con 97. Figura 2. Estos cuatro genes al tener tantas interacciones, y por lo tanto, estar involucrados en diferentes procesos y vías metabólicas; cualquier cambio en su expresión podría desencadenar un mal funcionamiento y posterior desarrollo de una patología.

En orden descendente y con menor número de interacciones se encontró el gen Receptor Gama Proliferador de Peroxisoma (PPARGC1A), Superóxido Dismutasa 2 (SOD2), eNOS, Metalopeptidasa de Matrix 9 (MMP9), VEGFA, Factor de Crecimiento similar a la Insulina (IGF1) y Lipoproteína Lipasa (LPL). La LEP mostró muy pocas interacciones. Figura 2.

Tabla 5. Genes Asociados con Obesidad.

Gene ID	Símbolo	Nombre	Expresión en adipocito (z-score)
51129	ANGPTL4	Angiopoietin-like 4	0.639
9370	ADIPOQ	Adiponectin, C1Q	- 0.856
32	ACACB	Acetyl-CoA carboxylase beta	- 0.424
79071	ELOVL6	ELOVL fatty acid elongase 6	0.549
4023	LPL	Lipoprotein lipase	- 1.088
7422	VEGFA	Vascular endothelial growth factor A	2.076
64102	TNMD	Tenomodulin	- 1.774
4318	MMP9	Matrix metalloproteinase 9	- 0.614
79068	FTO	Fat mass and obesity associated	1.317
6319	SCD	Stearoyl-CoA desaturase	1.464
2194	FASN	Fatty acid synthase	0.785
257194	NEGR1	Neuronal growth regulator 1	0.588
129787	TMEM18	Transmembrane protein 18	0.713
4094	MAF	Avian musculoapone fibrosarcoma	0.069
23788	MTCH2	Mitochondrial carrier 2	1.446
3952	LEP	Leptin	- 0.314
138162	C9orf116	Chromosome 9 open reading frame	- 0.038
3569	IL6	Interleukin 6	0.589
10891	PPARGC1A	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma, coactivator 1 alpha	- 0.608
6648	SOD2	Superoxide dismutase 2, mitochondrial	0.971
11213	IRAK3	Interleukin-1 receptor-associated kinase 3	0.454
10526	IPO8	Importin 8	0.547
84678	KDM2B	Lysine (K)-specific demethylase 2B	0.043
80760	ITIH5	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain family, 5	0.340
3778	KCNMA1	Potassium channel, calcium activated large conductance subfamily M alpha, 1	0.116
84935	MEDAG	Mesenteric estrogen-dependent adipogenesis	0.204
109	ADCY3	Adenylate cyclase 3	1.235
4160	MC4R	Melanocortin 4 receptor	- 0.972
627	BDNF	Brain-derived neurotrophic factor	- 0.672
25970	SH2B1	SH2B adaptor protein1	- 0.114
6799	SULT1A2	Sulfotransferase family, cytosolic, 1A, phenol-preferring, member 2	- 0.732
3156	HMGCR	3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase	0.802
4864	NPC1	Niemann-Pick disease, type C1	1.461
3479	IGF1	Insulin-like growth factor 1 (somatomedin C)	- 0.642
4846	NOS3	Nitric oxide synthase 3 (endothelial)	- 0.263
4899	NRF1	Nuclear respiratory factor 1	- 0.281
9817	KEAP1	Kelch-like ECH-associated protein 1	0.564

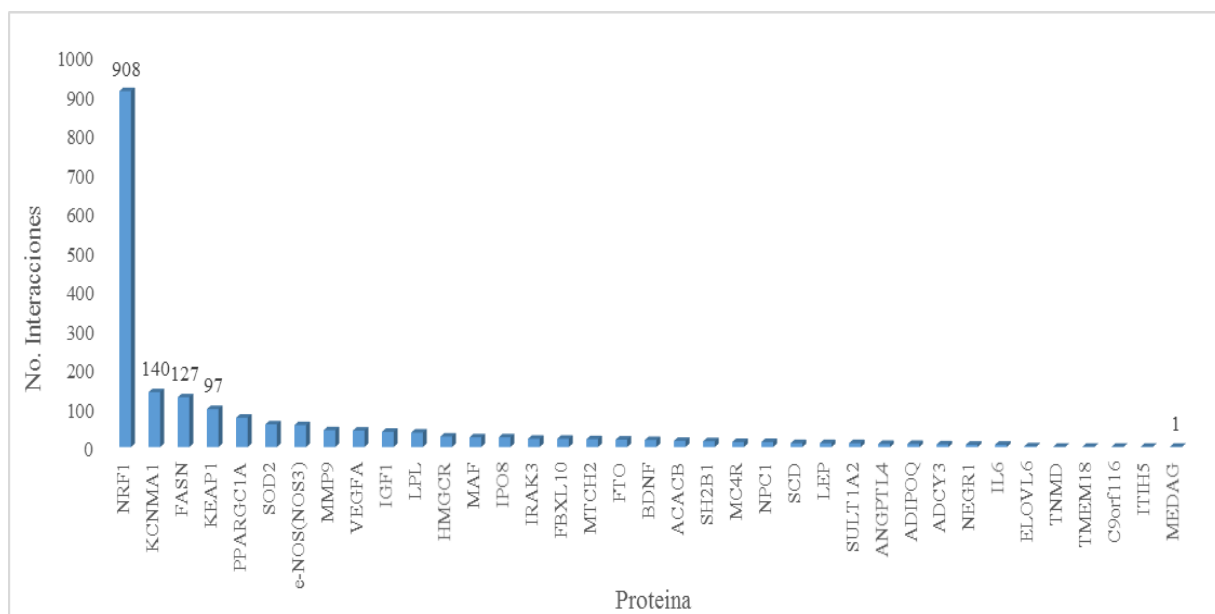


Figura 2. Número de interacciones proteicas encontradas.

El NRF1 es un factor de transcripción que activa la expresión de algunos genes claves en el metabolismo, regulando el crecimiento celular y genes nucleares requeridos para la respiración mitocondrial, transcripción y replicación del ADN mitocondrial. Tiene un papel crítico en la regulación del metabolismo, los modelos experimentales sin este gen son letales. Está implicado en el metabolismo de lípidos, carbohidratos y su sobreexpresión aumenta los niveles de BOH Butirato y Acetyl CoA en hígado que lleva a resistencia a la insulina y diabetes.⁴⁷

En cuando a la proteína KCNMA1, se ha especulado que contribuye a la acumulación excesiva de tejido adiposo en personas obesas. Esta proteína codifica una subunidad del canal de calcio/potasio, el cual está implicado en epilepsia, regulación de la presión sanguínea y riesgo de infarto de miocardio. Además de esto, a nivel celular, la estimulación de canales de KCNMA1 potencia la proliferación de pre-adipocitos humanos *in vitro*. Esto en combinación con estudios recientes en los que se ha mostrado que existe una alta tasa de conversión a adipocitos *in vivo*, puede indicar que KCNMA1 contribuye a la fisiopatología de la obesidad, al aumentar el número de células grasa.⁴⁸

La proteína FASN, es una enzima de gran importancia en la lipogénesis y según un estudio realizado por Berndt y col.⁴⁹ su expresión en tejido adiposo está relacionada con la acumulación de grasa visceral, incremento de la IL-6, LEP y RBP4, sugiriendo un rol central de las rutas lipogénicas en la relación

entre las consecuencias del exceso de energía tomado y el desarrollo de obesidad y DM2.

La proteína que codifica el gen KEAP1 actúa como “amplificador” del factor NRF2, el cual ha sido evidenciado como participe en el desarrollo de la obesidad y del proceso altamente regulado de diferenciación adipocítica a través de su interacción con otros factores de transcripción y receptores implicados en la regulación metabólica.^{50,51}

Red de interacción y expresión: La red mostró dos nodos principales, el mayor con el gen NRF1 en su centro y el segundo con el gen KCMF1 en su centro. (Figura 3) La proteína del gen NRF1, presentó el mayor número de interacciones proteicas y esta muy relacionada con la obesidad, por estar implicada en el metabolismo de lípidos.⁴⁷ A pesar de esto, fue una de las proteínas con menor valor de expresión en la red. Para lograr tener una visión más amplia y entender mejor este nodo, importante en la red, se realizó una ampliación sobre éste. Figura 4.

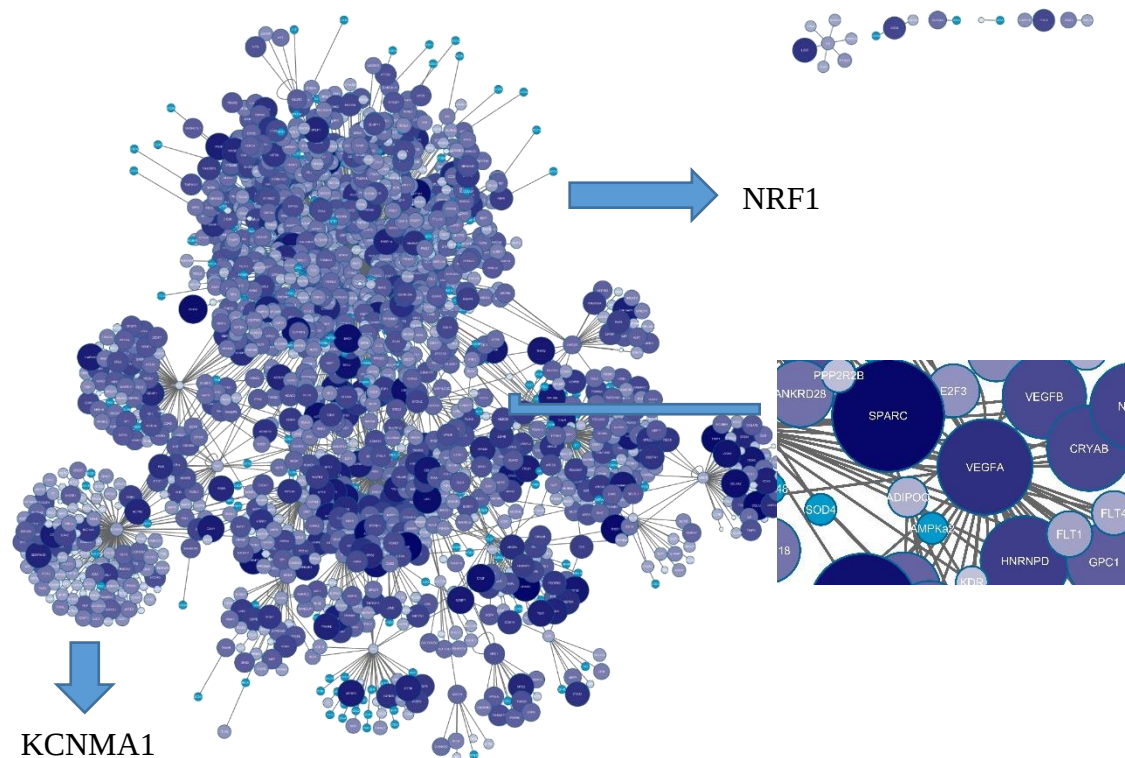


Figura 3. Red de interacción y expresión de Obesidad.

Además, se extrajeron también las interacciones físicas de mayor peso en la sub-red creada para el nodo NRF1, obteniendo como la principal interacción

BCKDHA-BCKDHB, la cual interviene en el ciclo del ácido tri-carboxílico al catalizar la conversión de alfa-ceto ácidos a acetil coenzima A y CO_2 .⁵²

Por otro lado, en la red se destacaron por su alta expresión VEFGA, FTO, NEGR1, MTCH2 y NPC1. La alta expresión del gen FTO ha sido relacionada con la predisposición a diabetes al ejercer un efecto sobre el IMC y regulación del apetito, además de ser identificado como contribuyente a la obesidad severa en niños y adultos.^{53,54} De hecho, en un estudio realizado por Fischer y col. se reporta que niveles bajos de FTO en ratones, conduce, entre otros, a una reducción significativa del tejido adiposo y masa corporal baja.⁵⁵

El gen NEGR1 codifica para una proteína miembro de la super-familia de inmunoglobulinas, es altamente expresado en el hipotálamo, donde parece modular el número de sinapsis en neuronas, lo cual, según Walley y col., lo hace un buen candidato funcional para obesidad, especialmente, si se tiene en cuenta que el hipotálamo es el principal sitio de acción de la LEP.⁵⁶ Además, encontraron NEGR1 expresado en tejido adiposo subcutáneo en humanos, donde parece tener un rol central en la red de genes diferencialmente expresados en personas obesas y control.

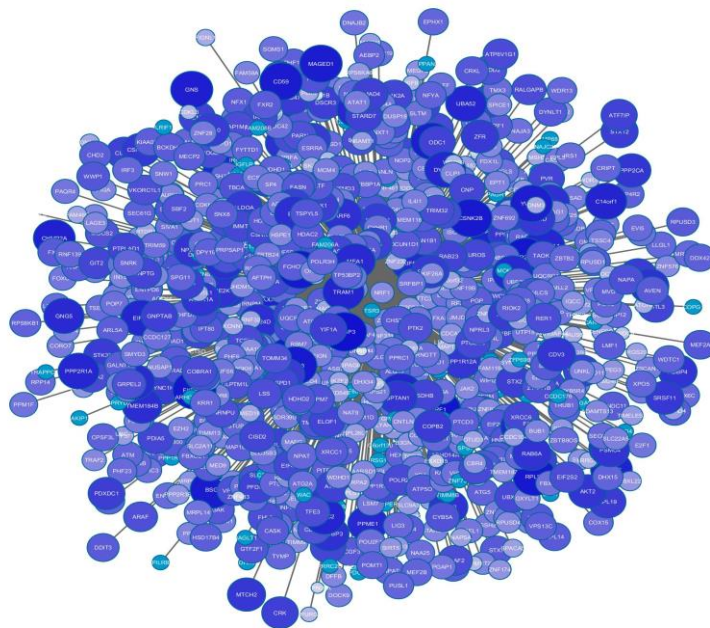


Figura 4. Ampliación del nodo NRF1.

MTCH2 por su parte, es altamente expresado en adipocitos humanos, con niveles aún más altos en mujeres obesas según lo reportado en el estudio de Kulyté y col., en el que también sugieren que el incremento de renovación y la

desregulación en la generación de nuevas células grasa es un mecanismo potencial por el cual MTCH2 podría contribuir a la obesidad.⁵⁷

Por último NPC1, ha sido asociado con obesidad en etapa temprana y adulta, ésta proteína regula el transporte de lípidos derivados de lipoproteínas como lo son el colesterol y ácidos grasos, de endosomas/lisosomas a otros compartimientos celulares; además es responsable del mantenimiento intracelular de la homeóstasis del colesterol. Se ha sugerido que NPC1 puede influenciar parcialmente una susceptibilidad a la obesidad al alterar la función de los adipocitos, sin embargo se requieren más estudios que aclaren su participación en el desarrollo de ésta enfermedad.⁵⁸

Categorías GO: En cuanto a las categorías ontológicas extraídas de la red (Tabla 6), se destacaron procesos biológicos muy relacionados con la obesidad. Entre estos cabe resaltar el proceso metabólico de lipoproteínas, el cuál es esencial para el correcto metabolismo de grasas, colesterol y glúcidos ingeridos. Cualquier irregularidad en este proceso podría, junto con otros factores, conllevar a la mala asimilación y posterior acumulación de éstos en el cuerpo y desarrollo de sobrepeso.⁵⁹

Por otro lado, en el ciclo del ácido tricarboxílico, conocido como embudo del metabolismo, se catabolizan entre otros, ácidos grasos para la correspondiente producción de energía para la célula, y también salen del ciclo algunos intermediarios que se convierten en la base de moléculas como la glucosa, ácidos grasos y aminoácidos no esenciales.⁶⁰ La activación de las MAPK-quinasas y la cascada JNK³⁷ puede darse por el exceso de Especies Reactivas de Oxígeno (ROS), a su vez generados por alta acumulación de lípidos.⁶¹

En personas obesas, se ha encontrado disfunción mitocondrial que puede generar esta excesiva acumulación de lípidos y por consiguiente, contribuir a un daño y mal funcionamiento de las rutas mencionadas. La acumulación de células T ha sido demostrada en células del tejido adiposo en pacientes con obesidad, precediendo incluso a la acumulación de macrófagos, por lo que se ha pensado que pueden ser importantes en la iniciación de la inflamación de tejido adiposo, característica de la obesidad.⁶²

Datos topológicos: Los datos topológicos extraídos de la red (Tabla 7) muestran que el número total de nodos es 1744 y el número promedio de vecinos de cada nodo es de 2.214. El valor de centralización de la red fue de 0.52, un valor alto que indica que la red en su mayoría está centrada en uno de los nodos, en este caso en NRF1.

Tabla 6. Categorías ontológicas extraídas de la red de obesidad con el plugin BinGO de Cytoscape 3.2

GO-ID	Descripción	p-value
43170	Lipoprotein metabolic process	3.73E-29
44260	Protein ubiquitination	4.74E-29
48518	Positive regulation of apoptotic process	6.13E-27
48519	Negative regulation of lipase activity	2.53E-24
44237	Tricarboxylic acid cycle	1.10E-23
48522	Positive regulation of intrinsic apoptotic signaling pathway	6.11E-23
9987	Negative regulation of T-cell proliferation	1.41E-22
48523	Methylation-dependent chromatin silencing	1.72E-22
19222	Negative regulation of JUN kinase activity	2.80E-22
60255	Activation of MAPK activity	1.19E-21
44238	Cholesterol metabolic process	2.09E-21
9893	Positive regulation of JNK cascade	3.96E-21
50789	Regulation of intestinal cholesterol absorption	7.23E-21
51246	Negative regulation of endopeptidase activity	1.25E-20
31325	Positive regulation of fatty acid oxidation	1.34E-20
42221	Cellular response to lipopolysaccharide	1.05E-19
80090	Regulation of lipoprotein metabolic process	1.19E-19
8152	Lipid catabolic process	1.90E-19
9892	Negative regulation of gluconeogenesis	3.08E-19
65007	Cholesterol homeostasis	3.45E-19

Interacciones Genemania: Se encontró que la interacción física que más pesa en la red de gen con gen, asociados a obesidad es la de IL6 y su receptor IL6R (Tabla 8). También se resaltan otras de importancia como la Óxido Nítrico Sintasa 3 (NOS3) y la Proteína que Induce Tráfico de la eNOS (NOSTRIN), LEP y HK3, y VEGFA con algunos de sus receptores.

El tejido adiposo es un órgano complejo que contiene un amplio rango de tipos de células, con diversas funciones como almacenaje de energía, regulación metabólica, funciones neuroendocrinas e inmunes. Contiene varias células de inmunidad adaptativa (linfocitos B y T) o innatas (macrófagos), que son una fuente importante de mediadores inflamatorios pro y antiinflamatorios. La

obesidad es una condición pro-inflamatoria, con adipocitos hipertrofiados y estas células inmunes contribuyendo al aumento de niveles circulante de citoquinas pro-inflamatorias como la IL6, el FNTalfa, la resistina y la LEP. La IL6 es secretada especialmente del tejido adiposo visceral, dos o tres veces más en comparación con el tejido adiposo subcutáneo.⁶³

Tabla 7. Datos topológicos extraídos de la red de obesidad en Cytoscape 3.2

Datos topológicos	Valor
Coeficiente de agrupamiento	0.032
Componentes conectados	42
Diámetro de la Red	8
Radio de la Red	1
Centralización de Red	0.52
Vías más cortas	2740806 (90%)
Longitud característica	3.256
Número de vecinos prom.	2.214
Numero de nodos	1744
Densidad de la Red	0.001
Heterogeneidad de la Red	10.165
Nodos aislados	0
Number of self-loops	12
Multi-edge node pairs	10

Además, durante la obesidad, muchas células inmunes infiltran el tejido adiposo y promueven inflamación crónica de grado bajo, conducido por exceso de nutrientes a largo plazo. El estado inflamatorio elevado de la obesidad parece originarse de estas células, activadas por macrófagos M1, los cuales a su vez producen citoquinas pro-inflamatorias. La señal que podría iniciar el proceso inflamatorio sería la sobrealimentación. De hecho, aunque usualmente el tejido adiposo tiene de 5-10% de macrófagos, el aumento de peso por sobrealimentación causa una infiltración de macrófagos mayor a 60%. Los macrófagos inflamados que se infiltran, liberan TNF-a e IL6, creando la conexión entre obesidad, inflamación y resistencia a la insulina.⁶⁴

Tabla 8. Interacciones Físicas destacadas por la red construida en Genemania.

Gen 1	Gen 2	Peso
IL6R	IL6	2.926982
NTF3	BDNF	2.52476478
HLCS	ACACB	2.43293846
CACNA1H	KCNMA1	2.40482322
APOC2	LPL	2.14586365
KIAA0319	SH2B1	2.03995869
IGFBP5	IGF1	1.79735722
USP36	SOD2	1.6419701
ATRNL1	MC4R	1.64131501
ADIPOR2	ADIPOQ	1.62886935
NTM	NEGR1	1.46760657
NOSTRIN	NOS3	1.46722969
PPRC1	NRF1	1.46337909
KDR	VEGFA	1.46212684
OSBPL5	NPC1	1.43031871
IRAK1	IRAK3	1.426726
LSAMP	NEGR1	1.39947808
LSAMP	NTM	1.39947808
HK3	LEP	1.38236581
LCN2	MMP9	1.3542192
NFE2L2	KEAP1	1.26781537
IGFBP4	IGF1	1.21706232
AGRP	MC4R	1.15143546
MID1IP1	ACACB	1.13255388
NRP1	VEGFA	1.07129862
IGFBP2	IGF1	1.04767159
ADRB2	KCNMA1	1.02350956

El trabajo de Oñate B. y col. mostró que los adipocitos maduros de las tres personas con obesidad mórbida, tenían menos genes de supervivencia, de diferenciación de tejidos, de integridad y de vías metabólicas y por el contrario tenían más genes de inflamación como la IL1beta, IL8, PPARG, CCL2 y OLR1.⁴⁶

Otra de las interacciones físicas destacadas que vale la pena mencionar es la de NOS3 (eNOS) y NOSTRIN. La eNOS se ha encontrado en varios sitios de la

célula como la membrana plasmática, el aparato de Golgi, el retículo endoplásmico, vesículas estructurales y el núcleo. La actividad y localización de la eNOS es regulada por un complejo conformado por la Caveolina-1 y la NOSTRIN en la célula endotelial, que se une a ella y dispara su translocación de la membrana plasmática a estructuras vesiculares. En los individuos obesos se ha reportado que la disponibilidad de óxido nítrico se encuentra reducida en comparación con personas de peso normal, posiblemente por una sobre-expresión de NOSTRIN, atenuando la producción de ON, lo cual lleva al aumento del tono vascular, con aumento de la presión arterial, disfunción endotelial, síntomas muy importantes en la obesidad.⁶⁵

El gen del VEGFA junto con algunos de sus receptores, se presentó también como de peso considerable en la red, esto es importante puesto que se ha demostrado que durante la expansión de grasa en personas obesas, la vascularización del tejido adiposo es insuficiente para mantener normoxia en el tejido, lo que genera una hipoxia local que puede conllevar a una expresión alterada de adipoquinas, reclutamiento de macrófagos pro-inflamatorios y resistencia a insulina.⁶⁶

Otra de las interacciones importantes de la red es la de LEP y HK3. Se ha mostrado la amplia relación que tiene la LEP con la obesidad, los niveles de la hormona son proporcionales a la cantidad de masa de tejido adiposo (obesidad). Normalmente, cuando la masa de tejido adiposo acumulado llega a un límite, la LEP es liberada por el mismo tejido adiposo, enviando una señal al cerebro, para disminuir el apetito y aumentar el gasto de energía. En las personas con obesidad, se promueven múltiples procesos celulares que atenúan la señalización de la LEP, lo que se conoce como la resistencia celular a la LEP, lo cual amplifica la ganancia de peso inducida por factores genéticos y del ambiente.⁶⁷

En el mapa de expresión, se observó algunos genes altamente expresados (de color rojo claro) en los dos grupos, como VEGFA, SOD2, SCD, HPC1, MTCH2 y FTO, pero en el grupo de los obesos (B), están sobre-expresados diferencialmente el gen de la IL6 y el de KCMF1. El gen de la LEP no mostró sobre-expresión en ninguno de los dos grupos (Figura 5).

Análisis de Componentes Principales. El programa SPSS señaló la existencia de dos componentes principales, los cuales explican el mayor porcentaje de varianza total. Estos componentes explicaron el 73,3% del total de la varianza para los obesos y el 65,4% en los controles. Lo cual significa que una matriz de 37 variables fue simplificada en una matriz de dos.

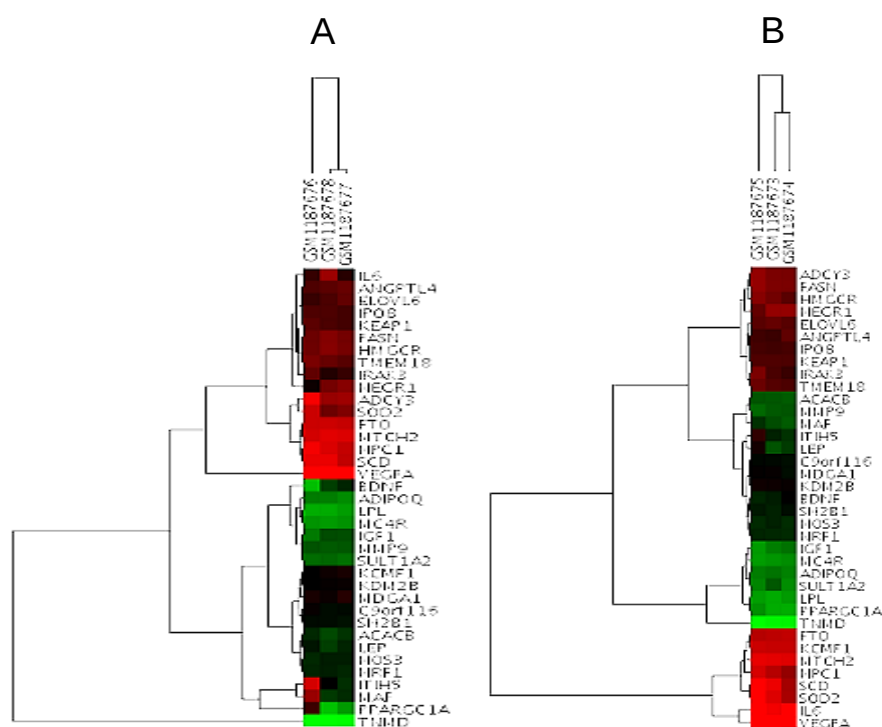


Figure 5. Mapa de Expresión para el grupo control (A) y el grupo de obesos (B).

También se estableció estadísticamente que los genes expresados en los pacientes con obesidad, tienen una co-expresión diferente a las personas del grupo control. Figura 6. En el grupo de obesos, los genes mostraron su correlación más cercana (están más juntos), lo que no ocurrió en el grupo de no obesos.

En el grupo de no obesos, el componente 2 fue el más complejo, incluyendo 21 genes: ANGPTL4, ADIPOQ, ELOVL6, VEGFA, TNMD, FTO, SCD, FASN, NEGR1, MTCH2, IL6, IPO8, KDM2B, KCMF1, BDNF, SH2B1, SULT1A2, HMGCR, IGF1, NOS3, NRF1, mientras el componente 1 incluyó los 16 genes restantes. En ellos se observó el agrupamiento de los genes ADCY3, C9orf116, PPARGC1A, MAF y SOD2, y la asociación formada por los genes: ADIPOQ, SCD, IPO8 y SH2B1. Figura 6.

Mientras en el grupo de obesos, el componente 1 fue el más complejo, incluyendo 21 genes: ADIPOQ, ACACB, ELOVL6, VEGFA, SCD, NEGR1, TMEM18, MAF, MTCH2, C9ORF116, SOD2, IRAK3, KDM2B, ITIH5, MDGA1, SULT1A2, HMGCR, NPC1, NOS3, NRF1, KEAP1, mientras el componente 2 incluyó los 16 genes restantes. En ellos se observaron asociaciones más

cercanas como: VEGFA, MTCH2, NPC1, NRF1 y HMGCR quienes están involucrados en procesos de angiogénesis y el grupo formado por los genes: FASN, KCMF1, ADCY3 y PPARGC1A que están involucrados en la vía de señalización AMPK. Figura 6.

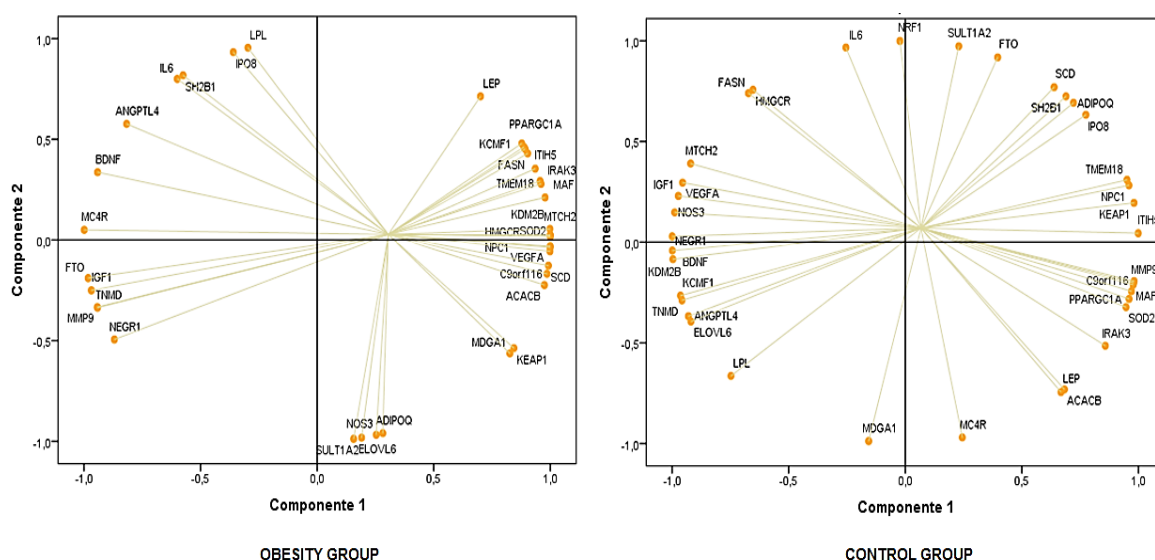


Figure 6. Análisis de Componentes Principales para grupos de obesos y controles.

Los mecanismos de angiogénesis y la vía de señalización AMPK son de gran importancia en el desarrollo de obesidad, debido a que como se ha mencionado previamente, si la masa de tejido adiposo se incrementa, debe incrementarse la angiogénesis para alcanzar una correcta oxigenación tisular. Por el otro lado, se ha identificado a la vía de señalización, como clave en la regulación del balance de energía, a nivel celular y a nivel de todo el cuerpo, por su reconocida asociación con obesidad, diabetes y el síndrome metabólico.⁶⁸ La vía de señalización AMPK en el tejido adiposo puede ser activada por el ejercicio y el ayuno, seguido por la secreción de IL6 por parte del músculo; la LEP y la adiponectina también pueden activar esta vía.⁶⁹

La posición del gen de la LEP en los dos grupos de pacientes fue diferente: en el grupo de obesos, mostró una alta expresión del gen con poca correlación, mientras en el grupo control, mostró baja expresión con una alta correlación con el gen ACACB. Esta asociación entre LEP y ACACB es relevante ya que, se conoce que la LEP estimula la oxidación de ácidos grasos vía fosforilación de AMPK y de la Acetyl-CoA Carboxilasa, pero como se ha comprobado, en casos de obesidad se da una resistencia a los efectos de la LEP. En un estudio conducido por Janovská y col, se mostró que el efecto de la LEP en ACACB

falla en casos de obesidad, lo cual también podría ayudar a explicar un poco el efecto de la resistencia a la LEP.⁷⁰

Paseo Cromosómico: En los 37 genes estudiados, se puede observar que el número de islas CpG en la región de 10Kpb de la zona río arriba es mucho más alta en comparación, no solo con la zona 10Kpb de la zona río abajo, sino también con el resto de zonas. Figura 7. Por otro lado, el número de secuencias Alu y genes fue muy parejo en todas las zonas. Con el fin de analizar mejor la zona que resultó con un gran número de islas CpG, se realizó una ampliación de ésta, la cual se muestra en la Figura 8. En este zoom realizado se destaca que la mayoría de islas se encontraron en la zona promotora de los genes, entre los 0 y 1000 pares de bases río arriba, lo cual está de acuerdo con la regulación epigenética de la transcripción de los genes.^{6,11-19,35,36}

Los cambios en la *impronta* epigenética del genoma fetal son un mecanismo plausible, que explique a nivel molecular la programación de las ECNT. Datos en modelos animales y estudios en humanos, sugieren que muchas de las respuestas adaptativas fetales a factores ambientales son mediadas por modificaciones *epigenéticas* sobre el genoma, especialmente, en el grado de metilación sobre las regiones promotoras de los genes. Convirtiéndose en una importante unión entre el ambiente intrauterino adverso y alteraciones en el metabolismo y en la composición corporal (obesidad) en la vida adulta.^{4,6,11,15-19.}

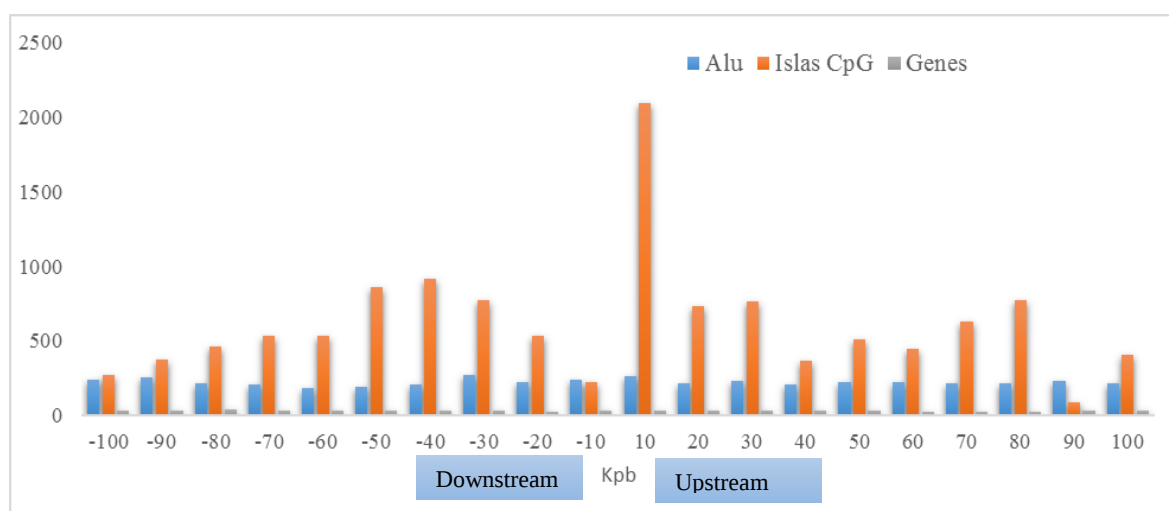


Figura 7. Paseo cromosómico de 100Kbp teniendo en cuenta secuencias repetidas Alu, Islas CpG y genes cada 10Kpb.

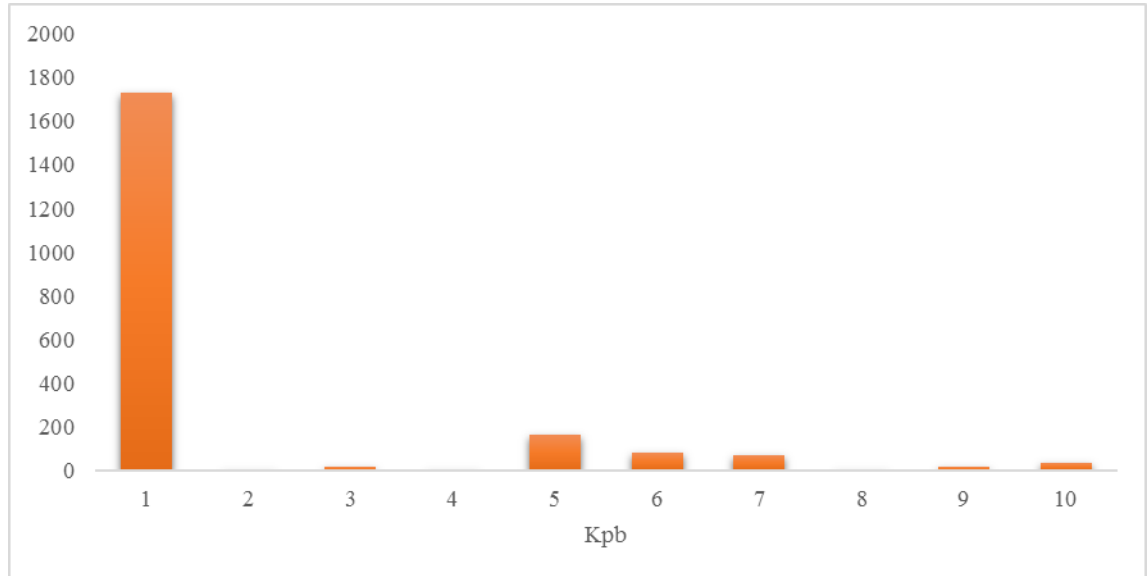


Figura 8. Ampliación de la región 10Kpb rio arriba teniendo en cuenta el número de islas CpG.

En ratas se ha encontrado que la dieta materna puede influenciar el transcriptoma de las crías, alterando la expresión de genes principalmente relacionados con el transporte de iones, el metabolismo de ácidos grasos, la función mitocondrial y la respuesta al Estrés Oxidativo. Los autores proponen que gran parte de esas alteraciones en la expresión genética estén relacionadas con modificaciones epigenéticas.^{71,72}

En modelos murinos e *in vitro* se han encontrado alteraciones en la metilación del ADN bajo condiciones de hipoxia y de desnutrición intrauterina, las cuales se asocian al incremento en la producción de Radicales Libres de Oxígeno. Shahrzad y col, reportaron, en cultivos celulares y de tejidos, una relación inversa entre áreas hipóxicas y la metilación global del ADN.⁷³

Ke y col,⁷⁴ mostraron que la insuficiencia útero placentaria en ratas modifica globalmente el patrón epigenético del ADN y de las histonas. Park y col,⁷⁵ en un modelo de DM2 en ratas, inducida por RCIU, encontraron modificaciones epigenéticas progresivas en histonas y en el ADN de la región promotora del gen *pdx1*. Estas modificaciones epigenéticas produjeron un silenciamiento paulatino del gen *pdx1*, llevando finalmente al desarrollo de esta diabetes en la etapa adulta.

Marchi M, y col, evaluaron en 6 personas obesas, la expresión del gen de leptina (mRNA) en muestras de Fracción Adipocitaria de tejido adiposo blanco (FA), en Fracción Vascular Estromal de tejido diposo blanco (EVF) y en hígado,

encontrando en la primera abundante expresión, en la EVF menos de la mitad encontrada en la AF y no detectable en el hígado.¹⁹

Posteriormente estudiaron el perfil de metilación global y por sitio CpG, de un segmento de 305 pb, de la región promotora proximal del gen, que incluía 31 sitios CpG, encontrando el nivel de metilación más bajo para la AF (8,3%), seguida por la EVF (18,5%) y más alto en el hígado (20,8%).¹⁹

El resultado del perfil de metilación por sitios CpG, mostró más baja densidad de metilación de las citosinas 1 a la 18 (menos de 10%), mientras que en el sector 3' terminal (citosinas 19 a 31) estaba más densamente metilado. Además al comparar el perfil de metilación entre la AF y el hígado, en la región 3' terminal encontraron diferencias estadísticamente significativas en las citosinas 21, 22 y 23/24 ($p < 0,0001$), secuencias de unión para el factor de transcripción C/EBP y flanqueando la caja TATA. En la región central, encontraron diferencias en la citosina 15 ($p < 0,05$), secuencia de reconocimiento para el factor de transcripción Sp1.¹⁹

Lesseur y col. en mujeres embarazadas sanas encontraron diferencias significantes en el promedio de metilación de la región promotora del gen leptina, entre sangre materna, sangre del cordón y en la placenta. La metilación en sangre de cordón fue la más baja (14,1%) seguida por la sangre materna (20,1%) y la placenta (23,7%). Además encontraron que las embarazadas obesas tenían el más bajo (2,95%, $p = 0,01$) porcentaje de metilación de la región promotora de la leptina comparado con las embarazadas con peso normal. Encontraron metilación significativamente más alta en sangre de cordón de los nacidos PEG (14,8%, $p = 0,02$) comparado con los nacidos con peso adecuado y que la metilación del gen leptina en sangre materna correlacionó con la metilación de leptina en sangre de cordón.⁶

Lesseur y col.⁶ lanzan la hipótesis que células de sangre periférica pueden también contribuir a incrementar el nivel sérico de leptina en obesidad y que en ellas pueden ocurrir los mismos cambios metabólicos que ocurren en los adipocitos.

2.4.4. Conclusiones. La variable que más se correlacionó con las otras variables maternas, durante el embarazo, en el postparto y en sus hijos lactantes fue el IMC materno promedio a las $14,5 \pm 2,1$ semanas.

Las mujeres que ingresaron a las 14,5 semanas de gestación con sobrepeso u obesidad (los mayores IMC), permanecieron así a las 32 semanas y a los 21

meses postparto. Las que ingresaron con bajo peso, permanecieron igual durante las tres evaluaciones. No ocurrió así con los niveles de LEP.

Las mujeres que ingresaron a las 14,5 semanas con sobrepeso u obesidad (los mayores IMC), se correlacionaron con mayores IMC y CC en los hijos a los 21 meses de vida y fue una de las variables que mejor predijeron un estado de sobrepeso u obesidad en los niños a los 21 meses de edad (mayores IMC), junto con los niveles plasmáticos de LEP y de PCR a las 14,5 semanas de embarazo.

Durante el embarazo, a los 21 meses postparto y en sus hijos lactantes, se encontró una correlación significativa, entre el IMC y los niveles de LEP, a mayor IMC mayores niveles de LEP y viceversa.

Un 20% de estas maternas, ingresaron al estudio con sobrepeso u obesidad, su IMC y niveles de LEP, aumentaron a las 32 semanas de embarazo, pero a los 21 meses postparto no disminuyeron a los valores iniciales. Una proporción mayor de estas mujeres tenía sobrepeso u obesidad (35,7%). Once mujeres, en vez de disminuir, aumentaron de peso y cinco aumentaron en niveles de LEP.

Las variables que mejor predijeron un estado de sobrepeso u obesidad en las madres a los 21 meses de postparto (mayores IMC y PGC), fueron los niveles plasmáticos de LEP y el PGC a las 14,5 semanas de embarazo y el IMC a las 32 semanas.

La red de expresión e interacción de genes, mostró que el gen del factor de transcripción NRF1, fue el centro del mayor nodo, por tener el mayor número de interacciones proteína-proteína.

El mapa de expresión y el ACP, mostraron que la co-expresión de genes en las tres personas obesas fue diferente a la encontrada en las tres personas no obesas. En las primeras, se encontraron sobre-expresados diferencialmente la IL6 y el gen KCMF1, además la interacción física gen a gen que más peso tuvo en la red, fue entre la IL6 y su receptor.

Se resalta a la IL6, como un potencial biomarcador para el diagnóstico clínico de obesidad, debido a su expresión diferencial en el tejido adiposo de las personas con obesidad y estar asociada con el estado de inflamación crónica presente en la obesidad.

En el paseo cromosómico se encontró que la mayoría de las islas CpG de los 37 genes, se encontraban en sus zonas promotoras, entre los 0 y 1000 pb río arriba, acorde con la regulación epigenética de la expresión de los genes, a través de su metilación en el área del promotor.

Se tienen como datos de referencia propios para otros estudios, el promedio con su DE y la mediana con su RIC, de los niveles de LEP durante el embarazo y a los 21 meses postparto de un grupo de mujeres de la ciudad y de sus hijos lactantes, además circunferencia de cintura en los hijos. Además se espera continuar con el seguimiento de estos binomios madres-hijos.

Referencias Bibliográficas.

1. Fleming NM, Robinson T, et al. Global, regional and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* 2014; 384: 766-781.
2. Locke AE, Kahali B, Berndt S, Justice AE, Pers TH, Day FR, et al. Genetic studies of body mass index yield new insights for obesity biology. *Nature* 2015; 518: 197-206.
3. Stegenga H, Haines A, Jones K, Wilding J. Identification, assessment, and management of overweight and obesity: summary of updated NICE guideline. *BMJ* 2014; 349: g6608.
4. Paracchini V, Pedotti P, Taioli E. Genetics of Leptin and obesity; a HuGE review. *Am J Epidemiol* 2005; 162: 101-114.
5. Chan M. Addresses childhood obesity commission. World Health Organization, Genova, Jan 13, 2015. *Lancet* 2015; 385: 1048-
6. Lesseur C, Armstrong DA, Paquette AG, Koestler DC, Padbury JF, Marsit CJ. Tissue-specific Leptin promoter DNA methylation is associated with maternal and infant perinatal factors. *Mol Cell Endocrinology* 2013;381:160-167.
7. Rosner B, Cook NR, Daniels S, Falkner B. Childhood blood pressure trends and risk factors for high blood pressure. *Hypertension* AHA, Online July, 15 de 2013.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Childhood obesity facts. www.cdc.gov/healthyyouth/obesity/facts.htm 2015.
9. Cunningham SA, Kramer MR, Venkal KM. Incidence of childhood obesity in the United States. *N Eng J Med* 2014; 370: 401-11.
10. Kleinert S, Horton R. Rethinking and reframing obesity. *Lancet* 2015; 385: 2326-2328.
11. Ruchat SM, Hivert MP, Bouchard L. Epigenetic programming of obesity and diabetes by in utero exposure to gestational diabetes mellitus. *Nutr Rev* 2013; 71(suppl 1): 588-94.
12. Cuesta E. Genetics of obesity. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Córdoba* 2008; 65(4): 132-41.
13. Yajnik CS. Transmission of obesity-adiposity and related disorders from the mothers to the baby. *Ann Nutr Metab* 2014; 64(suppl 1): 8-17.
14. Hribal ML, Fiorentino TV, Sesti G. Role of C reactive protein (CRP) in Leptin resistance. *Current Pharmaceutical Design* 2014; 20: 609-615.
15. Bouchard L, Thibault S, Guay SP, Santure M, Monpetit A, St Pierre J, et al. leptin gen epigenetic adaptation to impaired glucose metabolism during pregnancy. *Diabetes Care* 2010; 33: 2436-2441.
16. Bouchard L, Hivert MF, Guay SP, St-Pierre J, Perron P, Brisson D. Placental adiponectin gen DNA methylation levels are associated with mother's blood glucose concentration. *Diabetes* 2012; 61(5): 1272-80.
17. Houde AA, Hivert MF, Bouchard L. Fetal epigenetic programming of adipokinas. *Adipocyte* 2013; 2(1): 41-46.
18. Houde AA, Legaré C, Hould FS, Lebel S, Marceau P, Tchernof A, et al. Cross-tissue comparisons of leptin and adiponectin, DNA methylation profiles. *Adipocyte* 2014; 3(2): 132-140.

19. Marchi M, Lisi S, Curcio M, Barbuti S, Piaggi P, Ceccarini G, et al. Human leptin tissue distribution but not weight loss-dependent change in expression, is associated with methylation of its promoter. *Epigenetics* 2011; 6(10): 1198-1206.
20. Sánchez JC. Perfil fisiológico de la leptina. *Col Médica* 2005; 36: 50-59.
21. Walsh JM, Byane J, Mahony RM, Foley ME, McAuliffe FM. Leptin, fetal growth and insulin resistance in non-diabetic pregnancies. *Early HUM Dev* 2014; 90(6): 217-24.
22. Briffa JF, McAinch AJ, Romano T, Wlodek ME, Hryciw DH. Leptin in pregnancy and development: a contributor to adulthood disease? *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2015; 308(5): E335-50.
23. Castellano D, do Amaral J, dos Santos P, Vieira B, Monteiro F. Body weight gain and serum leptin levels of non-overweight and overweight/obese pregnant women. *Med Sci Monit* 2013; 19: 1043-1049.
24. Encuesta Nacional de la Situación Nutricional en Colombia ENSIN 2010. www.icbf.gov.co/portal/page/portalICBF/Normatividad.
25. Hales CN, Barker DJ. The thrifty phenotype hypothesis. *Type 2 diabetes. British Med Bull* 2001; 60: 5-20.
26. Ministry of Health, 2014. Guidance for healthy weight gain in pregnancy. Wellington, New Zealand. www.health.govt.nz/your-health/healthy-living/pregnancy
27. Zhao YN, Li Q, Li YC. Effects of body mass index and body fat porcentaje on gestational complications and outcomes. *J Obstet Gynaecol Res* 2014; 40: 705-10.
28. Uebel K, Pusch K, Gedrich K, Schneider K, Hauner H, Bader B. Effect of maternal obesity with and without gestational diabetes on offspring subcutaneous and preperitoneal adipose tissue development from birth up to year-1. *BMC Pregnancy & Childbirth*. 2014; 14: 138-151.
29. Josefson J, Zeiss D, Rademaker A, Metzger B. Maternal leptin predicts adiposity of the neonate. *Horm Res Paediatr* 2014; 81(1): 13-19.
30. Echeverry I, Ramírez-Vélez R, Ortega JG, Mosquera M, Mateus JC, Aguilar AC. Efecto potencial del ejercicio físico y del consumo de micronutrientes durante la gestación en factores maternos y placentarios asociados con enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) del adulto. *Col Médica* 2009; 40(4): 448-59.
31. Simmons RA, Templeton LJ, Gertz SJ. Intrauterine growth retardation leads to the development of type 2 diabetes in the rat. *Diabetes* 2001; 50: 2279-86.
32. Garofano A, Czernichow P, Breant B. Effect of aging on beta-cell mass and function in rats malnourished during the perinatal period. *Diabetologia* 1999; 42:711-18.
33. Snoeck A, Remacle C, Reusens B, Hoet JJ. Effect of a low protein diet during pregnancy on the fetal rat endocrine pancreas. *Biology of the neonate* 1990; 57: 107-18.
34. Ravelli AC, van Der Meulen JH, Osmond C, Barker DJ, Bleker OP. Obesity at the age 50, in men and women exposed to famine prenatally. *Am J of Clinical Nutrition* 1999; 70: 811-16.

35. Heijmans BT, Tobi EW, Stein AD, Putter H, Blauw GJ, Susser ES, et al. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. *Proc Natl Acad Sci* 2008; 105(449): 17046-9.
36. Tobi EW, Lumey LH, Talens RP, Kremer D, Putter H, Stein AD, et al. DNA methylation differences after exposure to prenatal famine are common and timing- and sex-specific. *Hum Mol Genet* 2009; 18(21): 4046-53.
37. Fruhbeek G. Signalling pathways activated by leptin. *Biochem J* 2006; 393(pt1): 7-20.
38. Zhang F, Beals JM, Briggs SL, Clawson DK, Wery JP, Scheoitz RW. Crystal structure of the obese protein leptin E100. *Nature* 1997; 387: 206-209.
39. Aye I, Lager S, Ramirez V, Gaccioli F, Dudley D, Jansson T, Powell T. Increasing maternal body mass index is associated with systemic inflammation in the mother and the activation of distinct placental inflammatory pathways. *Biol. Reprod* 2014; 90(6); 129.
40. Pisabarro R, Irrazábal E, Recalde A, Barrios E, Arocena A, Aguirre B, et al. Leptina: una hormona secretada por el tejido adiposo. *Rev Med Uruguay* 1999; 15: 43-48.
41. Caro JF, et al. Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. *Lancet* 1996; 348: 159-61.
42. Catov JM, Patrick TE, Powers RW, Ness RB, Harger H, Roberts JM. Maternal leptin across pregnancy in women with small-for gestational age infants. *Am J Obstet Gynecol* 2007; 196: 558e1-e8.
43. Ramírez-Vélez R, Romero M, Echeverri I, Ortega JG, Mosquera M, Salazar B, Aguilar de Plata C, et al. A factorial randomized controlled trial to evaluate the effect of micronutrients supplementation and regular aerobic exercise on maternal endothelium-dependent vasodilatation and oxidative stress of the newborn. *Trials*. 2011; 28:60.
44. Lagos R, Ossa X, Bustos L, Orellana J. Índices antropométricos para la evaluación de las embarazadas y el recién nacido: Cálculo mediante tablas bidimensionales. *Rev Chil Obstet Ginecol* 2011; 76(1): 26-31.
45. Vargas ME, Souki A, Ruíz G, García D, Mengual E, González CC. Waist circumference percentiles in children and adolescents from Maracaibo, Venezuela. *An Venez Nutr* 2011; 24: 13-20.
46. Oñate B, Vilahur G, Camino S, Díez A, Ballesta C, Ybarra J, et al. Stem cells isolated from adipose tissue of obese patients show changes in their transcriptomic profile that indicate loss in stemcellness and increased commitment to an adipocyte-like phenotype. *BMC Genomics*, 2013; 14(625): 1-12.
47. Hirotsu Y, Higashi C, Fukutomi T, Katsuoka F, Tsujita T, Yagishita Y, et al. Transcription factor NF-E2-related factor 1 impairs glucose metabolism in mice. *Genes to Cells*, 2014; 19: 650-665.
48. Jiao H, Arner P, Hoffstedt J, Brodin D, Dubern B, Czernichow S, et al. Genome wide association study identifies KCNMA1 contributing to human obesity. *BMC Medical Genomics*, 2011; 4(51): 1-10.
49. Berndt J, Kovacs P, Rushke K, Klötting N, Fasshauer M, Schon M, et al. Fatty acid synthase gene expression in human adipose tissue: association with obesity and type 2 diabetes. *Diabetologia*, 2007; 50(7): 1472-1480.

50. Xu J, Donepudi A, Moscovitz J, Slitt A. Keap1-knockdown decreases fasting-induced fatty liver via altered lipid metabolism and decreased fatty acid mobilization from adipose tissue. *PLoS One*, 2013; 8(11): 1-16.
51. Chartoumpekis D, Kensler T. New player on an old field; the keap1/Nrf2 pathway as a target for treatment of type 2 diabetes and metabolic syndrome. *Current Diabetes Reviews*, 2013; 6: 137-145.
52. Mariño G, Pietrocola F, Eisenberg T, Kong Y, Malik S, Andryushkova A, et al. Regulation of autophagy by cytosolic acetyl-coenzyme A. *Molecular Cell*, 2014; 53(5): 710-725.
53. Grunnet L, Nilsson E, Ling C, Hansen T, Pedersen O, Groop L, et al. Regulation and function of FTO mRNA expression in human skeletal muscle and subcutaneous adipose tissue. *Diabetes*, 2009; 58(10): 2402-2408.
54. Klöting N, Schleinitz D, Ruschke K, Berndt J, Fasshauer M, Tönjes A, et al. Inverse relationship between obesity and FTO gene expression in visceral adipose tissue in humans. *Diabetologia*, 2008; 51(4): 641-647.
55. Fischer J, Kock L, Emmerling C, Vierkotten J, Peters T, Brüning J, Rüther U. Inactivation of the FTO gene protects from obesity. *Nature*, 2009; 458: 894-898.
56. Walley A, Jacobson P, Falchi M, Bottolo L, Andersson J, Petretto E, et al. Differential co-expression analysis of obesity-associated networks in human subcutaneous adipose tissue. *International Journal of Obesity*, 2012; 36(1): 137-147.
57. Kulyté A, Rydén M, Mejhert N, Dungner E, Sjölin E, Arner P, Dahlman I. MTCH2 in human white adipose tissue and obesity. *J Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2011; 96(10): E1661-E1665.
58. Bambace C, Dahlman I, Arner P, Kulyté A. NPC1 in human white adipose tissue and obesity. *BMC Endocrine Disorders*, 2013; 13(5): 1-5.
59. Hegele R. Plasma lipoproteins: genetic influences and clinical implications. *Nature Review Genetics*, 2009; 10(2): 109-121.
60. Owen O, Kalhan S, Hanson R. The key role of Anaplerosis and Cataplerosis for citric acid cycle function. *J of Biological Chemistry*, 2002; 277: 30409-30412.
61. Qatanani M, Lazar M. Mechanisms of obesity-associated insulin resistance: many choices on the menu. *Genes & Development*, 2007; 21: 1443-1455.
62. Van der Weerd K, Dik W, Schrijver B, Schweitzer D, Langerak A, Drexhage H, et al. Morbidly obese human subjects have increased peripheral blood CD4+ T cells with skewing toward a Treg-and Th2-Dominated phenotype", *Diabetes*, 2012; 61(2): 401-408.
63. Makki K, Froguel P, Wolowczuk I. Adipose tissue in obesity-related inflammation and insulin resistance: cells, cytokines and chemokines. *ISRN inflammation*. www.hindawi.com/journals/isrn/2013/139239.
64. El-Kadre L, Tinoco A. Interleukin-6 and obesity: the crosstalk between intestine, pancreas and liver. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 2013; 16(5): 564-568.
65. Bressler J, Pankow J, Coresh J, Boerwinkle E. Interaction between the NOS3 gene and Obesity as a determinant of risk of type 2 Diabetes: The Atherosclerosis risk in communities study. *PLoS One*, 2013; 8(11): e79466.

66. Elias I, Franckhauser S, Ferré T, Vilà L, Tafuro S, Muñoz S, et al. Adipose tissue overexpression of vascular endothelial growth factor protects against diet-induced obesity and insulin resistance. *Diabetes*, 2012; 61(7): 1801-1813.
67. Myers M, Leibel R, Seeley R, Schwartz M. Obesity and leptin resistance: Distinguishing cause from effect. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 2010; 21(11): 643-651.
68. Hardie D. AMPK: a key regulator of energy balance in the single cell and the whole organism. *International Journal of Obesity*, 2008; 32: s7-s12.
69. Daval M, Foulfelle F, Ferré P. Functions of AMP-activated protein kinase in adipose tissue. *The Journal of Physiology*, 2006; 574(1): 55-62.
70. Janovská A, Hatzinikolas G, Straiakopoulos V, McInerney J, Mano M, Wittert G. AMPK and ACC phosphorylation: effect of leptin, muscle fibre type and obesity. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 2008; 284: 1-10.
71. Lillycrop KA, Rodford J, Garratt ES, Slater-Jefferies JL, Godfrey KM, Gluckman PD, et al. Maternal dietary exposure during pregnancy induces specific changes in the hepatic transcriptome of the adult offspring. *J DOHaD* 2009; S186.
72. Morris TJ, Vickers M, Gluckman P, Gilmour S, Affara N. Transcriptional profiling of rats subjected to gestational undernourishment: implications for the developmental variations in metabolic traits. *PLoS One* 2009; 29;4(9): e7271.
73. Shahrzad S, Bertrand K, Minhas K, Coomber BL. Induction of DNA hypomethylation by tumor hypoxia. *Epigenetics* 2007; 2(2): 119-25.
74. Ke X, Lei Q, James SJ, Kelleher SL, Melnyk S, Jernigan S, et al. Uteroplacental insufficiency affects epigenetic determinants of chromatin structure in brains of neonatal and juvenile IUGR rats. *Physiol Genomics* 2006; 13;25(1): 16-28.
75. Park JH, Stoffers DA, Nicholls RD, Simmons RA. Development of type 2 diabetes following intrauterine growth retardation in rats is associated with progressive epigenetic silencing of Pdx1. *J Clin Invest* 2008; 118(6): 2316-24.

Anexo 1.



Comité Institucional de Revisión de Ética Humana
Facultad de Salud

ACTA DE APROBACIÓN N° 08-012

Proyecto: EFECTO DE LA COMPLEMENTACION CON MICRONUTRIENTES ANTIOXIDANTES Y EJERCICIO FÍSICO, DURANTE LA GESTACION, SOBRE LA REGULACION EPIGENÉTICA DE GENES RELACIONADOS CON ESTRÉS OXIDATIVO EN EL NIÑO MENOR DE 2 AÑOS DE EDAD

Sometido por: MIRYAM ROMERO

Código Interno: 062-012 **Fecha en que fue sometido:** 27 / 03 / 2012

El Consejo de la Facultad de Salud de la Universidad del Valle, ha establecido el Comité Institucional de Revisión de Ética Humana (CIREH), el cual está regido por la Resolución 008430 del 4 de octubre de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud; los principios de la Asamblea Médica Mundial expuestos en su Declaración de Helsinki de 1964, última revisión en 2002; y el Código de Regulaciones Federales, título 45, parte 46, para la protección de sujetos humanos, del Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos 2000.

Este Comité certifica que:

- Sus miembros revisaron los siguientes documentos del presente proyecto:

☒ Resumen del proyecto	☒ Protocolo de investigación
☒ Formato de consentimiento informado	☒ Instrumento de recolección de datos
☐ Folleto del investigador (si aplica)	☒ Cartas de las instituciones participantes
☐ Resultados de evaluación por otros comités (si aplica)	
- El presente proyecto fue evaluado y aprobado por el Comité:
- Según las categorías de riesgo establecidas en el artículo 11 de la Resolución N° 008430 de 1993 del Ministerio de Salud, el presente estudio tiene la siguiente **Clasificación de Riesgo:**

☐ SIN RIESGO	☒ RIESGO MÍNIMO	☐ RIESGO MAYOR DEL MÍNIMO
-------------------------------------	---	--
- Que las medidas que están siendo tomadas para proteger a los sujetos humanos son adecuadas.
- La forma de obtener el consentimiento informado de los participantes en el estudio es adecuada.
- Este proyecto será revisado nuevamente en la próxima reunión plenaria del Comité, sin embargo, el Comité puede ser convocado a solicitud de algún miembro del Comité o de las directivas institucionales para revisar cualquier asunto relacionado con los derechos y el bienestar de los sujetos involucrados en este estudio.
- Informará inmediatamente a las directivas institucionales:
 - Todo desacato de los investigadores a las solicitudes del Comité.
 - Cualquier suspensión o terminación de la aprobación por parte del Comité.
- Informará inmediatamente a las directivas institucionales toda información que reciba acerca de:
 - Lesiones a sujetos humanos.

Calle 4B 36, 40 edificio Decanato Teléfono: 5185577 email: edic@salud.univalle.edu.co

Comité Institucional de Revisión de Ética Humana
Facultad de Salud



- Problemas imprevistos que involucren riesgos para los sujetos u otras personas.
- b. Cualquier cambio o modificación a este proyecto que haya sido revisado y aprobado por el Comité.
 9. El presente proyecto ha sido aprobado por un periodo de 1 año a partir de la fecha de aprobación. Los proyectos de duración mayor a un año, deberán ser sometidos nuevamente con todos los documentos para revisión actualizados.
 10. El investigador principal deberá informar al Comité:
 - a. Cualquier cambio que se proponga introducir en este proyecto. Estos cambios no podrán iniciarse sin la revisión y aprobación del Comité excepto cuando sean necesarios para eliminar peligros inminentes para los sujetos.
 - b. Cualquier problema imprevisto que involucre riesgos para los sujetos u otros.
 - c. Cualquier evento adverso serio dentro de las primeras 24 horas de ocurrido, al secretario(a) y al presidente (Anexo I).
 - d. Cualquier conocimiento nuevo respecto al estudio, que pueda afectar la tasa riesgo/beneficio para los sujetos participantes.
 - e. cualquier decisión tomada por otros comités de ética.
 - f. La terminación prematura o suspensión del proyecto explicando la razón para esto.
 - g. El investigador principal deberá presentar un informe al final del año de aprobación. Los proyectos de duración mayor a un año, deberán ser sometidos nuevamente con todos los documentos para revisión actualizados.

Firma: _____

Nombre: _____

Capacidad representativa: _____

ROBERTO CUENCA F.

PRESIDENTE (E)

Fecha: 16 05 2012

Teléfono: 5185677

CERTIFICACIÓN DE LA FACULTAD DE SALUD DE LA UNIVERSIDAD DEL VALLE

Por medio de la presente, certifico que la Facultad de Salud de la Universidad del Valle aprueba el proyecto arriba mencionado y respeta los principios, políticas y procedimientos de la Declaración de Helsinki de la Asamblea Médica Mundial, de la Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud y de la reglamentación vigente en investigación de la Universidad del Valle.

Firma: _____

Nombre: _____

Capacidad representativa: _____

MAURICIO PALACIOS

VICEDECANO (E) DE LA FACULTAD DE
SALUD

Fecha: 16 05 2012

Teléfono: 5185680

Anexo 2.

Tabla de Datos generales y descriptivos de genes evaluados.

Gen	Cromosoma	Locus	Exones	Tamaño (pb)	Tamaño ARNm (pb)	Índice de complejidad	Total genes cromosoma	Total repeticiones cromosoma
ANGPTL4	19	19p13.2	7	10,247	1967	0.1919	2188	112052
ADIPOQ	3	3q27.3	3	15,790	4578	0.2899	2203	296159
ACACB	12	12q24.11	52	128,829	9260	0.0718	1950	212353
ELOVL6	4	4q25	5	149,543	3189	0.0213	1702	270315
LPL	8	8p21.3	10	28,189	3747	0.1329	1534	214180
VEGFA	6	6p21.1	8	16,278	3677	0.2258	2302	244480
TNMD	X	Xq22.1	7	15,093	1360	0.0901	1805	216358
MMP9	20	20q13.12	13	7,654	2387	0.3118	1014	107904
FTO	16	16q12.2	9	410,505	4313	0.0105	1535	147957
SCD	10	10q24.31	6	17,817	5473	0.3071	1607	202398
FASN	17	17q25.3	43	19,893	8481	0.4263	2010	142217
NEGR1	1	1q31.1	7	879,781	5669	0.0064	3958	368881
TMEM18	2	2p25.3	5	9,467	2138	0.2258	2787	352088
MAF	16	16q23.2	2	6,878	2656	0.3861	1535	147957
MTCH2	11	11p11.2	13	25,349	2628	0.1036	2364	203738
LEP	7	7q32.1	3	16,352	3444	0.2106	2146	237344
C9orf116	9	9q34.3	3	4,736	731	0.1543	1742	188192
IL6	7	7q15.3	5	4,856	1201	0.2473	2146	237344
PPARGC1A	4	4p15.2	13	98,057	6318	0.0644	1702	270315
SOD2	6	6q25.3	6	14,205	1035	0.0728	2302	244480
IRAK3	12	12q14.3	12	65,417	8351	0.1276	1950	212353
IPO8	12	12p11.21	25	67,015	5365	0.0800	1950	212353
KDM2B	12	12q24.31	23	152,021	5318	0.0349	1950	212353
ITIH5	10	10p14	15	107,730	6765	0.0627	1607	202398
KCNMA1	10	10q22.3	28	752,943	6294	0.0083	1607	202398
MEDAG	13	13q12.3	5	19,398	2394	0.1234	993	136611
ADCY3	2	2p23.3	21	100,017	4410	0.0440	2787	352088
MC4R	18	18q21.32	1	1,438	1438	1.0000	657	107519
BDNF	11	11p14.1	3	46,159	4057	0.0878	2364	203738
SH2B1	16	16p11.2	9	10,457	2946	0.2817	1535	147957
SULT1A2	16	16p11.2	8	5,128	1075	0.2096	1535	147957
HMGCR	5	5q13.3	20	24,934	4589	0.1840	1892	260606
NPC1	18	18q11.2	25	55,119	4827	0.0875	657	107519
IGF1	12	12q23.2	4	62,925	949	0.0150	1950	212353
NOS3	7	7q36.1	27	23,544	4345	0.1845	2146	237344
NRF1	7	7q32.2	11	145,368	3540	0.0243	2146	237344
KEAP1	19	19p13.2	6	17,259	2606	0.1509	2188	112052

