



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUERRERO**

---

**UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS  
UNIDAD ACADÉMICA DE MEDICINA  
*MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS***

**POLIMORFISMOS A19G EN EL GEN DE LEPTINA Y A668G EN SU  
RECEPTOR Y SU RELACIÓN CON LAS CONCENTRACIONES DE  
LEPTINA SÉRICA Y LA HIPERFAGIA EN NIÑOS CON OBESIDAD**

**T E S I S**

**PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS**

**P R E S E N T A**

**Q.B.P. LUZ ELENA RAMOS ARELLANO**

**DIRECTORA DE TESIS: DRA. ISELA PARRA ROJAS**

**CODIRECTOR DE TESIS: DR. JOSÉ FRANCISCO MUÑOZ VALLE**

**CHILPANCINGO, GRO., SEPTIEMBRE DE 2009.**




**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUERRERO**  
**UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS**  
**UNIDAD ACADÉMICA DE MEDICINA**  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS**

**APROBACIÓN DE TESIS**

En la ciudad de Chilpancingo, Guerrero, siendo los 10 días del mes de julio de dos mil nueve, se reunieron los miembros del Comité Tutorial designado por la Academia de Posgrado de la Maestría en Ciencias Biomédicas, para examinar la tesis titulada "Polimorfismos A19G en el gen de la leptina y A668G en su receptor y su relación con las concentraciones de leptina sérica y la hiperfagia en niños con obesidad", presentada por la alumna Luz Elena Ramos Arellano, para obtener el Grado de Maestría en Ciencias Biomédicas. Después del análisis correspondiente, los miembros del comité manifiestan su aprobación de la tesis, autorizan la impresión final de la misma y aceptan que, cuando se satisfagan los requisitos señalados en el Reglamento General de Estudios de Posgrado e Investigación Vigente, se proceda a la presentación del examen de grado.

El Comité Tutorial

  
Dra. Isela Parra Rojas  
Dirección de tesis

  
Dr. José Francisco Muñoz Valle  
Codirección de tesis

  
M en C Eugenia Flores Alfaro

  
Dra. Emma Rosalba Leyva Salgado

  
Dr. Eduardo Castañeda Saucedo



  
Vo. Bo

Dra. Berenice Illades Aguiar  
Coordinadora de la Maestría en Ciencias  
Biomédicas



  
Vo. Bo

Dr. Alfonso Bernabe Carreño  
Director de la Unidad Académica de Ciencias  
Químico Biológicas

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Enfermedades Crónicas Degenerativas de la Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero, con beca de CONACYT para estudios de maestría.

Bajo la dirección de: **Dra. Isela Parra Rojas.**

Asesorado por: **M. en C. Eugenia Flores Alfaro, Dra. Emma Rosalba Leyva Salgado, Dr. Eduardo Castañeda Saucedo, Dr. José Francisco Muñoz Valle.**

## *AGRADECIMIENTOS:*

*A DIOS por guiar mis pasos y por todo lo que me has dado  
señor, gracias*

### **A mis padres**

**Zully y Bardo:** Por todo su apoyo y amor incondicional que me han brindado a lo largo de mi vida profesional, siendo este un logro más que comparto con ustedes ya que también es suyo, les reitero que los amo con todo mi corazón. Y sobre todo dedico este triunfo a mi padre que a pesar de ya no estar con nosotros físicamente, su recuerdo siempre será mi fortaleza en momentos de debilidad, y espero que desde donde esté se sienta muy orgulloso de mí, como yo lo estaré de él a lo largo de mi vida. Gracias y que Dios los bendiga

### **A mis hermanos**

**Susi, Maga, Gadi, Deivi, Tavi :** Por ser un gran apoyo para mí, y por brindarme el mejor cariño de hermanos desde mi niñez, les reitero que los quiero mucho, y que de igual manera siempre contarán con mi apoyo. Gracias hermanitos

### **A mi gran amor**

**Abel:** Por el amor y apoyo que han sido muy importantes para seguir adelante en momentos de desesperación, gracias por darme las palabras para continuar hasta terminar, reitero que te amo y que espero que Dios nos permita cumplir nuestros sueños.

### **A mis compañeros**

**Ame, Mir, Ady, Luilli, Lucio, Yaz, Jorge, Alin, Jaz, Ari, Kim, Migue, Nancy, Julio, y Daniel:** Por su amistad brindada, les reitero que siempre tendré los mejores recuerdos de ustedes, gracias por su compañerismo durante estos dos años en donde compartimos muchos momentos inolvidables, sobre todo en los seminarios. Los quiero mucho

### **A mis amigos**

**Oli, Ely, Trini, Ramón, Clau, Julio, Esaú, Angeles, Jesus:** Por sus palabras de aliento y buenos deseos hacia mí, que siempre han sido de gran apoyo, les reitero que los quiero mucho, y les agradezco su amistad. Que Dios los bendiga

## *También agradezco*

### **A la Dra. Isela Parra Rojas**

Gracias Dra. Por su apoyo y confianza para la realización de este trabajo, por su disponibilidad de tiempo, y amistad brindada. Le reitero mi agradecimiento, ya que en gran parte de lo que he aprendido durante estos dos años se lo debo a usted. Le deseo lo mejor de esta vida, siempre contará con mi amistad y admiración no solo como investigadora, sino también como ser humano, siendo un gran ejemplo para todos. Que Dios la bendiga

**A la Q.B.P. Aralia Berenice Salgado Bernabé**, por todo su apoyo durante mi estancia en el laboratorio y que sin su ayuda hubiera sido mucho más difícil, reitero que siempre tendrás mi amistad, y apoyo en cualquier momento que lo necesites, gracias.

**A la M. en C. Paola Guzmán Guzmán**. Por su apoyo en el análisis estadístico, y durante mi estancia en la Cd. de Guadalajara, y también te reitero que cuentas con mi apoyo y amistad cuando lo necesites, gracias.

### **A los chicos del laboratorio**

Fabián, Deysi, Diana, Ulises, a mi hermano adoptivo Adrián, Ely, Yuz, Liz, a mi sobrina Rocio, Azu, y a todos los chicos que participaron en la campaña de obesidad infantil. Gracias por su apoyo incondicional, les reitero que tienen mi amistad y apoyo cuando lo necesiten.

### **A los integrantes de mi comité tutorial**

M. en C. Eugenia Flores Alfaro  
Dra. Emma Rosalba Leyva Salgado  
Dr. Eduardo Castañeda Saucedo  
Dr. José Francisco Muñoz Valle

Por sus valiosas observaciones y sugerencias, en especial al **Dr. José Francisco Muñoz** por abrirme las puertas de su laboratorio en la Cd. De Guadalajara, Jalisco, para realizar una de las partes más importantes del trabajo, y lograr concluirlo satisfactoriamente, también, por su gran disponibilidad. Le reitero mi admiración como investigador y como ser humano, siendo un gran orgullo para nuestro estado de Guerrero. Gracias. Y a la **M. en C. Eugenia Flores Alfaro**, por su gran aportación en el análisis estadístico, y en la redacción de los resultados. Gracias

# ÍNDICE

	<b>Página</b>
Resumen	1
Abstract	2
Introducción	3
Material y métodos	7
Resultados	11
Discusión	20
Conclusiones	25
Referencias	26

## ÍNDICE DE CUADROS

	<b>Página</b>
1. Características sociodemográficas y clínicas de los grupos estudiados.	12
2. Estilo de vida de los niños con y sin obesidad.	13
3. Mediciones clínicas, hábitos alimenticios y polimorfismos en el total de niños estudiados estratificados por las concentraciones de leptina.	14
4. Correlación de las concentraciones de leptina y algunas variables clínicas y somatométricas.	15
5. Asociación de los hábitos alimenticios, la obesidad e hipertensión arterial con niveles altos de leptina.	16
6. Frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos A668G en el gen del receptor de leptina y A19G en el gen de leptina en los grupos estudiados.	17
7. Asociación de los genotipos 668AG+GG con los niveles de leptina, hábitos alimenticios y la obesidad.	18
8. Asociación de los genotipos 19AG+GG con los niveles de leptina, hábitos alimenticios y obesidad.	19

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>
1. Identificación del polimorfismo A668G en el gen del receptor de leptina.	9
2. Identificación del polimorfismo A19G en el gen de leptina.	10
3. Correlaciones de leptina sérica y algunas variables somatométricas.	15



## RESUMEN

La leptina es una hormona anorexigénica que controla el consumo de alimento y la homeostasis de energía, que al unirse a sus receptores en el hipotálamo señala y genera una sensación de saciedad, de tal forma que regula el apetito y el peso en humanos. La presencia de polimorfismos tanto en el gen de leptina, como en el receptor de leptina se ha relacionado con las concentraciones séricas de leptina y con la obesidad. **Objetivo.** Evaluar la asociación de los polimorfismos A19G en el gen de leptina y A668G en su receptor con las concentraciones de leptina sérica e hiperfagia en niños guerrerenses con y sin obesidad. **Metodología.** Se incluyeron en el estudio 234 niños de 6 a 13 años de edad, con consentimiento informado de sus padres o tutores. Se realizaron mediciones somatométricas en todos los niños, y la presión arterial se determinó con un esfigmomanómetro aneroide. Para clasificar a los niños con o sin obesidad, se emplearon los criterios de la OMS. Los niveles de leptina sérica se midieron por ensayo inmunoenzimático ligado a enzima (ELISA), y la genotipificación de los polimorfismos se realizó por PCR-RFLP. **Resultados.** Las frecuencias genotípicas en el total de niños estudiados para ambos polimorfismos fueron: A668G, AA (48%), AG (48%), y GG (4%), y para el A19G el genotipo más frecuente fue el AA (54%), seguido del AG (43%) y GG (3%). Las concentraciones de leptina fueron más altas en los niños con obesidad en comparación con los de peso normal, y por género las niñas presentaron niveles significativamente más elevados que los niños. También se encontró una fuerte asociación entre la hiperleptinemia (leptina sérica >9 ng/mL) y la obesidad. Los genotipos 668AG+GG del gen *lepr* se asociaron con el consumo abundante de alimento (OR= 6.6, IC95% 1.60 a 26.70, p= 0.009) y la repetición de comida (OR= 2.8, IC95% 1.42 a 5.34, p= 0.003). No se observó relación del polimorfismo A19G con la concentración de leptina sérica, ni con la obesidad y los hábitos alimenticios. **Conclusiones.** En este trabajo, se encontró que los niños con obesidad presentan hiperleptinemia. Ninguno de los polimorfismos se relacionó con los niveles de leptina, y solo el A668G en el gen de *lepr* se relacionó con el consumo abundante de alimento y la repetición de alimento, lo que puede influir en la ganancia de peso en los niños escolares. **Palabras clave:** Leptina, obesidad, hiperfagia, polimorfismo, niños.

## Abstract

Leptin is an anorexigenic hormone that controls food intake and energy homeostasis, which by binding to its receptors in the hypothalamus, releases signals that generates a feeling of satiety, regulating appetite and weight in humans. Polymorphisms in the leptin gene and leptin receptor gene have been associated with serum leptin concentrations and obesity. **Aim.** To assess the association between the polymorphisms A19G in the leptin gene and A668G in the leptin receptor gene, and the serum leptin levels and hyperphagia in obese and non-obese children from the Guerrero State, in the South of Mexico. **Methodology.** The study included 234, 6 to 13 years old children, with informed consent from parents or guardians. Anthropometric measurements were performed in all children, and blood pressure was determined with an aneroid sphygmomanometer. The WHO criteria were used to classify children as obese or non-obese. The serum leptin levels were measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), and genotyping of polymorphisms was performed by PCR-RFLP. **Results.** The genotypic frequencies in all children studied were AA (48%), AG (48%) and GG (4%) for the A668G polymorphism, and, AA (54%) AG (43%) and GG (3%) for the A19G polymorphism. Leptin concentrations were higher in obese children compared with those of normal weight, and by gender the girls showed significantly higher leptin levels with respect to boys. We also found a relationship between hyperleptinemia (leptin > 9 ng/mL) and the obesity. The 668AG+GG genotypes of *lepr* gene were associated with the increased food intake (OR= 6.6, IC95% 1.60 a 26.70, p= 0.009) and the repetition of food (OR= 2.01, 95% CI 1.16 to 3.50, p= 0.013). No relationship was observed between A19G polymorphism and the concentration of serum leptin, obesity and eating patterns. **Conclusion.** In this study, we found that obese children present hyperleptinemia. None of the polymorphisms are associated with leptin levels, and only the A668G *lepr* gene was associated with the increased food intake and the repetition of food, which can influence weight gain in school children.

**Key words:** Leptin, obesity, hyperphagia, polymorphism, children.

## INTRODUCCIÓN

La prevalencia de la obesidad infantil y sus comorbilidades como: hipertensión, dislipidemia, inflamación crónica, hiperinsulinemia, diabetes tipo 2, problemas ortopédicos y psicosociales, se ha incrementando tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo (Padez *et al.*, 2004; Pinto *et al.*, 2007; Korner *et al.*, 2005; Togashi *et al.*, 2002). En el 2006, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT), reportó una prevalencia nacional combinada de sobrepeso y obesidad de 26% en la población infantil de 5 a 11 años de edad, 26.8% en niñas y 25.9% en niños. La prevalencia de obesidad para niños fue de 9.4% y para niñas de 8.7%. En la ciudad de Chilpancingo, Guerrero, en el año 2004 se reportó una prevalencia de sobrepeso del 28.1% y obesidad del 13.7% (Moraes *et al.*, 2004).

La obesidad se presenta por un desequilibrio del balance energético y se puede desarrollar cuando el consumo de energía es mayor en comparación con el gasto energético (Cohen *et al.*, 2001). El balance energético se regula por el sistema hipotalámico que responde a señales hormonales y neuronales que perciben el estado energético del cuerpo (Gao *et al.*, 2007). Se han identificado vías neuroendocrinas centrales involucradas en el control del consumo y gasto de energía; entre las que se encuentran las vías orexigénicas que involucran al neuropéptido Y (NPY), la hormona concentradora de melanina (MCH), la orexina A y el péptido relacionado con agouti (AgRP), así como las vías anorexigénicas que involucran a la proopiomelanocortina (POMC), el sistema melanocortina, la hormona liberadora de corticotropina (CRH) y leptina. También se han identificado varias señales periféricas de las vías neuroendocrinas centrales que controlan el apetito y el balance de energía. Estas señales incluyen a la colecistocinina, grelina, péptido YY e insulina, que están asociadas con el tracto gastrointestinal (Trayhurn y Bing, 2006).

La leptina es una hormona anorexigénica que controla el consumo de alimento y la homeostasis de energía, su principal sitio de acción se encuentra en el núcleo arcuato del hipotálamo. Cuando la leptina se une a sus receptores en el hipotálamo señaliza y genera una sensación de saciedad, de tal forma que regula el apetito y el peso en humanos. Una alteración en la producción de la leptina en el tejido adiposo o una resistencia a su acción en el sistema nervioso central

(SNC), puede dar como resultado un aumento en el peso corporal y subsecuentemente causar obesidad (Sánchez, 2005).

Se han reportado niveles altos de leptina en personas obesas en comparación con las personas con peso normal, lo cual sugiere que la obesidad puede estar relacionada con un estado de resistencia a la leptina (Skibola *et al.*, 2004). La resistencia a la leptina podría deberse a una disminución de la actividad del receptor de esta proteína, ya que aunque presentan un incremento en los niveles de leptina desarrollan de forma simultánea una resistencia a la acción de la hormona, debido posiblemente al funcionamiento inadecuado de las cascadas de señalización intracelular asociadas con la activación del receptor, o a un defecto en el sistema de transporte de la leptina que circula en el SNC (Sánchez, 2005; Paricchini *et al.*, 2005; Rosado *et al.*, 2006).

También, se han reportado resultados contradictorios por otros investigadores, en los que se describe que los pacientes obesos presentan niveles de leptina relativamente bajos, y se sugiere que esta relativa deficiencia de leptina puede ser responsable de la obesidad en estos pacientes (Lucantoni *et al.*, 2000). Brunner *et al.*, realizaron un estudio en animales genéticamente predispuestos a la obesidad, y sugirieron que la carencia de la leptina o la resistencia a su acción puede ser considerada la causa de la hiperfagia en estos animales (Brunner *et al.*, 1997). Por otra parte, se han realizado estudios sobre los niveles de leptina sérica en niños obesos y delgados, y al igual que en los adultos se ha encontrado que los niños obesos presentan un incremento en los niveles séricos de leptina en comparación con los delgados (Viso *et al.*, 2005; Hassink *et al.*, 1996; Dubey *et al.*, 2007; Poveda *et al.*, 2007).

La leptina es un péptido hormonal, con una estructura terciaria de hélices de cadena larga, parecida a los miembros de la familia de las citocinas, constituida por cuatro  $\alpha$ -hélices antiparalelas (Fruhbeck, 2006) y se sintetiza principalmente en el tejido adiposo blanco, pero también en otros órganos y tejidos como la placenta, mucosa gástrica, intestino, médula ósea, epitelio mamario, músculo esquelético, pituitaria, e hipotálamo, producen leptina en pequeñas cantidades (Ahima, 2006; Bluher y Mantzoros, 2004). El gen *lep* codifica para la leptina en los

humanos, se localiza en el brazo largo del cromosoma 7, en el *locus* 31.3 (7q31.3), está formado por tres exones separados por dos intrones (Paricchini *et al.*, 2005; Godínez, 2004). El tamaño del gen es de 4.5kb y su producto es de 167 aminoácidos (aa) con un peso de 16kDa (Vázquez, 2006).

El receptor de leptina (LEPR) tiene varias isoformas que se originan por *splicing* alternativo, designadas como: LRa, LRb, LRC, LRd, LRe y LRf, las cuales tienen en común un dominio extracelular de más de 800 aa, un dominio transmembranal de 34 aa y un dominio variable intracelular, característico de cada isoforma. Estas isoformas se pueden clasificar dentro de tres clases: larga, corta y secretada. Las formas cortas de receptores, LRa, LRC, LRd y LRf, tienen 30 a 40 residuos citoplásmicos. La isoforma larga del receptor de leptina (LRb) es considerada como el receptor funcional, debido a que contiene un dominio intracelular de aproximadamente 300 residuos citoplásmicos y por presentar varios segmentos requeridos para la interacción con otras proteínas y la activación de la vía de señalización (Fruhbeck, 2006).

El receptor de leptina (*lepr*) existe como un homodímero preformado, como ocurre con todos los receptores tipo citocina, la unión de leptina a su receptor da lugar a la activación de señales intracelulares, que en el caso de LRb está asociada con el sistema JAK-STAT (Sánchez, 2005). En el humano, el gen *lepr* se localiza en el brazo corto del cromosoma 1, en el *locus* 31 (1p31) (Paricchini *et al.* 2005; Leshan *et al.*, 2006), y está constituido por 20 exones, abarca más de 70kb de DNA, los primeros dos exones no son codificantes, pero son capaces de formar varias estructuras secundarias alternativas. Una sola región transmembranal está en el exón 18, y el sitio de *splicing* para las formas alternativas del receptor de leptina ocurre en el límite exón/intrón del exón 19. El dominio intracelular está codificado en los exones 19 y 20, el exón 20 es el de mayor tamaño, abarca más de 900 nucleótidos y codifica los últimos 274 aa del receptor de leptina (Thompson *et al.*, 1997).

La presencia de polimorfismos tanto en el gen, como en el receptor de leptina, ha sido relacionada con las concentraciones de leptina y con la obesidad. El polimorfismo A668G en el gen del receptor de leptina se ha asociado significativamente con la obesidad y con un incremento en las concentraciones

séricas de leptina en individuos obesos homocigotos para el alelo 668G. Esta relación se puede explicar debido a que el polimorfismo A668G provoca un cambio de aminoácido y está situado en la región extracelular del receptor de leptina en el dominio C, que es un sitio de unión a la leptina, originando un cambio en la carga de neutra a positiva, que puede afectar la funcionalidad del receptor y alterar la vía de señalización estimulada por la leptina (Yiannakouris *et al.*, 2001).

El polimorfismo A19G en el gen de leptina se ha relacionado con una menor concentración sérica de leptina en las personas obesas homocigotas para el alelo G, pero no se ha asociado significativamente con el IMC, se sugiere que este polimorfismo puede estar en desequilibrio de ligamiento con otros polimorfismos en el mismo gen relacionados con la obesidad, y que pueden estar afectando las concentraciones de esta proteína, ya que este cambio de base de A por G se ha asociado con niveles bajos de leptina en dos poblaciones caucásicas y en estudios en familias con obesidad, se ha demostrado la transmisión del alelo G a la descendencia afectada, proporcionando evidencia de la relación de este locus en la obesidad mórbida (Hager *et al.*, 1998).

En México, existen reportes de las frecuencias genotípicas y alélicas de estos polimorfismos en estados como Monterrey y Chihuahua, pero no se ha encontrado una relación con la obesidad (López., 2006; Jiménez *et al.*, 2004; Jiménez *et al.*, 2007; Reyes *et al.*, 2007). El objetivo de este trabajo fue evaluar la asociación de los polimorfismos A19G en el gen de leptina y A668G en su receptor con las concentraciones de leptina sérica e hiperfagia en niños guerrerenses con y sin obesidad. Estos polimorfismos no se han estudiado en la población guerrerense, por lo que se ignora su distribución y si hay asociación con las concentraciones séricas de leptina y la hiperfagia, y consecuentemente con el desarrollo de la obesidad en niños portadores de los genotipos de riesgo, lo que permitirá sugerir un mecanismo molecular que puede estar implicado en la regulación del apetito en niños escolares con obesidad.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

### **Selección de los sujetos de estudio**

Se visitaron 3 escuelas primarias de la ciudad de Chilpancingo, Guerrero: Antonio A. Guerrero, José Martí y Gral. Vicente Guerrero; con la finalidad de proporcionar información a los directores sobre los propósitos del estudio. Se realizó una selección aleatoria representativa de 400 niños a los que se les tomaron medidas antropométricas, para integrar los grupos de estudio de acuerdo a su IMC, siguiendo los criterios de la OMS (WHO Reference, 2007). A los padres o tutores de los niños seleccionados se les citó a una reunión para explicarles los propósitos y beneficios de la participación de sus hijos en el estudio. Los padres o tutores de los niños que aceptaron la participación de sus hijos en el estudio, firmaron su consentimiento, y a cada uno se les indicó en forma verbal y escrita el día y la hora, así como las condiciones en que deberían llevar a sus hijos para la toma de muestra sanguínea, obteniéndose finalmente una muestra de 234 niños. Los participantes cumplieron con los siguientes criterios de inclusión: niños y niñas, de 6 a 13 años, con consentimiento informado de sus padres o tutores, originarios del estado de Guerrero (considerando dos generaciones anteriores) y no relacionados genéticamente.

### **Evaluación de la composición corporal**

Las medidas somatométricas que se realizaron fueron peso y talla para obtener el índice de masa corporal (IMC), el peso se determinó con la báscula de precisión TANITA BC-553, para lo cual el niño (a) debió estar de pie, descalzo y con ropa mínima. La estatura se midió con el estadímetro portátil SECA BM-214; el índice de cintura-cadera (ICC) y la circunferencia del brazo se midieron con cinta antropométrica; los pliegues cutáneos (bicipital, tricipital, subescapular y suprailiaco) se midieron con un plicómetro (DYNATRON CE 0120); y la presión arterial (sistólica y diastólica) con un esfigmomanómetro con brazalete pediátrico (RIESTER CE 0124).

### **Toma de muestra sanguínea**

A los niños se les tomó una muestra de sangre periférica por punción venosa, entre las 8 y 9 de la mañana, con un ayuno de 12 horas como mínimo, utilizando dos tubos, uno con anticoagulante (EDTA al 10%) y otro sin anticoagulante, obteniendo 3 ml de sangre en cada tubo.

### **Encuesta**

Posterior a la toma de muestra se citó a los padres o tutores de los niños participantes, y se les aplicó una encuesta, para obtener datos sociodemográficos, historia clínica, antecedentes familiares de enfermedades crónicas degenerativas, actividad física, estado emocional, frecuencia y cantidad del consumo diario de alimentos, entre otros.

### **Determinación de los niveles séricos de leptina**

Del tubo sin anticoagulante se separó el suero y se almacenó a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta la determinación de la concentración de los niveles de leptina, la cual se realizó empleando un ensayo inmunoenzimático ligado a enzima (Human Leptin ELISA, Bio Vendor, Enzo Life Sciences), basado en el principio de ELISA sandwich, utilizando un anticuerpo policlonal anti-leptina humana, con un límite de sensibilidad de 0.2ng/mL.

### **Genotipificación del polimorfismo A668G en el gen del receptor de leptina**

Del tubo con sangre total con anticoagulante, se extrajo el DNA genómico de los leucocitos mediante la técnica de Miller. Para la amplificación del fragmento de interés se empleó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), y se utilizaron los siguientes iniciadores: sentido 5` AAACTCAACGACACTCTCCTT 3´ y antisentido 5` TGAAGTACATTAGAGGTGA 3´. La amplificación se realizó en un termociclador (Eppendorf, Alemania), y la mezcla de reacción se realizó en un volumen final de 25µL, adicionando 100ng de DNA genómico, iniciador sentido y antisentido 0.2mM, dNTPs 0.2mM, MgCl<sub>2</sub> 3mM y *Taq DNA* polimerasa 2.0U (Invitrogen, Brasil); bajo las siguientes condiciones de reacción: desnaturalización inicial a 94°C durante 5 min, seguidos de 30 ciclos para la amplificación:



desnaturalización a 94°C por 1 min, alineamiento a 56°C por 1 min, extensión a 72°C por 1 min, y una extensión final a 72°C por 5 min.

El producto amplificado (Figura 1A), se sometió a electroforesis en geles de agarosa al 2%, los cuales fueron teñidos con bromuro de etidio y se observaron en un transiluminador de luz UV. Para la genotipificación del polimorfismo A668G del gen del receptor de leptina se empleó la técnica de polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLP). El producto de PCR de 80pb fue digerido con la enzima *MspI* (New England BioLabs, Beverly, MA, USA) a 37°C por 1h. El producto de la digestión (Figura 1B) fue visualizado por electroforesis en gel de agarosa al 4%, y la identificación de los genotipos se realizó mediante el siguiente patrón de restricción: un fragmento de 80pb para el homocigoto A/A, tres fragmentos de 80, 57 y 23pb para el heterocigoto A/G, y dos fragmentos de 57 y 23pb para el homocigoto G/G.

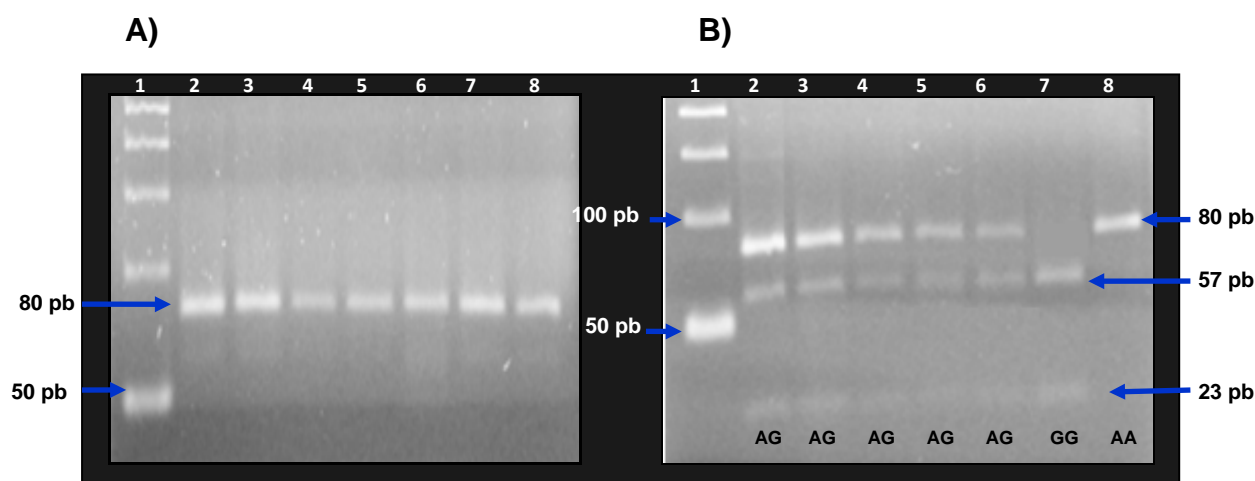


Fig 1. Identificación del polimorfismo A668G en el gen del receptor de leptina. A) Carril 1. Marcador de peso molecular de 50pb, carriles 2-8 productos de PCR de 80pb en gel de agarosa al 2%. B) Identificación de los genotipos después de la digestión con la enzima *MspI* y electroforesis en gel de agarosa al 4%. Carril 1. Marcador de peso molecular de 50pb, carriles 2-6 genotipo AG, carril 7 genotipo GG, carril 8 genotipo AA.

### Genotipificación del polimorfismo A19G en el gen de leptina

Para la amplificación del fragmento de interés, se utilizaron los siguientes iniciadores: sentido 5'-CCCGCGAGGTGCACACTG- 3' y antisentido 5'-AGGAGGAAGGAGCGCGCC- 3'. La amplificación se realizó en un termociclador (Eppendorf, Alemania), y la mezcla de reacción se realizó en un volumen final de 25µL, adicionando 100ng de DNA, iniciador sentido y antisentido 0.2mM, dNTPs

0.2mM, MgCl<sub>2</sub> 2mM, *Taq* DNA polimerasa 2.0U (Invitrogen, Brasil). Con las siguientes condiciones de reacción: desnaturalización inicial a 94°C por 5 min, seguido de 35 ciclos para la amplificación: desnaturalización a 94°C por 1 min, alineamiento a 60°C por 1 min, extensión a 72°C por 1 min, y una etapa de extensión final de 72°C por 5 min. El producto amplificado (figura 2A), fue sometido a electroforesis en geles de agarosa al 2%, los cuales fueron teñidos con bromuro de etidio y se observaron en un transiluminador de luz UV. El producto amplificado de 221pb fue digerido con la enzima *MspAI* (New England BioLabs, Beverly, MA, USA) a 37°C por 2 h. El producto de la digestión (Figura 2B) fue analizado en geles de agarosa al 4%, y la identificación de los genotipos se realizó con el siguiente patrón de restricción: un fragmento de 221pb para el homocigoto A/A, tres fragmentos de 221,183 y 38pb para el heterocigoto A/G; y dos fragmentos de 183 y 38pb para el homocigoto G/G.

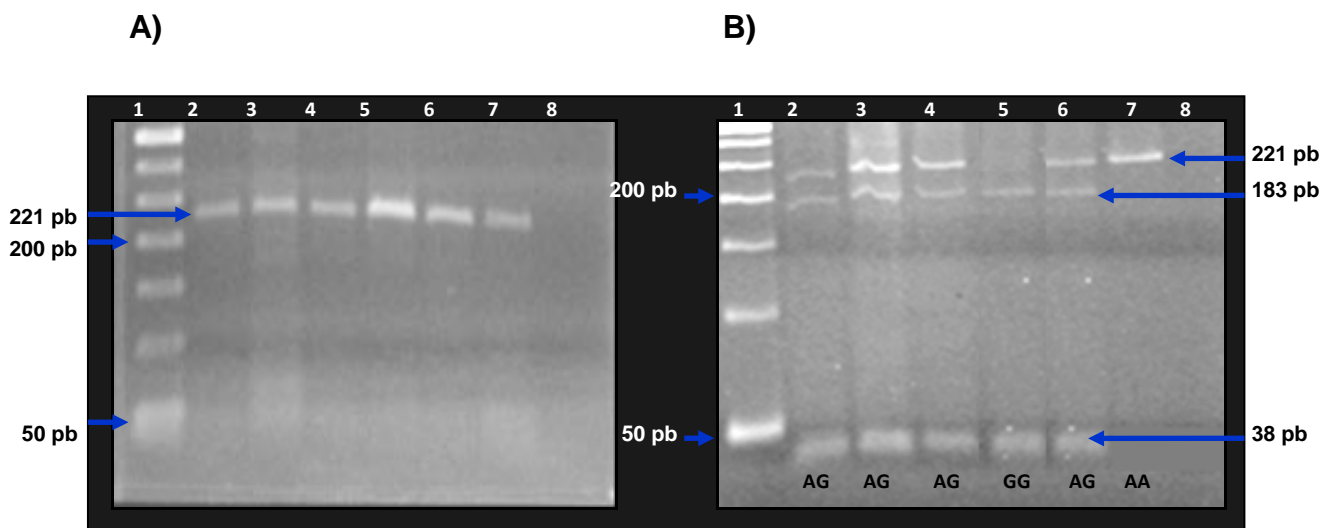


Fig 2. Identificación del polimorfismo A19G en el gen de leptina. A) Carril 1. Marcador de peso molecular de 50pb, carriles 2-7 productos de PCR de 221pb en gel de agarosa al 2%. B) Identificación de los genotipos después de la digestión con la enzima *MspAI* y electroforesis en gel de agarosa al 4%. Carril 1. Marcador de peso molecular de 50pb, carriles 2, 3, 4 y 6 genotipo AG, carril 5 genotipo GG, carril 7 genotipo AA.

## **Análisis estadístico**

Se obtuvieron medias y desviaciones estándar de las variables cuantitativas simétricas, para establecer diferencias entre las medias se utilizaron las pruebas estadísticas de *t* student o análisis de varianza de un factor. Se obtuvieron medianas y percentiles 25 y 75 para las variables cuantitativas no simétricas y la comparación entre estas se realizó con las pruebas de Mann Whitney o de Kruskal Wallis. Se determinaron frecuencias para las variables cualitativas y para la comparación de estas se utilizó la prueba de Ji cuadrada. En la valoración de la correlación entre las concentraciones de leptina con algunas variables somatométricas y clínicas, se empleó el coeficiente de correlación de Spearman. Para evaluar la asociación de los polimorfismos con la obesidad, con los niveles séricos de leptina y con hiperfagia, se realizaron modelos de regresión logística binaria y multinomial. Se consideró un valor de  $p < 0.05$  como estadísticamente significativo. El análisis estadístico se realizó en el programa STATA v.9.2.

## **RESULTADOS**

Se incluyeron en el estudio 234 niños que asistieron a tres escuelas primarias de la ciudad de Chilpancingo, Gro. Todos los niños fueron originarios del estado de Guerrero, de los cuales 116 (49.6%) fueron mujeres y 118 (50.4%) hombres. De acuerdo a su IMC se integraron los grupos formados por 113 niños con obesidad y 121 niños con peso normal. El rango de edad de los participantes fue de 6 a 13 años y la mayoría con un nivel socioeconómico medio. No se observaron diferencias significativas en cuanto a la edad y género.

El 82.3% de los niños con obesidad refirieron antecedentes familiares de obesidad con respecto a los de peso normal. Del total de los niños estudiados 8.1% ( $n=19$ ) presentaron hipertensión, de los cuales 15.0% ( $n=17$ ) fueron niños con obesidad. También se muestran las características clínicas de ambos grupos, encontrando que todas las medidas de la composición corporal y de la presión arterial son mayores en los niños con obesidad en comparación con los de peso normal. No se observaron diferencias significativas en cuanto a la temperatura corporal (Cuadro 1).

**Cuadro 1. Características sociodemográficas y clínicas de los grupos estudiados.**

Característica	Total n= 234	Niños sin obesidad n= 121	Niños con obesidad n=113	Valor p
<b>Edad (años)</b>				
≤ 9 años	143 (61.1)	70 (57.9)	73 (64.6)	0.29 <sup>a</sup>
>9 años	91 (38.9)	51 (42.1)	40 (35.4)	
<b>Sexo, n (%)</b>				
Masculino	118 (50.4)	57 (47.1)	61 (54.0)	0.29 <sup>a</sup>
Femenino	116 (49.6)	64 (52.9)	52 (46.0)	
<b>Nivel socioeconómico, n (%)</b>				
Bajo	68 (29.1)	37 (30.6)	31 (27.4)	0.59 <sup>a</sup>
Medio	166 (70.9)	84 (69.4)	82 (72.6)	
<b>AF de obesidad</b>	128 (54.7)	35 (28.9)	93 (82.3)	<0.001 <sup>a</sup>
<b>Peso (kg)</b>	33.3 (26.8-42.9)	27.8 (23-32)	42 (34.7-50.5)	<0.001 <sup>b</sup>
<b>Talla (cm)</b>	132.7 ± 11.2	129.9 ± 10.6	135.6 ± 11.2	0.001 <sup>c</sup>
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	18.49 (16.2-23.1)	16.3 (15.4-17.2)	23.2 (20.9-25.0)	<0.001 <sup>b</sup>
<b>Cintura (cm)</b>	67 (61-79)	62 (58-66)	79 (72-84)	<0.001 <sup>b</sup>
<b>Cadera (cm)</b>	75 (69-84)	70 (66-75)	84 (77-90)	<0.001 <sup>b</sup>
<b>ICC</b>	0.90 (0.86-0.92)	0.87 (0.84-0.90)	0.90 (0.90-0.94)	<0.001 <sup>b</sup>
<b>Brazo (cm)</b>	21 (19-24.5)	19 (17.5-20)	24.5 (22-26)	<0.001 <sup>b</sup>
<b>Bicipital (cm)</b>	15.6 ± 4.8	13.3 ± 4.2	18.1 ± 4.2	<0.001 <sup>c</sup>
<b>Tricipital (cm)</b>	15 (11.5-18)	12 (10-15)	18 (15-20)	<0.001 <sup>b</sup>
<b>Subescapular (cm)</b>	13.5 (9-18.5)	10 (7.5-12)	18.5 (15.5-21)	<0.001 <sup>b</sup>
<b>Suprailiaco (cm)</b>	18.0 ± 5.6	15.1 ± 4.5	21.3 ± 4.8	<0.001 <sup>c</sup>
<b>Temperatura (°C)</b>	36 (35.5-36.2)	35.9 (35.5-36.2)	36 (35.6-36.2)	0.60 <sup>b</sup>
<b>PAS (mmHg)</b>	98 (90-105)	90 (85-99)	101.5 (98-108)	<0.001 <sup>b</sup>
<b>PAD (mmHg)</b>	58 (51-60)	54 (50-58)	60 (58-64)	<0.001 <sup>b</sup>
<b>Hipertensión arterial, n (%)</b>	19 (8.12)	2 (1.65)	17 (15.04)	<0.001 <sup>a</sup>
<b>Leptina (ng/mL)</b>	4.13 (2.1-17.01)	2.21 (1.82-3.07)	16.03 (6.2-31.52)	<0.001 <sup>b</sup>

Los datos indican mediana (percentil 25 y 75), o media ± desviación estándar, o lo que indique. AF: Antecedentes familiares, IMC: Índice de masa corporal, ICC: Índice de cintura-cadera, PAS: Presión arterial sistólica, PAD: Presión arterial diastólica. <sup>a</sup>Prueba de X<sup>2</sup>; <sup>b</sup>Mann Whitney; <sup>c</sup>t de student.

En cuanto al estilo de vida, los niños con peso normal mencionaron comer más de 4 veces al día, pero los niños con obesidad comen una porción más abundante y repiten su ración de comida, y estas diferencias fueron significativas. No se encontraron diferencias en cuanto al tipo de alimento que consumen (datos no mostrados), pero sí en cuanto a la actividad física, los niños con peso normal refirieron practicar ejercicio con mayor frecuencia (66.1%) a diferencia de los niños con obesidad (33.9%) (Cuadro 2).

**Cuadro 2. Estilo de vida de los niños con y sin obesidad.**

Variable	Total (234)	Niños sin obesidad (121)	Niños con obesidad (113)	Valor P <sup>a</sup>
<b>Comidas/día, n (%)</b>				
< de 3 comidas/día	12 (5.1)	4 (3.3)	8 (7.1)	<b>0.024</b>
3 comidas/día	104 (44.5)	46 (38.0)	58 (51.3)	
≥ de 4 comidas/día	118 (50.4)	71 (58.7)	47 (41.6)	
<b>Porción de alimento, n (%)</b>				
Poco	41 (17.5)	32 (26.5)	9 (8.0)	<b>&lt;0.001</b>
Regular	163 (69.7)	80 (66.1)	83 (73.4)	
Abundante	30 (12.8)	9 (7.44)	21 (18.6)	
<b>Repetición de ración de alimento, n (%)</b>				
No	91 (38.9)	56 (46.3)	35 (31.0)	<b>0.016</b>
Si	143 (61.1)	65 (53.7)	78 (69.0)	
<b>Ejercicio, n (%)</b>				
No	93 (39.7)	41 (33.9)	52 (46.0)	<b>0.050</b>
Si	141 (60.3)	80 (66.1)	61 (54.0)	

Prueba de <sup>a</sup>X<sup>2</sup>

Se encontraron diferencias significativas en el ICC ( $p=0.02$ ), presión arterial sistólica ( $p= 0.01$ ) y diastólica ( $p=0.02$ ), siendo más altas en los niños en comparación con las niñas. Los factores de riesgo asociados con obesidad fueron los antecedentes familiares de obesidad (OR= 11.3, IC95% 5.8 a 22.2,  $p < 0.001$ ), el sedentarismo (OR= 1.7, IC95% 0.94 a 2.9,  $p= 0.058$ ), el consumo abundante de alimento (OR= 8.3, IC95% 2.5 a 28.1,  $p<0.001$ ) y la repetición de la ración de comida (OR= 1.9, IC95% 1.1 a 3.4,  $p= 0.01$ ), (datos no mostrados).

La determinación de las concentraciones séricas de leptina se realizó en 174 niños (89 niños con peso normal y 85 niños con obesidad), de los cuales 86 fueron niñas y 88 niños. La mediana de concentración de leptina sérica fue mayor en los niños con obesidad (16.03 ng/mL) en comparación con los niños con peso normal (2.21 ng/mL). Las niñas tuvieron una mediana de concentración de leptina mayor (4.83 ng/mL) con respecto a los niños (3.83 ng/mL), sin embargo, esta diferencia no fue significativa (datos no mostrados).

No obstante, al evaluar estas concentraciones en cada uno de los grupos, se encontró que en el grupo con obesidad las niñas presentaron una mediana de la concentración de leptina más alta que los niños de este mismo grupo (19.52 vs. 9.76 ng/mL,  $p<0.001$ ). Por otra parte, este comportamiento se observó también en

los niños con peso normal, las niñas tuvieron niveles más altos con respecto a los niños (2.64 vs.1.94 ng/mL,  $p < 0.001$ ), (datos no mostrados).

En el cuadro 3, se observa que hay un incremento de las mediciones clínicas y somatométricas a medida que aumentan los terciles de leptina. Los niños con hiperleptinemia (niveles de leptina  $> 9$  ng/mL), presentan un aumento significativo en la adiposidad subcutánea y visceral, presión sanguínea e ingesta de alimento. Siendo importante mencionar que 93.1% de los niños con obesidad tienen concentraciones séricas de leptina por arriba del tercer tercil.

**Cuadro 3. Mediciones clínicas, hábitos alimenticios y polimorfismos en el total de niños estudiados estratificados por las concentraciones de leptina.**

Variable	Primer tercil (<2.4 ng/mL)	Segundo tercil (2.4-9.0 ng/mL)	Tercer tercil (> 9 ng/mL)	Valor p
<b>Edad</b>	8 (7-10)	9 (7-10)	9.5 (8-10)	<b>0.017<sup>d</sup></b>
<b>Cintura (cm)</b>	60 (56-65)	67 (65-74)	82 (79-86.5)	<b>&lt;0.001<sup>d</sup></b>
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	25.8 (22.5-30.4)	34 (28.8-38.5)	46.5 (41.6-55.4)	<b>&lt;0.001<sup>d</sup></b>
<b>Brazo (cm)</b>	18 (17-19.5)	22 (19.5-23)	26 (24-27)	<b>&lt;0.001<sup>d</sup></b>
<b>Subescapular (cm)</b>	8.5 (6.5-10)	13 (11.5-18)	19.5 (16.5-21.5)	<b>&lt;0.001<sup>d</sup></b>
<b>PAS (mmHg)</b>	91 (85-97)	98 (90-108)	106.5 (99-109.5)	<b>&lt;0.001<sup>d</sup></b>
<b>PAD (mmHg)</b>	52 (50-58)	59 (55-60)	60 (58-65)	<b>&lt;0.001<sup>d</sup></b>
<b>Hipertensión arterial, n (%)</b>				
No	60 (98.4)	52 (94.5)	49 (84.5)	<b>0.017<sup>a</sup></b>
Si	1 (1.64)	3 (5.5)	9 (15.5)	
<b>Comidas/día, n (%)</b>				
< de 3 comidas/día	3 (4.92)	4 (7.27)	2 (3.45)	0.190 <sup>a</sup>
3 comidas/día	22 (36.07)	23 (41.82)	33 (56.90)	
≥ de 4 comidas/día	36 (59.02)	28 (50.91)	23 (39.66)	
<b>Porción de alimento, n (%)</b>				
Poco	18 (29.51)	5 (9.09)	3 (5.17)	<b>0.001<sup>a</sup></b>
Regular	39 (63.93)	43 (78.18)	43 (74.14)	
Abundante	4 (6.56)	7 (12.73)	12 (20.69)	
<b>Repetición de alimento, n (%)</b>				
No	28 (45.90)	25 (45.45)	16 (27.59)	0.070 <sup>a</sup>
Si	33 (54.10)	30 (54.55)	42 (72.41)	
<b>Grupo, n (%)</b>				
Peso normal	58 (95.1)	27 (49.1)	4 (6.9)	<b>&lt;0.001<sup>a</sup></b>
Con obesidad	3 (4.9)	28 (50.9)	54 (93.1)	
<b>Polimorfismo A668G, n (%)</b>				
AA	31 (50.8)	29 (52.7)	26 (44.8)	0.678 <sup>a</sup>
AG+GG	30 (49.2)	26 (47.3)	32 (55.2)	
<b>Polimorfismo A19G, n (%)</b>				
AA	27 (44.3)	30 (54.5)	33 (56.9)	0.340 <sup>a</sup>
AG+GG	34 (55.7)	25 (45.5)	25 (43.1)	

Los datos mediana (percentil 25 y 75) o media±desviación estándar. IMC: Índice de masa corporal, PAS: Presión arterial sistólica, PAD: Presión arterial diastólica. Valores de  $p =$ <sup>d</sup>Kruskal Wallis, <sup>a</sup> $\chi^2$ .

En el análisis de correlación entre las concentraciones de leptina sérica con algunas variables clínicas y somatométricas, se encontró una alta correlación entre las concentraciones de leptina y el IMC, circunferencia de cintura, de cadera, de brazo y con los pliegues cutáneos. Este mismo comportamiento se observó entre las concentraciones de leptina y ambas presiones arteriales (Cuadro 4). En la figura 3, se muestra la representación gráfica de las correlaciones entre las concentraciones de leptina y el IMC, y con la circunferencia de cintura.

**Cuadro 4. Correlación de las concentraciones de leptina y algunas variables clínicas y somatométricas.**

Variable	Leptina (ng/mL)
Edad (años)	0.47***
PAS (mm Hg)	0.49***
PAD (mmHg)	0.53***
Estatura (cm)	0.41***
Peso (kg)	0.77***
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	0.87***
Cintura (cm)	0.82***
Cadera (cm)	0.80***
ICC	0.41***
Brazo (cm)	0.85***
Bicipital (cm)	0.59***
Tricipital (cm)	0.73***
Subescapular (cm)	0.80***
Suprailiaco (cm)	0.63***
Temperatura (°C)	0.038

Coefficiente de correlación de Spearman.  
\*\*\*P<0.001

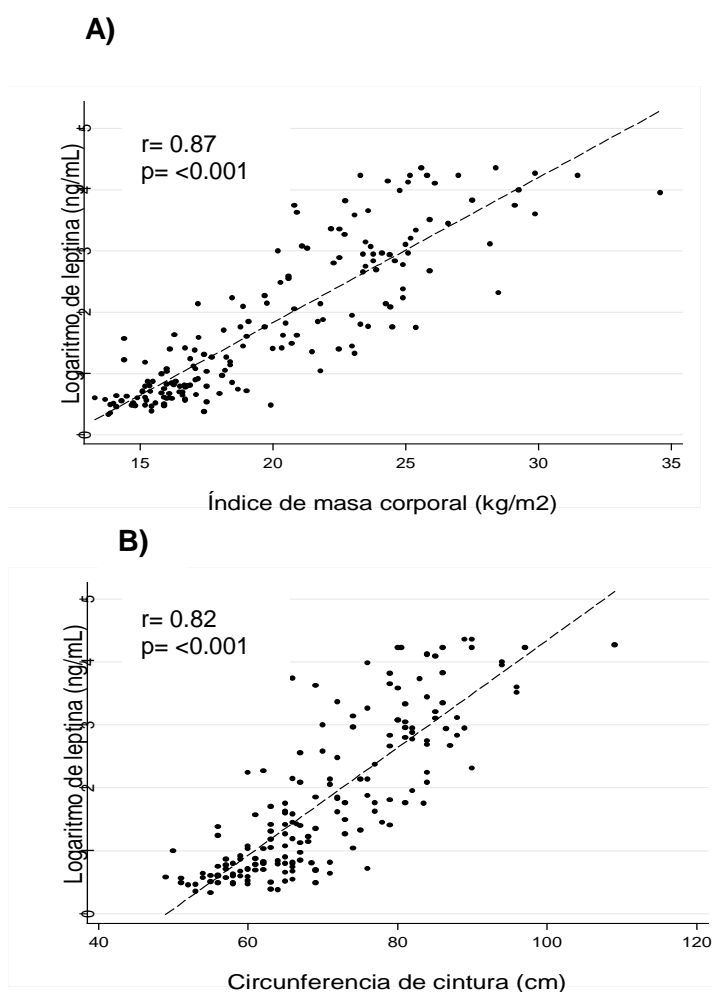


Fig.3 Correlaciones de leptina sérica y algunas variables somatométricas. A) Leptina e IMC. B) Leptina y circunferencia de cintura.

En el cuadro 5, se muestra una fuerte asociación de la hiperleptinemia (> 9 ng/mL) con la obesidad (OR= 4001.7, IC95% 355.6 a 45025.7, p<0.001), que se observa desde el segundo tercil.

**Cuadro 5. Asociación de los hábitos alimenticios, la obesidad e hipertensión arterial con niveles altos de leptina.**

Variable	Niveles de leptina sérica			
	2º tercil (2.4-9.0 ng/mL)		3º tercil (>9.0 ng/mL)	
	OR (IC95%)	Valor p	OR (IC95%)	Valor p
<b>Grupo</b>				
Peso normal	1*		1*	
Obesos	78 (15.02-408.85)	<0.001	4001.7 (355.6-45025.7)	<0.001 <sup>a</sup>
<b>Comidas/día</b>				
< de 3 comidas	1*		1*	
3 comidas	1.7 (0.20-13.98)	0.627	2.3 (0.27-18.37)	0.448 <sup>b</sup>
≥ de 4 comidas	10.6 (0.49-227.32)	0.131	14.2 (0.65-310.59)	0.092 <sup>b</sup>
<b>Porción de alimento</b>				
Poco	1*		1*	
Regular	3.4 (0.95-12.42)	0.059	1.6 (0.18-13.95)	0.671 <sup>b</sup>
Abundante	4.8 (0.63-36.26)	0.127	2.2 (0.14-35.33)	0.567 <sup>b</sup>
<b>Repetición de comida</b>				
No	1*		1*	
Si	0.8 (0.32-1.93)	0.604	1.4 (0.39-4.74)	0.629 <sup>b</sup>
<b>Hipertensión arterial</b>				
No	1*		1*	
Si	1.8 (0.12-24.62)	0.673	3.3 (0.17-63.44)	0.429 <sup>b</sup>
<b>Polimorfismo A668G</b>				
AA	1*		1*	
AG+GG	0.9 (0.38-2.34)	0.909	1.3 (0.38- 4.54)	0.650 <sup>b</sup>

\*Categoría de referencia. <sup>a</sup>Valor p ajustado por la actividad física, edad, y género. <sup>b</sup>Ajustado por la actividad física, edad, género y grupo. OR: odds ratio; IC: intervalo de confianza.

En el cuadro 6, se presenta la distribución de las frecuencias genotípicas y alélicas, de los polimorfismos A668G en gen del receptor de leptina y A19G en el gen de leptina de los grupos estudiados. Se observa que para el polimorfismo A668G no hubo diferencias significativas de las frecuencias genotípicas entre los grupos, y que los genotipos más frecuentes fueron el homocigoto AA y el heterocigoto AG, ambos con 48%.

En cuanto al polimorfismo A19G del gen de leptina tampoco se observaron diferencias significativas entre los grupos, siendo el genotipo más frecuente el homocigoto AA (54%), seguido del heterocigoto AG (43%). Ambos polimorfismos se encontraron en equilibrio de Hardy Weinberg en el grupo de niños control ( $X^2= 1.08$ ,  $p=0.29$  para el polimorfismo A668G, y  $X^2= 1.35$ ,  $p=0.24$  para el polimorfismo A19G).



**Cuadro 6. Frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos A668G en el gen del receptor de leptina y A19G en el gen de leptina en los grupos estudiados.**

<b>SNP A668G</b>	<b>Total (225)</b>	<b>Niños sin obesidad (119)</b>	<b>Niños con obesidad (106)</b>	<b>Valor p<sup>a</sup></b>
Genotipos	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	0.65
AA	107 (48)	58 (49)	49 (46)	
AG	107 (48)	54 (45)	53 (50)	
GG	11 (4)	7 (6)	4 (4)	
Alelos				
A	144 (72)	143 (71)	142 (71)	
G	56 (28)	57 (29)	58 (29)	
<b>SNP A19G</b>	<b>Total (191)</b>	<b>Niños sin obesidad (100)</b>	<b>Niños con obesidad (91)</b>	<b>Valor p<sup>a</sup></b>
Genotipos	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	<b>n (%)</b>	0.26
AA	103 (54)	51 (51)	52 (57)	
AG	82 (43)	44 (44)	38 (42)	
GG	6 (3)	5 (5)	1 (1)	
Alelos				
A	151 (75)	146 (73)	156 (78)	
G	49 (25)	54 (27)	44 (22)	

Prueba de <sup>a</sup>X<sup>2</sup>

Al analizar por genotipos las características generales, clínicas y los hábitos alimenticios para el polimorfismo A668G en el gen del receptor de leptina en todos los niños estudiados, se encontró que los niños portadores de los genotipos AG+GG, presentaron mayor consumo de alimento ( $p= 0.039$ ) y repetición de comida ( $p= 0.012$ ) en comparación con los niños portadores del genotipo AA.

Cuando se realizó este mismo análisis por grupo, se observó que en los niños con peso normal no se encontraron diferencias significativas cuando se relacionaron los genotipos con las variables estudiadas. Pero, en los niños con obesidad, el 77% de los portadores de los genotipos AG+GG, repiten su ración de comida en comparación con los portadores del genotipo AA, siendo esta diferencia significativa ( $p=0.04$ ) (datos no mostrados). En el análisis de asociación del polimorfismo A668G del gen del receptor de leptina en el total de niños estudiados, no se encontró asociación significativa de los genotipos AG+GG con el incremento en las concentraciones séricas de leptina, ni con la obesidad; pero sí con el consumo abundante de comida y la repetición de comida (Cuadro 7).

**Cuadro 7. Asociación de los genotipos 668AG+GG con los niveles de leptina, hábitos alimenticios y la obesidad.**

Variable	AA	AG+GG	OR (IC95%) Crudo	Valor p	OR (IC95%) Ajustado	Valor p
<b>Leptina (ng/mL)</b>						
1 <sup>er</sup> tercil (< 2.4 ng/mL)	31	30	1.0*		1.0*	
2 <sup>do</sup> tercil (2.41 a 9.0 ng/mL)	29	26	0.9 (0.44-1.92)	0.837	0.9 (0.33-2.33)	0.803 <sup>a</sup>
3 <sup>er</sup> tercil (>9.0 ng/mL)	26	32	1.3 (0.61-2.61)	0.513	1.3 (0.36-4.73)	0.683 <sup>a</sup>
<b>Comidas/día</b>						
< de 3 comidas	6	5	1.0*		1.0*	
3 comidas	48	51	1.3 (0.36-4.45)	0.703	2.0 (0.43-9.81)	0.36 <sup>b</sup>
≥ de 4 comidas	53	62	1.4 (0.40-4.86)	0.593	2.5 (0.51 -11.75)	0.25 <sup>b</sup>
<b>Porción de alimento</b>						
Poco	21	19	1.0*		1.0*	
Regular	77	78	1.1 (0.55-2.24)	0.750	1.6 (0.59 - 2.58)	0.332 <sup>b</sup>
Abundante	9	21	2.6 (0.95-6.99)	0.063	<b>6.6 (1.60- 26.70)<sup>b</sup></b>	<b>0.009<sup>b</sup></b>
<b>Repetición de comida</b>						
No	51	37	1.0*		1.0*	
Si	56	81	2.0 (1.15-3.43)	0.013	<b>2.8 (1.42-5.34)</b>	<b>0.003<sup>b</sup></b>
<b>Obesidad</b>						
No	58	61	1.0*		1.0*	
Si	49	57	1.1 (0.65-1.86)	0.706	0.7 (0.24-2.06)	0.524 <sup>c</sup>

\*Categoría de referencia. <sup>a</sup>Ajustado por edad, género, grupo y actividad física. <sup>b</sup>Ajustado por edad, género, grupo, actividad física y terciles de leptina. <sup>c</sup>Ajustado por edad, género, actividad física y terciles de leptina. OR: odds ratio; IC: intervalo de confianza.

Al realizar el análisis por genotipos del polimorfismo A19G en el gen de leptina en el total de niños estudiados con las características generales, clínicas y hábitos alimenticios, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos y alguna de estas variables. Al estratificar por genotipos a los grupos de niños con peso normal y con obesidad tampoco se encontraron diferencias significativas con ninguna de las variables estudiadas, (datos no mostrados).

En el cuadro 8, se muestra el análisis de asociación para el polimorfismo A19G en el gen de leptina, y no se observó relación de los genotipos AG+GG con la concentración de leptina sérica, ni con la obesidad, y tampoco con el consumo de alimento.

**Cuadro 8. Asociación de los genotipos 19AG+GG con los niveles de leptina, hábitos alimenticios y obesidad.**

Variable	AA	AG+GG	OR (IC95%) Crudo	Valor p	OR (IC95%) Ajustado	Valor p
<b>Leptina (ng/ml)</b>						
3 <sup>er</sup> tercil (>9.0 ng/mL)	33	25	1.0*		1.0*	
2 <sup>do</sup> tercil (2.41 a 9.0 ng/mL)	31	27	1.1 (0.55-2.39)	0.709	1.1 (0.42-2.69)	0.888 <sup>a</sup>
1 <sup>er</sup> tercil (<2.4 ng/mL)	26	32	1.6 (0.78-3.38)	0.195	2.2 (0.63-7.40)	0.216 <sup>a</sup>
<b>Comidas/día</b>						
< de 3 comidas	3	7	1.0*		1.0*	
3 comidas	48	36	0.3 (0.65-11.04)	0.168	0.2 (0.04-1.25)	0.089 <sup>b</sup>
≥ de 4 comidas	52	45	0.4 (0.48-1.56)	0.633	0.3 (0.01-2.77)	0.119 <sup>b</sup>
<b>Porción de alimento</b>						
Poco	17	16	1.0*		1.0*	
Regular	72	63	0.9 (0.50-2.30)	0.851	0.9 (0.39-2.38)	0.944 <sup>b</sup>
Abundante	14	9	0.7 (0.29-1.81)	0.503	0.6 (0.17-2.15)	0.454 <sup>b</sup>
<b>Repetición de comida</b>						
No	42	38	1.0*		1.0*	
Si	61	50	0.9 (0.50-1.61)	0.737	0.9 (0.47-1.65)	0.699 <sup>b</sup>
<b>Obesidad</b>						
No	51	49	1.0*		1.0*	
Si	52	39	0.8 (0.44-1.38)	0.395	0.9 (0.34-2.97)	0.976 <sup>c</sup>

\*Categoría de referencia. <sup>a</sup>Ajustado por edad, género, grupo y actividad física. <sup>b</sup>Ajustado por edad, género, grupo, actividad física y terciles de leptina. <sup>c</sup>Ajustado por edad, género, actividad física y terciles de leptina. OR: odds ratio; IC: intervalo de confianza.

## DISCUSIÓN

En este trabajo se encontraron como factores de riesgo para el desarrollo de obesidad en niños escolares, los antecedentes familiares de obesidad, el sedentarismo, el consumo de una porción más abundante de comida y la repetición de su ración. Sin embargo, los niños con peso normal refirieron comer un mayor número de veces durante el día que los niños con obesidad. Estos resultados son consistentes con lo encontrado en un estudio realizado en escolares argentinos de 10 a 15 años, donde los niños con obesidad presentaron una mayor prevalencia de antecedentes familiares de obesidad, y una correlación inversa entre el número de comidas diarias y el IMC, ya que los escolares con una comida diaria presentaron mayor IMC que los que tenían tres o cuatro comidas al día, pero no encontraron asociación entre el sobrepeso, la obesidad y la actividad física, con las horas frente al televisor, o con comidas con alto contenido de grasas (Poletti y Barrios, 2007).

En otro estudio realizado en 361 niños chilenos entre 6 y 7 años, no observaron diferencias en cuanto al género y estado nutricional de los niños, considerando su patrón dietético, sin embargo, en cuanto a la actividad física, observaron que los niños escolares que veían 4 o más horas de TV al día o que realizaban menos horas de actividad física, son los que tenían un riesgo de 1.7 veces más de desarrollar obesidad, en comparación con los niños que eran más activos físicamente (Loaiza y Atalah, 2006). De igual manera, en un estudio realizado en 335 niños chilenos en edad escolar, tampoco encontraron diferencias significativas en cuanto al patrón alimentario, y los niños de este lugar presentaron una alimentación inadecuada independientemente del estado nutricional o género. Pero tampoco encontraron diferencias en cuanto a la actividad física (Atalah *et al.*, 1999), siendo diferente a lo observado en este trabajo, donde los niños con obesidad fueron más inactivos.

Con respecto a los niveles séricos de leptina, al comparar los niveles obtenidos en ambos grupos, se encontraron niveles significativamente más altos en los niños con obesidad, y por género también se observaron diferencias significativas, siendo las niñas con y sin obesidad las que presentaron un incremento en sus

concentraciones. Estos resultados coinciden con lo encontrado en un estudio realizado en 545 escolares, entre 5 y 15 años, del centro oriente colombiano, donde se observó que las concentraciones de leptina fueron mayores en los niños con sobrepeso y obesidad ( $14.1 \pm 11.3\text{ng/mL}$ ) en comparación con los de peso normal ( $6.9 \pm 7.4\text{ng/mL}$ ), y en las niñas ( $9.5 \pm 9.7\text{ng/mL}$ ) con respecto a los niños ( $6.8 \pm 7.5\text{ng/mL}$ ), con un valor de  $p < 0.001$  (Poveda *et al.*, 2007). En otro estudio realizado en niños y adolescentes venezolanos de 2 a 15 años, se encontró que los niños obesos presentaron mayores concentraciones de leptina ( $24.29\mu\text{g/L}$ ) que los niños eutróficos o con peso normal ( $11.53\mu\text{g/L}$ ), con un valor de  $p = 0.003$  (Viso *et al.*, 2005). Sin embargo, a diferencia de lo observado en nuestro estudio y a lo reportado por Poveda, los niños presentaron una mayor concentración de leptina que las niñas ( $3.54 \pm 2.9\mu\text{g/L}$  vs  $3.05 \pm 3.01\mu\text{g/L}$ ), cuyas diferencias se han atribuido a factores como la dieta y a las diferencias genéticas.

Un hallazgo relevante de este estudio, es la fuerte relación encontrada entre la hiperleptinemia (leptina sérica  $> 9 \text{ ng/mL}$ ) y la obesidad. Con respecto a esta relación, se ha sugerido que la resistencia a la leptina puede ser una causa de la obesidad, lo que sugiere que las concentraciones de esta hormona pueden estar aumentadas en individuos con predisposición a la obesidad, pero no en individuos con peso normal, lo que se demuestra en este estudio. En modelos murinos, Brunner *et al.*, 1997 sugirieron que la carencia de leptina o la resistencia a su acción puede ser considerada la causa de la hiperfagia en estos animales, ya que como mecanismo compensatorio a la falta de sensibilidad a la leptina, los niveles de esta hormona se incrementan para tratar de compensar esta carencia de efecto para inducir la saciedad, que puede deberse a un funcionamiento inadecuado a nivel de receptor, o a un defecto en el sistema de transporte de la leptina que circula en el SNC. Sin embargo, también se ha propuesto que el aumento en las concentraciones de leptina está relacionado con la cantidad de grasa corporal total, debido a la disminución de la sensibilidad a esta hormona, es decir, a su resistencia (Rosado *et al.*, 2006). Existen varios estudios donde se ha encontrado que las concentraciones de leptina pueden estar elevadas en personas obesas, no sólo por la resistencia a la hormona, sino también por el

aumento de la grasa corporal, y consecuentemente su mayor secreción por los adipocitos, debido a que la leptina se sintetiza principalmente en este tejido.

Además, se observó una correlación importante de las concentraciones séricas de leptina con la edad, el IMC, las circunferencias corporales, pliegues cutáneos y con ambas presiones arteriales, obteniéndose valores mayores con respecto a los reportados para otras poblaciones. Como el estudio realizado en la India, en 51 niños de 1.5 a 15 años, en donde se observó una correlación positiva entre los niveles de leptina y la edad ( $r= 0.56$ ), el IMC ( $r= 0.60$ ), y la circunferencia de cintura ( $r= 0.60$ ) (Dubey *et al.*, 2007). En otro estudio realizado en niños y adolescentes de 12 a 16 años en Taiwán, observaron que los niveles plasmáticos de leptina presentaron una correlación con el IMC ( $r= 0.66$ ), y una menor correlación con la circunferencia de cintura ( $r= 0.21$ ) y la presión arterial sistólica ( $r=0.26$ ) (Chu *et al.*, 2000). Una aportación importante de nuestro estudio es que se valoró la distribución del tejido adiposo en todos los niños, observándose que el incremento de la hormona se relaciona con el aumento en el tejido adiposo visceral y el subcutáneo, determinado por las medidas somatométricas.

Con relación a la distribución de las frecuencias genotípicas y alélicas del polimorfismo A668G del receptor de leptina, se encontraron frecuencias similares de los genotipos AA y AG (48%), siendo el alelo A (72%) el más frecuente, aunque no se encontraron diferencias cuando se compararon por grupos. Estos resultados son similares con los reportados en algunos trabajos realizados en México. En el estado de Chihuahua, se realizó un estudio en adolescentes de 12 a 16 años, y las frecuencias genotípicas que obtuvieron fueron: AA (47%), AG (44%) y GG (9%), y el alelo A (69%) fue el más frecuente (Reyes *et al.*, 2007). Sin embargo, en otros estudios como los realizados en Monterrey, Nuevo León, en niños de 6 a 12 años, las frecuencias genotípicas fueron diferentes a las encontradas en este estudio, ya que se obtuvo una frecuencia para el genotipo AA del 20%, AG 43% y GG 37%, y el alelo G fue el más frecuente con un 58% (Jiménez *et al.*, 2004). En otro estudio realizado en 100 niños regiomontanos, de 6 a 12 años, se obtuvieron frecuencias similares a las encontradas en el trabajo anterior (Jiménez *et al.*, 2007), pero al igual que en este trabajo, no se

encontraron diferencias significativas entre los niños con peso normal y los niños con obesidad.

En este estudio, se encontró que los niños con obesidad portadores de los genotipos 668AG+GG repiten su ración de comida, y presentan una mayor temperatura corporal. También se encontró asociación de los genotipos 668AG+GG con un mayor consumo de alimento y la repetición de comida en los niños portadores de estos genotipos, independientemente de su estado nutricional. Por lo que consideramos que estos genotipos si están relacionados con la ganancia de peso en nuestra población infantil, ya que la sustitución de A por G en la posición 668 del gen del receptor de leptina se ha relacionado con menor capacidad de señalización del receptor para inducir la saciedad estimulada por la leptina (Yiannakouris *et al.*, 2001). Sin embargo, este polimorfismo no se asoció con la obesidad ni con los niveles de leptina en los niños estudiados, como ha sido reportado por otros estudios, como el realizado en Grecia en 118 estudiantes de 16 a 19 años de edad, en donde el genotipo 668GG del gen del receptor de leptina se asoció con una mayor concentración de los niveles de la hormona ( $9.7 \pm 2.2$  ng/mL,  $p=0.04$ ), en comparación con los genotipos AA ( $7.2 \pm 0.9$  ng/mL) y AG ( $5.6 \pm 0.6$  ng/mL), y con el incremento en el IMC y con el porcentaje de grasa corporal ( $p=0.04$ ) (Yiannakouris *et al.*, 2001). Al igual que en nuestro estudio, en población francesa y australiana tampoco se encontró relación de este polimorfismo con el IMC (Gotoda *et al.*, 1997; De Silva *et al.*, 2001). Estos investigadores atribuyeron estas discrepancias al modelo o análisis estadístico empleado, y a las diferencias en la distribución de las frecuencias genotípicas por la influencia de la raza.

En cuanto al polimorfismo A19G del gen de leptina, no se obtuvieron diferencias significativas entre los grupos, y las frecuencias genotípicas fueron: AA (54%), AG (43%) y GG (3%), el alelo A fue el más frecuente con un 75%. Se conoce un reporte de un trabajo realizado en relación a este polimorfismo, en 101 individuos de población general adulta y 50 individuos con antecedentes familiares de diabetes, originarios de Monterrey, cuyas frecuencias encontradas fueron AA (29%), AG (47%) y GG (24%) para el grupo de población general, y en los

individuos con antecedentes de diabetes, fueron AA (18%), AG (58%) y GG (24%), encontrando que el alelo G fue el más frecuente en ambos grupos (López *et al.*, 2006). La diferencia observada se puede atribuir a los criterios de inclusión en cada trabajo, en este estudio se incluyeron niños sanos como grupo de comparación, y en el trabajo realizado por López *et al.*, incluyeron población general, lo que implica un estado de salud diferente y esto puede estar influyendo sobre la distribución de las frecuencias genotípicas encontradas.

En este trabajo, el polimorfismo A19G no se asoció significativamente con los niveles de leptina, pero los niños portadores del genotipo GG presentaron una menor concentración, como esta diferencia no es significativa no hay un efecto notable en el consumo de alimento y consecuentemente con la obesidad. Estos resultados coinciden parcialmente con lo reportado por otros estudios, como el realizado en Francia en adultos con obesidad mórbida, donde este polimorfismo se asoció con una menor concentración en los niveles de leptina en los portadores del genotipo GG ( $51.5 \pm 24$  ng/mL,  $p = 0.02$ ), ajustado por el IMC y género, en comparación con los genotipos AA ( $61.0 \pm 22.0$  ng/mL) y AG ( $60.0 \pm 26.0$  ng/mL), pero no encontraron asociación significativa con el IMC (Hager *et al.*, 1998). En estudios realizados en otros países como EE.UU e Italia, al igual que en este trabajo no encontraron asociación de este polimorfismo con la obesidad (Karvonen *et al.*, 1998; Lucantoni *et al.*, 2000).



## CONCLUSIONES

- Las frecuencias genotípicas en el total de niños estudiados para el polimorfismo A668G del receptor de leptina, fueron: AA (48%), AG (48%), y GG (4%) y para el polimorfismo A19G del gen de leptina fueron: AA (54%), AG (43%) y GG (3%).
- Los niños(as) con obesidad presentaron niveles más altos de leptina sérica en comparación con los de peso normal, y por género, las niñas con y sin obesidad presentan un incremento en las concentraciones séricas de leptina con respecto a los varones.
- Las concentraciones de leptina sérica presentaron una alta correlación con variables clínicas y somatométricas, como el IMC, circunferencia de cintura, de cadera, de brazo y con todos los pliegues cutáneos, así como con ambas presiones arteriales.
- Se encontró una fuerte relación entre la hiperleptinemia (leptina sérica > 9 ng/mL) y la obesidad.
- Los polimorfismos A668G y A19G no se asociaron con las concentraciones de leptina sérica en los niños con y sin obesidad.
- De los dos polimorfismos estudiados, solo el A668G en el gen de *lepr* se relacionó con el consumo abundante de alimento y la repetición de comida, lo que puede influir en la ganancia de peso en los niños escolares.

## REFERENCIAS

1. Ahima RS. Adipose tissue as an endocrine organ. *Obes* 2006; 14: 242S-249.
2. Atalah E, Urteaga R, Rebolledo A, Delfin S, Ramos R. Food consumption and physical activity patterns of school children from the Aysen Region. *Rev Chil Pediatr* 1999; 70(6).
3. Blüher S, Mantzoros CS. The role of leptin in regulating neuroendocrine function in humans. *J Nutr* 2004; 134: 2469S-247S.
4. Brunner L, Nick HP, Cumin F, Chiesi M, Baum HP, Whitebread, *et al.* Leptin is a physiologically important regulator of food intake. *Int Obes* 1997; 21 (12):1152-1160.
5. Cohen P, Zhao C, Cai X, Montez J, Rohani S, Feinstein P, *et al.* Selective deletion of leptin receptor in neurons leads to obesity. *J Clin Invest* 2001; 108: 1113-1121.
6. Chu NF, Wang DJ, Shieh SM, Rimm EB. Plasma leptin concentrations and obesity in relation to insulin resistance syndrome components among school children in Taiwan-The Taipei Children Heart Study. *Int J Obes* 2000; 24: 1265-1271.
7. Dubey S, Kabra M, Bajpai A, Pandey R, Hasan M, Gautam R. Serum Leptin Levels in Obese Indian Children: Relation to Clinical and Biochemical Parameters. *Indian Pediatrics* 2007; 44: 257-262.
8. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006: <http://www.insp.mx/ensanut/ensanut2006.pdf>, accesado el 3 de junio, 2008.
9. Fruhbeck G. Intracellular signal pathways activated by leptin. *Biochem J.* 2006; 393: 7-20.
10. Gao S, Kinzing K, Aja S, Scott K, Keung W, Kelly S, *et al.* Leptin activates hypothalamic acetyl-CoA carboxylase to inhibit food intake. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104 (44): 17358-17363.
11. Godínez S. ¿Cuáles son las bases moleculares de la obesidad?. *Endocrinol Nutr* 2004; 12 (4): S102-S108.
12. Gotoda T, Manning B, Goldstone A, Imrie H, Evans A, Strosberg A. Leptin receptor gene variation and obesity: lack of association in a white British male population. *Hum Mol Genet* 1997; 6 (6): 869-876.
13. Hager J, Clement K, Francke S, Dina C, Raison J, Lahlou N, *et al.* A polymorphism in the 5' untranslated region of the human ob gene is associated with low leptin levels. *Int J Obes* 1998; 20: 200-205.
14. Hassink S, Sheslow D, Lancey E, Opentanova I, Considine R, Caro J. Serum leptin in children with obesity: relationship to gender and development. *Pediatrics* 1996; 98 (2): 201-203.
15. Jiménez Z, Carrera L, Solís E, González B, Campos E. Asociación de los polimorfismos Q223R del gen del receptor de la leptina y del -866G/A del promotor del gen que codifica para la proteína ucp 2 con la resistencia a la insulina y el perfil

lipídico en niños con obesidad. 5<sup>to</sup> Congreso Internacional de nutriología y obesidad, 6 y 7 de julio de 2007, Monterrey N.L., México, Edición Especial No.15: 4-6.

16. Jiménez Z, Solís E, Carrera L, Mora M, Aguilar M, Campos E. Frecuencia del polimorfismo Q223R en el gen del receptor de leptina en una muestra de niños con obesidad en Monterrey N.L. 2<sup>do</sup> Congreso Internacional de nutriología y obesidad, 2 y 3 de julio de 2004, Edición Especial No. 7; Monterrey N.L., México: 64.
17. Körner A, Blüher S, Kapellen T, Garten A, Klammt J, Kratzsch J, *et al.* Obesity in childhood and adolescence: a review in the interface between adipocyte physiology and clinical challenges. *Horm* 2005; 4 (4): 192-202.
18. Leshan RL, Björnholm M, Münzberg H, Myers MG. Leptin receptor signaling and action in the central nervous system. *Obes* 2006; 14: 208S-212S.
19. Loaiza S, Atalah. Risk factors for obesity in school children of Punta Arenas. *Rev Chil Pediatr* 2006; 77(1): 20-26.
20. López M, Flores S, Ortiz A, Morán M, Troya R, García A, *et al.* Análisis de los polimorfismos A19G en el gen Lep, Glu 223 Arg y Pro 1019 Pro en el gen LERP en un grupo de hermandades con al menos un individuo con diabetes mellitus tipo 2. II Congreso Nacional de Medicina Genómica México D.F., 25 al 27 de octubre de 2006: 53-54.
21. Lucantoni R, Ponti E, Berselli M, Savia G, Minocci A, Calo G, *et al.* The A19G polymorphism in the 5' untranslated region of the human obese gene does not affect leptin levels in severely obese patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 3589-3591.
22. De Silva A, Walder K, Boyko E, Whitecross K, Nicholson G, Kotowicz M, *et al.* Genetic variation and obesity in Australian women: a prospective study. *Obes Res* 2001; 9 (12): 733-740.
23. Moraes SA, Beltrán J, Mondini L, Martins I. Prevalence of overweight and obesity, and associated factors in school children from urban area in Chilpancingo, Guerrero, México, 2004. *Cad Saúde Pública* 2006; 22 (6): 1289-1301.
24. Padez C, Fernandes T, Mourao I, Moreira P, Rosado V. Prevalence of overweight and obesity in 7-9-year-old Portuguese children: trends in body mass index from 1970-2002. *Hum Biol* 2004; 16: 670-678.
25. Paricchini V, Pedotti P, Taioli E. Genetics of Leptina and obesity: A HuGe review. *Am J Epidemiol* 2005; 162 (2): 101-114.
26. Pinto N, Marino B, Wernovsky G, De Ferranti S, Walsh A, Laronde M, *et al.* Obesity is common comorbidity in children with congenital and acquired heart disease. *Pediatr* 2007; 120 (5): 1157-1164.
27. Poletti O, Barrios L. Obesidad e hipertensión arterial en escolares de la ciudad de Corrientes, Argentina. *Arch Argent Pediatr* 2007; 105(4):293-298.
28. Poveda E, Callas N, Baracaldo C, Castillo C, Hernández P. Concentración sérica de leptina en población escolar de cinco departamentos del centro-oriente colombiano y su relación con parámetros antropométricos y perfil lipídico. *Biomed* 2007;27:505-514.

29. Reference data for children and adolescents, 5-19 years (or 61-228 months). 2007 WHO Reference: <http://www.who.int/growthref/en/>, accesado el 10 de enero, 2009.
30. Reyes G, Loya Y, Carrasco K. Determinación de Frecuencias Alélicas del Polimorfismo Gln223Arg del gen del receptor de la leptina en adolescentes obesos. *Memorias 2007*: 1-2.
31. Rosado E, Monteiro J, Chaia V, De Lago M. Efecto de la leptina en el tratamiento de la obesidad e influencia de la dieta en la secreción y acción de la hormona. *Nutr Hosp*. 2006; 21(6): 686-693.
32. Sánchez J. Perfil fisiológico de la leptina. *Colomb Med* 2005; 36: 50-59.
33. Skibola C, Holly E, Forrest M, Hubbard A, Bracci P, Skibola D, et al. Body mass index, leptina and leptina receptor polymorphisms, and non-hodgkin lymphoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13 (5): 79-786.
34. Thompson DB, Ravussin E, Bennett PH, Bogardus C. Structure and sequence variation at the human leptin receptor gene in lean and obese Pima Indians. *Hum Mol Genet* 1997; 6 (5): 675-679.
35. Togashi K, Masuda H, Rankinen, Tanaka S, Bouchard C, Kamiya H. A12-year follow-up study of treated obese children in Japan. *Int J Obes* 2002; 26: 770-777.
36. Trayhurn P, Bing Chen. Appetite and energy balance signals from adipocytes. *Phil Tran R Soc. B* 2006; 361: 1237-1249.
37. Vázquez-Vela M. Señalización de la leptina. *REB* 2006; 25 (1): 50-54.
38. Viso M, Solano L, Sánchez A, Portillo Z. Leptina sérica en niños y adolescentes venezolanos obesos y eutróficos. *Arch Latinoam Nutr* 2005; 55 (1): 1-8.
39. Yiannakouris N, Yannakoulia M, Melistas L, Chan J, Klimis D, Mantzoros C. The Q223R polymorphism of leptin receptor gene is significantly associated with obesity and predicts a small percentage of body weight and body composition variability. *The J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 4434-4439.