



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUERRERO**  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS  
FACULTAD DE MEDICINA  
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN ESPECIALIZADA EN MICROBIOLOGÍA

**MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS**

**“ADENOVIRUS 36 Y SU RELACIÓN CON OBESIDAD Y  
PERFIL METABÓLICO EN POBLACIÓN ADULTA DEL  
ESTADO DE GUERRERO”**

**T E S I S**

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

PRESENTA:

**JORGE ADALBERTO OCAMPO GALEANA**

DIRECTORA DE TESIS: Dra. ISELA PARRA ROJAS

CHILPANCINGO, GRO., DICIEMBRE DE 2017.




UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUERRERO  
UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS  
UNIDAD ACADÉMICA DE MEDICINA  
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN ESPECIALIZADA EN MICROBIOLOGÍA  
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

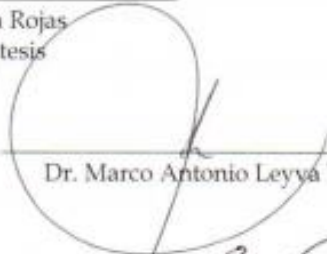
APROBACIÓN DE TESIS

En la ciudad de Chilpancingo, Guerrero, siendo los 03 días del mes de julio de dos mil quince, se reunieron los miembros del Comité Tutorial designado por la Academia de Posgrado de la Maestría en Ciencias Biomédicas, para examinar la tesis titulada "**Adenovirus 36 y su relación con obesidad y perfil metabólico en población adulta del estado de Guerrero**", presentada por el alumno Jorge Adalberto Ocampo Galeana, 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

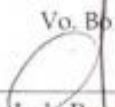
  
Dr. Oscar del Moral Hernández  
Codirección de tesis


  
Dr. Marco Antonio Leyva Vázquez

  
Dra. Iris Paola Guzmán Guzmán

  
Dr. José Guadalupe Soñanez Organista

Vo. Bo

  
Dra. Isela Parra Rojas  
Coordinadora del Posgrado de la Unidad  
Académica de Ciencias Químico Biológicas

  
Dra. Amalia Vences Velázquez  
Directora de la Unidad Académica de Ciencias  
Químico Biológicas

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Investigación en Obesidad y Diabetes, de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero, en Chilpancingo, Guerrero.

Bajo la dirección de la

Dra. Isela Parra Rojas

La Co-dirección del

Dr. Oscar del Moral Hernández

La asesoría de

Dr. José Guadalupe Soñanez Organis

Dra. Iris Paola Guzmán Guzmán

Dr. Marco Antonio Leyva Vázquez

## **A G R A D E C I M I E N T O S**

**Dra. Isela Parra Rojas**, le agradezco la oportunidad que me dio al brindarme su confianza para llevar a cabo este proyecto. Gracias por ser una excelente persona y maestra, por siempre tener una palabra de aliento, por impulsarme a seguir y por creer en mí cuando más lo necesité.

A mi comité tutorial (**Dr. Oscar del Moral Hernández, Dr. José Guadalupe Soñanez Organis, Dra. Iris Paola Guzmán Guzmán y Dr. Marco Antonio Leyva Vázquez**), gracias por sus aportaciones y constantes sugerencias para hacer de este un buen proyecto.

Al **Dr. Ramón González García-Conde**, le agradezco infinitamente su apoyo y valiosa colaboración.

A mis supervisores y a todos mis compañeros del Laboratorio de Investigación en Obesidad y Diabetes; y a todas aquellas personas que de alguna u otra manera contribuyeron en el desarrollo de este proyecto.

Gracias a todos por la paciencia y confianza puesta en mí y en este trabajo.

## **DEDICATORIAS**

### **A Dios**

Por permitirme gozar de salud y darme la fuerza necesaria día con día para culminar con este proyecto.

### **A mi familia**

Por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

### **A Anahí Tornos Reyes**

Por su cariño, apoyo y ánimo que me brinda día con día para alcanzar nuevas metas, tanto profesionales como personales.

### **A la Bióloga Paola Macedo Ramírez**

Gracias por apoyarme en este trayecto y otorgarme su valiosa amistad.

Todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos. ¡Gracias totales!

**ADENOVIRUS 36 Y SU RELACIÓN CON OBESIDAD Y  
PERFIL METABÓLICO EN POBLACIÓN ADULTA DEL  
ESTADO DE GUERRERO**

## ÍNDICE

<b>1. RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>2. ABSTRACT</b>	<b>2</b>
<b>3. INTRODUCCIÓN</b>	<b>3</b>
<b>4. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>8</b>
<b>5. RESULTADOS</b>	<b>14</b>
<b>6. DISCUSIÓN</b>	<b>19</b>
<b>7. CONCLUSIONES</b>	<b>23</b>
<b>8. REFERENCIAS</b>	<b>24</b>
<b>9. ANEXOS</b>	<b>27</b>

## 1. RESUMEN

La obesidad es una enfermedad crónica ocasionada principalmente por el sedentarismo, los malos hábitos alimenticios y la genética; que se caracteriza por el incremento de la masa de tejido adiposo como resultado de la excesiva acumulación de grasa en forma de triglicéridos que va más allá de los requerimientos físicos y se refleja con un aumento del peso corporal. Algunos agentes infecciosos han surgido como nuevos factores contribuyentes a esta enfermedad. Se ha observado que la presencia de Adenovirus 36 (AdV36) incrementa la adiposidad en pollos, ratones y primates; además de estar asociado con el desarrollo de la obesidad en humanos en diferentes poblaciones. Aunque la obesidad se considera de origen multifactorial, la relación con su probable origen viral no ha sido estudiada en la población mexicana, en comparación con los factores genéticos y de estilo de vida, que se han analizado en todas las poblaciones del mundo. Por lo tanto el objetivo del presente estudio fue analizar la asociación de adenovirus 36 con obesidad y alteraciones metabólicas en población adulta del estado de Guerrero. Métodos: Se reclutaron 200 personas adultas del estado de Guerrero entre 20 y 60 años de edad divididas en dos grupos: 100 personas con obesidad (casos) y 100 personas con normopeso (controles). A cada persona se le extrajo ADN por CTAB/DTAB, a partir de sangre total para detectar AdV36 por medio de PCR punto final y para evaluar el perfil de lípidos; una fracción del suero se destinó al análisis de ELISA AdV36. Para analizar los parámetros clínico-bioquímicos, se determinó el peso y la talla para obtener el índice de masa corporal (IMC). Resultados: Se detectó la presencia de anticuerpos contra AdV36 en 16 muestras de suero de un total de 180 seleccionadas para el Kit ELISA. Del total seropositivos, 10 tienen peso normal (62.5%) y 6 presentan obesidad (37.5%), mientras que 164 de las 180 muestras tipificadas por el Kit ELISA fueron seronegativos. Mediante PCR se detectó ADN del Adenovirus serotipo 36 en 92 muestras de pacientes captados en este estudio, de los cuales 62 son mujeres (67%) y 30 son hombres (33%). Del total positivos a la PCR, 44 tienen peso normal (48%) y 48 presentan obesidad (52%). Conclusión: No se encontró asociación de la seropositividad para AdV36 y la presencia del ADN del virus con la obesidad. Sin embargo; se observó que las personas seropositivas al AdV36 con y sin obesidad presentan una tendencia a un mejor perfil metabólico y menor presión arterial.



## 2. ABSTRACT

Obesity is a chronic disease caused mainly by a sedentary lifestyle, poor eating habits and genetics; which is characterized by an increase in the mass of adipose tissue as a result of the excessive accumulation of fat in the form of triglycerides that goes beyond the physical requirements and is reflected by an increase in body weight. Some infectious agents have emerged as new contributing factors to this disease. The presence of Adenovirus 36 (AdV36) has been shown to increase adiposity in chickens, mice and primates; in addition to being associated with the development of obesity in humans in different populations. Although obesity is considered to be of multifactorial origin, the relationship with its probable viral origin has not been studied in the Mexican population, compared to genetic and lifestyle factors, which have been analyzed in all populations of the world. Therefore, the objective of the present study was to analyze the association of adenovirus 36 with obesity and metabolic alterations in an adult population of the Guerrero state.

**Methods:** 200 adults from Guerrero state between 20 and 60 years old were divided into two groups: 100 people with obesity (cases) and 100 people with normal weight (controls). Each person DNA was extracted by CTAB / DTAB to detect AdV36 by PCR end point and to evaluate the lipid profile; a fraction of the serum was allocated the ELISA AdV36 assay. To analyze the clinical and biochemical parameters, weight and height were determined to obtain the body mass index (BMI). **Results:** The presence of antibodies against AdV36 was detected in 16 serum samples from a total of 180 selected for the ELISA Kit. Of the total seropositive, 10 had normal weight (62.5%) and 6 presented obesity (37.5%), while 164 of the 180 samples typified by the ELISA Kit were seronegative. Through PCR, Adenovirus serotype 36 DNA was detected in 92 samples of patients captured in this study, of which 62 were women (67%) and 30 were men (33%). Of the total PCR positive, 44 had normal weight (48%) and 48 had obesity (52%). **Conclusion:** No association was found between seropositivity for AdV36 and the presence of virus DNA with obesity. Nevertheless; It was observed that people seropositive to AdV36 with and without obesity tend to a better metabolic profile and lower blood pressure.

### 3. INTRODUCCIÓN

La obesidad es una enfermedad crónica de etiología multifactorial que se caracteriza por el incremento de la masa de tejido adiposo como resultado de la excesiva acumulación de grasa en forma de triglicéridos que va más allá de los requerimientos físicos (Sikaris, 2007) y se refleja con un aumento del peso corporal. La obesidad, se origina por el aporte excesivo de energía a través de los alimentos, comparado con el gasto energético de la actividad física (Fernández *et. al.*, 2011). Sin embargo, existen otros factores de riesgo además de los hábitos alimenticios como la edad, género, nivel socioeconómico, herencia, sedentarismo, tabaquismo y enfermedades concomitantes aunadas a la obesidad (Sikaris, 2007). La Organización Mundial de la Salud (OMS) la define como el índice de masa corporal (IMC)  $>30 \text{ kg/m}^2$  (Fernández *et. al.*, 2011; Sikaris, 2007).

El sobrepeso y la obesidad son el 5° factor de riesgo de mortalidad en el mundo, ocasionando alrededor de 2,8 millones de muertes por año (WHO, 2010). En el estado de Guerrero, la SSA en el 2012 reportó la prevalencia de obesidad y sobrepeso, observando mayor prevalencia en hombres (64.8%) en comparación con las mujeres (59.4%). Actualmente, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) en el 2016, reportó cifras más altas en mujeres, paso de 71.2% en 2012 a 72.5% en 2016 a nivel nacional. Actualmente, se considera a la obesidad como un problema de salud pública, que disminuye el promedio de vida y favorece el desarrollo de enfermedades de tipo cardiovascular y padecimientos crónico degenerativos en las personas que la presentan, tales como la diabetes, hipertensión, insuficiencia renal, hepatopatías, alteraciones lipídicas como la hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia y algunos tipos de cáncer, entre otras (Díaz-Flores *et. al.*, 2004).

Actualmente, se ha reportado la presencia de infecciones por adenovirus en personas obesas por lo que se ha relacionado con el desarrollo de la obesidad en diferentes poblaciones; sin embargo, no todos los serotipos de adenovirus que infectan a humanos ocasionan obesidad (Greenway, 2006).

Estudios recientes demuestran que la presencia de Adenovirus 36 (AdV36) incrementa la adiposidad en pollos, ratones y primates y está asociado con la obesidad en humanos (Greenway, 2006; Goossens *et. al.*, 2011; Dhurandhar<sup>b</sup> 2001; Dhurandhar *et. al.*, 2001; Dhurandhar *et. al.*, 2002; Rathod *et. al.*, 2007; Dhurandhar *et. al.*, 2000; Vangipuram *et. al.*, 2004).

En un estudio longitudinal realizado en monos (Dhurandhar *et. al.*, 2002), se observó un aumento del 15% de peso corporal y una reducción del 29% del colesterol sérico, después de la infección natural por AdV36 (Yamada *et. al.*, 2012). Además, en un modelo murino, se encontró un aumento en el contenido de lípidos de las células adiposas, mediante la promoción de la absorción de los ácidos grasos y glucosa, por estimulación de la lipogénesis *de novo* (Vangipuram *et. al.*, 2007; Rogers *et. al.*, 2008). Aunado a esto, la obesidad por sí sola, se asocia con un perfil metabólico alterado, incluyendo mayor adipogénesis, disminución de la sintasa de ácidos grasos (FAS) y adiponectina, y el aumento de la secreción de citocinas inflamatorias. Consecuentemente, esto contribuye a un aumento de la resistencia a la insulina y una reducción en la captación de glucosa por el tejido (Bastard *et. al.*, 2004; Capeau *et. al.*, 2005; Oh *et. al.*, 2007; Ranganathan *et. al.*, 2006). Sin la estimulación de insulina, AdV36 es capaz de regular la expresión de adiponectina, la FAS y la reducción de la expresión de citocinas pro-inflamatorias, como la proteína quimioatrayente de monocitos-1 dependiente de fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3K), así como la expresión de varios genes proadipogénicos e incluso no es necesaria la unión de la insulina a su receptor para activar la vía de PI3K debido a la interacción del AdV36 con la célula. (Rogers *et. al.*, 2007).

Además, la infección natural por AdV36 en sujetos diabéticos y no diabéticos se ha asociado significativamente con niveles más bajos de hemoglobina glicosilada (HbA1c) y glucosa en ayuno (Rogers *et. al.*, 2008). Por otra parte, un estudio realizado en preadipocitos humanos y de roedores, reveló que el AdV36 regula positivamente la expresión de PPAR $\gamma$ 2 e induce la diferenciación y lipogénesis. De manera similar, se ha observado que aumenta la captación de glucosa en adipocitos de rata, incluso en ausencia de insulina, lo que posiblemente contribuye

a su efecto sensibilizante a la insulina (Vangipuram *et. al.*, 2004; Vangipuram *et. al.*, 2007; Rathod *et. al.*, 2006; Rathod *et. al.*, 2007; Rogers *et. al.*, 2007). También, se ha visto que la presencia de AdV36 disminuye los niveles séricos de colesterol y triglicéridos en modelos animales pero incrementa la diferenciación de adipocitos y la acumulación de triglicéridos en células 3T3-L1 *in vitro* (Whigham *et. al.*, 2005).

Por otro lado, un meta-análisis de 10 estudios de todo el mundo demostró que la infección por AdV36 se asocia con el riesgo de obesidad y el aumento del IMC estimado de 3,19 kg/m<sup>2</sup>, pero no se asoció con marcadores metabólicos anormales ni con circunferencia de cintura. Se sugiere que la infección por AdV36 está más asociado con la acumulación de grasa subcutánea que la de la grasa visceral (Yamada *et. al.*, 2012).

Diversos estudios muestran que existe una regulación marcada de la diferenciación de adipocitos inducida por AdV36. En humanos, los anticuerpos séricos contra AdV36 están asociados con obesidad y niveles más bajos de colesterol y triglicéridos, además que en la adiposidad inducida por AdV36 en animales hay hiperplasia e hipertrofia (Dhurandhar *et. al.*, 2002; Whigham *et. al.*, 2005).

Las personas obesas tienen una mayor prevalencia de anticuerpos séricos neutralizantes contra AdV36 (30%) que las delgadas (11%); asimismo, los sujetos obesos en comparación con los no obesos con anticuerpos positivos para AdV36 poseen un incremento en peso y talla (Atkinson *et. al.*, 2005).

Diversos mecanismos han sido postulados para explicar la asociación entre la infección por AdV36 y la obesidad. Los resultados de investigaciones *in vivo* e *in vitro*, han revelado que la infección por AdV36 acelera la diferenciación de preadipocitos en adipocitos y mayor proliferación, en estudios de células 3T3-L1 y preadipocitos humanos (Dhurandhar *et. al.*, 2000, Dhurandhar *et. al.*, 2001; Dhurandhar *et. al.*, 2002; Pasarica *et. al.*, 2006; Vangipuram *et. al.*, 2004). La infección por AdV36 también eleva los niveles de lípidos en los adipocitos mediante la promoción del consumo de alimentos ricos en grasas y carbohidratos,

lo cual estimula la lipogénesis de *novo* (Yamada *et. al.*, 2012; Gibbert *et. al.*, 2010).

En otro estudio, se realizaron cuatro experimentos de forma separada; en el que pollos y ratones fueron inoculados con AdV36. Estos animales presentaron aumento del tejido adiposo y bajos niveles séricos de colesterol y triglicéridos (Dhurandhar *et. al.*, 2000).

Cabe mencionar que el Adenovirus 36 (AdV36) no reacciona de forma cruzada con la mayoría de otros adenovirus humanos, por lo tanto, es antigénicamente único (Dhurandhar<sup>b</sup>, 2001).

Existen diversos serotipos de AdV36 que tienen preferencia por regiones específicas de la célula diana, dependiendo de la presencia o ausencia de receptores particulares del virus (Jefrey *et. al.*, 2010).

La evidencia de que el AdV36 juega un papel importante en la obesidad humana por la estimulación de la diferenciación de adipocitos, es cada vez mayor. Algunos estudios recientes han mostrado que la infección por AdV36 incrementa la adiposidad en muchos modelos animales incluyendo monos típies, ratas, ratones y pollos (Dhurandhar *et. al.*, 2000; Dhurandhar *et. al.*, 2001; Dhurandhar *et. al.*, 2002; Pasarica *et. al.*, 2006).

Un estudio realizado por Dhurandhar<sup>b</sup> (2001) en muestras de suero humano obtenidas de pacientes obesos (IMC  $\geq$  27 kg/m<sup>2</sup>) y no obesos procedentes de Wisconsin, Florida y Nueva York, fueron examinados para detectar la presencia de anticuerpos contra AdV36, usando ensayos de neutralización en suero. Los resultados muestran que la prevalencia de anticuerpos contra AdV36 fue del 30% para los sujetos obesos y del 5% para los no obesos. Los sujetos obesos con anticuerpos positivos tenían niveles más bajos de colesterol en suero, que los sujetos obesos sin anticuerpos contra AdV36.

Otros estudios como el realizado por Cousin et al (1999), mostraron que los preadipocitos funcionan como macrófagos y poseen actividad fagocítica y microbicida, observando que los adipocitos también participan en la respuesta inmune. Aunado a esto, hay estudios que muestran la asociación de la obesidad

con la presencia de un estado de inflamación crónica. Duncan y colaboradores (2000), mostraron que los marcadores de la inflamación pueden predecir el aumento de peso en los adultos de mediana edad. En este estudio se realizó un seguimiento de más de 13,000 individuos, entre ellos hombres y mujeres los cuales mostraron un aumento de peso considerable (> percentil 90) en presencia de marcadores de inflamación como fibrinógeno basal, por lo que se sugiere que un proceso de respuesta inflamatoria leve juega un papel importante en la estimulación de la ganancia de peso.

También se ha determinado que las personas obesas tienen mayor prevalencia de anticuerpos séricos neutralizantes para AdV36 (30%) que los delgados (11%) y los obesos positivos al anticuerpo o sujetos no obesos son más pesados comparados con sus homólogos de anticuerpos negativos (Greenway, 2006).

En un estudio reciente, Parra-Rojas y colaboradores (2013), evaluaron la asociación de los anticuerpos positivos para AdV36 con obesidad y perfil metabólico en niños mexicanos, observando que la seropositividad para AdV36 tuvo una mayor prevalencia en niños obesos que en el grupo de niños con normopeso. Además, observó que el grupo seropositivo tuvo un mayor riesgo de tener anomalías metabólicas comparadas con aquellos niños sin ninguna alteración.

Aunque la obesidad se considera de origen multifactorial, la relación con su probable origen viral no ha sido estudiada en la población mexicana, en comparación con los factores genéticos y de estilo de vida, que se han analizado en todas las poblaciones del mundo. Con este proyecto se pretende demostrar que el AdV36 puede ser un factor de riesgo para la obesidad en adultos, por el aumento en la seropositividad a los anticuerpos específicos para AdV36 y mediante la detección del DNA viral, además de que las personas seropositivas pueden presentar mayor riesgo de desarrollar alteraciones metabólicas. Con este trabajo se pretende determinar si existe la presencia del DNA de AdV36 y si existe asociación con el desarrollo de la obesidad y sus comorbilidades en la población adulta del estado de Guerrero.

## 4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1. SELECCIÓN DE LOS PARTICIPANTES

El estudio se realizó en el Laboratorio de Investigación en Obesidad y Diabetes, de la Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas, de la Universidad Autónoma de Guerrero. Se reclutaron 200 personas adultas del estado de Guerrero en Centros de Salud y unidades deportivas de la Capital, entre 20 y 60 años de edad. Se integraron dos grupos: 100 personas con obesidad (casos) con un IMC  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup> y 100 personas con normopeso (controles) con un IMC  $< 25$  kg/m<sup>2</sup>, manteniendo la confidencialidad de los datos de las personas incluidas en este estudio.

**4.1.1 Criterios de exclusión:** Se excluyeron mujeres embarazadas, aquellas personas con tratamiento de reducción de peso, personas que se hayan sometido a tratamiento para disminuir los niveles de lípidos y glucosa, personas que hayan presentado alguna enfermedad inflamatoria aguda o crónica, pacientes con medicación con antivirales y muestras en donde el ADN o el suero hayan sido insuficientes.

**4.1.2 Criterios de eliminación:** Se eliminaron aquellas muestras de sangre lipémicas, hemolizadas o insuficientes y resultados de laboratorio incompletos. Además de aquellos individuos que no cumplieron con los requerimientos básicos para este estudio, como la encuesta y la toma de muestra.

### 4.2. CAPTACIÓN DE PACIENTES

Por medio de una carta de consentimiento informado (*Anexo 1*) se les especifico a los pacientes acerca del estudio y su participación en él. Además, se les aplicó una encuesta (*Anexo 2*) para obtener datos como antecedentes clínicos, hábitos alimenticios, estilo de vida, e información socio-demográfica y se tomaron las medidas antropométricas detalladas en el punto 2.4. Aquellos individuos que cumplieron con los criterios de selección se les citó para la toma de muestra.

### **4.3 TOMA Y OBTENCIÓN DE MUESTRA SANGUÍNEA**

Se realizó la venopunción con el sistema Vacutainer ya que es una maniobra no invasiva de obtención de células y fluido extracelular del cuerpo para su análisis.

Se extrajeron dos tubos a cada persona; el primero con EDTA para realizar la extracción de ADN a partir de sangre total y el segundo tubo sin anticoagulante para el análisis del perfil de lípidos y destinar una fracción del suero para llevar a cabo el análisis de ELISA AdV36. Las alícuotas fueron guardadas a -4°C en tubos eppendorf de 1.5 ml hasta su uso.

Para garantizar una buena obtención de muestra se verificaron todos los elementos técnicos para su recolección (ligadura, algodón, alcohol, tubos y el sistema Vacutainer); así como la identificación correcta del paciente y la verificación de los requisitos necesarios para el examen (criterios de inclusión y exclusión).

### **4.4 CONSIDERACIONES ÉTICAS Y BIOSEGURIDAD**

Las muestras fueron captadas manteniendo la confidencialidad de los datos de las personas incluidas en el estudio y de los resultados obtenidos.

Los residuos peligrosos biológicos infecciosos generados durante el estudio se trataron de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección Ambiental-Salud Ambiental-Residuos Peligrosos Biológico-Infecciosos, clasificación y especificaciones de manejo.

La investigación se realizó con apego a las consideraciones éticas marcadas en la Ley General de Salud de México y las internacionales acordadas en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, actualmente vigentes.



#### **4.5. PARÁMETROS CLÍNICO-BIOQUÍMICOS**

Para analizar los parámetros clínico-antropométricos y bioquímicos, se determinó el peso y la talla para obtener el índice de masa corporal (IMC). El peso se midió con la báscula de precisión TANITA IROMAN™ BC-553, para lo cual el individuo estuvo de pie, descalzo y con ropa mínima. La talla se midió con un estadímetro portátil SECA BM-214. La circunferencia de cintura, de cadera y de brazo se midieron con una cinta métrica SECA 203. La presión arterial sistólica y diastólica se midió en un monitor de presión arterial automático de brazo OMRON. Las mediciones de glucosa, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL y triglicéridos (perfil metabólico) se realizaron en el espectrofotómetro SPIN REACT.

#### **4.6 EXTRACCIÓN DE ADN**

A partir de los tubos de tapón morado con EDTA de las personas que cumplieron con los criterios de selección, se realizó la extracción del ADN. Existen diferentes protocolos para la extracción de los ácidos nucleicos. La mayoría se caracteriza por el empleo de detergentes y solventes orgánicos que rompen los núcleos de las células y remueven las proteínas adheridas al ADN, seguidos por la precipitación de éste con sales y alcoholes. De esta manera son utilizados en la amplificación *in vitro* por medio de la PCR. En este trabajo se utilizó el método de extracción de ADN por CTAB/DTAB, método rápido de extracción de ADN partiendo de poco material biológico. Se basa en el empleo de dos detergentes, bromuro de dodecil trimetil amonio (DTAB) y bromuro de hexadecil trimetil amonio (CTAB). El DTAB lisa las células blanco y el CTAB, detergente catiónico, se une al ADN para precipitarlo.

##### **4.6.1 CUANTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DE PUREZA DE ADN**

La pureza del ADN se determinó por espectrofotometría, para ello se debe obtener su densidad óptica. De esta forma, si la relación de D.O. a 260 y 280 nm es mayor de 1.7 el DNA tiene una pureza adecuada, mientras que si es inferior a 1.7, esto indica contaminación de la muestra, principalmente por proteínas.

En la determinación de la concentración de ADN ya sea en el equipo automatizado o en el espectrofotómetro tradicional se debe tomar en cuenta la siguiente fórmula:  
 $\text{ng}/\mu\text{L de ADN} = (\text{FD}) (50) (\text{D.O.}260\text{nm})$ .

Dónde: FD (Factor de Dilución) = volumen total / volumen de muestra.

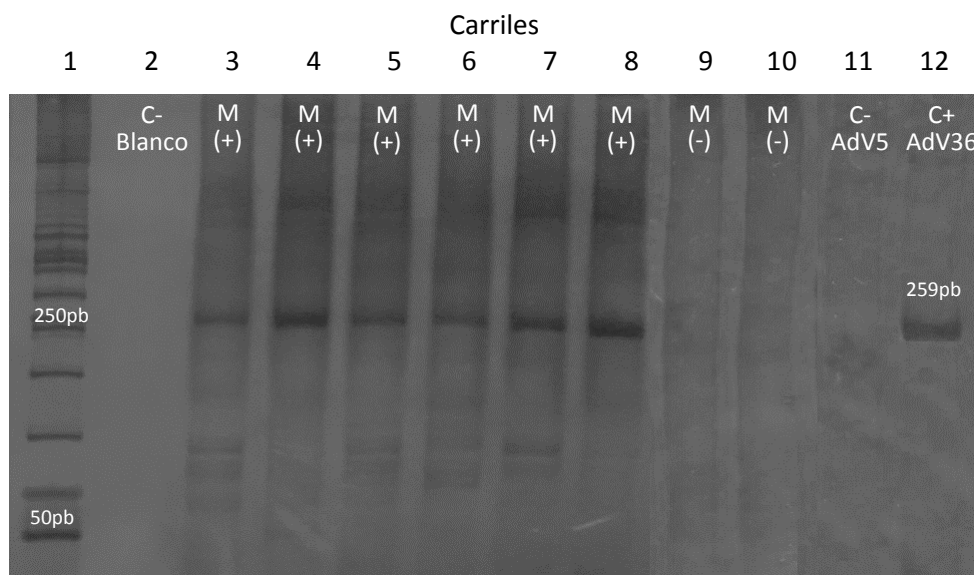
50 = 1D.O. = 50 $\mu\text{L}/\text{mL}$  de ADN de doble hebra.

#### **4.7 REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR)**

La PCR es un método de síntesis *in vitro* de ácidos nucleicos, por medio de la cual un segmento de ácido nucleico específico, es amplificado. Esta metodología involucra iniciadores (oligonucleótidos) que flanquean el fragmento que será amplificado, así como ciclos repetidos de desnaturalización para separar la doble hebra de ADN, seguido del alineamiento o apareamiento de los iniciadores a sus secuencias complementarias en las hebras de ADN blanco, y la extensión o polimerización de los iniciadores alineados mediante la ADN *Taq* polimerasa.

Se realizó la estandarización de la PCR punto final, con los iniciadores diseñados específicamente para la detección de AdV36 (usando el programa ClustalX 2.1 para el alineamiento de las secuencias del hexon de los Adenovirus del grupo D) y se validó la técnica mediante el uso de ADN de Adenovirus-36 y Adenovirus-5 extraídos a partir de cultivo celular, proporcionado por el Dr. Ramón González García-Conde del Laboratorio de Virología Molecular de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM).

Una vez concluida la estandarización, se realizó la tipificación de las 200 muestras de ADN mediante la técnica de PCR (*Anexo 3*) en las 200 muestras incluidas. En la tabla 1 y 2 (*Anexo 3*) se muestran las concentraciones y condiciones de PCR utilizadas para la detección de AdV36. En la Figura 1, se visualiza un gel de poliacrilamida al 8% teñido con plata y los productos de la PCR, usando como control positivo ADN de AdV36 y como control negativo ADN de AdV5.

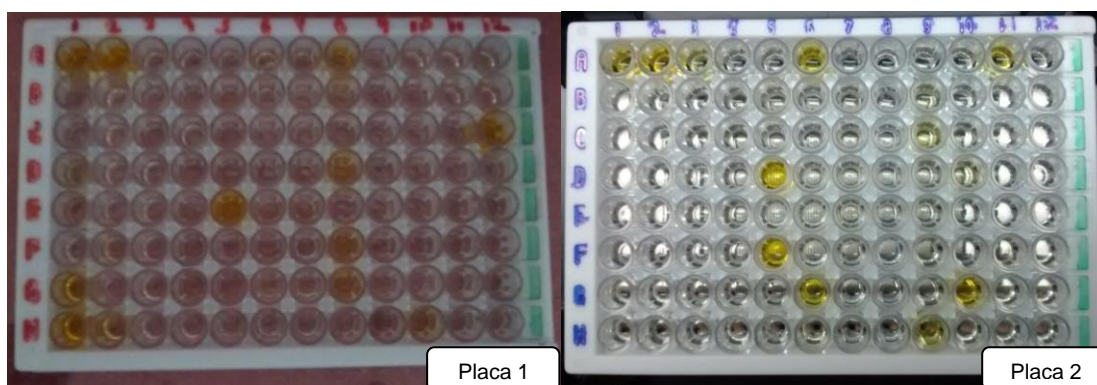


**Figura 1.** Detección de AdV36 en muestras de ADN extraído por el método DTAB/CTAB en sangre total de pacientes captados en este estudio (Gel de Poliacrilamida al 8%, corrimiento a 80V). En esta imagen se observan las bandas de 259pb, indicando la amplificación de AdV36 en aquellas muestras positivas (carriles del 3 al 8) y no amplificación en las muestras negativas (carriles 9 y 10). Para la validación de este ensayo, se utilizó ADN de AdV5 para el control negativo (carril 11) y ADN de AdV36 para el control positivo (carril 12). Cabe mencionar que, entre las muestras positivas, el grosor de las bandas de amplificación difiere unas de otras, debido posiblemente a la carga viral contenido en cada una de las muestras.

#### 4.8 ENSAYO POR INMUNOABSORCIÓN LIGADO A ENZIMA (ELISA)

Se utilizó el Human Adenovirus 36 (HAdV-36) ELISA Kit de abbexa (Catalog No: abx51985) para la detección cualitativa de HAdV-36 en suero o plasma. Este kit está basado en un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima de tipo ELISA. El anticuerpo Anti-HAdV-36 está pre-cubierto sobre la placa de 96 pocillos. Un anticuerpo anti-HAdV-36 conjugado a HRP es usado como un anticuerpo de detección. Los estándares, las muestras de prueba y la detección de anticuerpo conjugado a HRP se adicionan a los pocillos y posteriormente se lavan con el buffer. El sustrato TMB se usa para visualizar la reacción enzimática de HRP. TMB es catalizado por HRP para producir un producto de color azul que cambia a color amarillo después de la adición de la solución ácida de paro. La densidad del color amarillo es proporcional a la cantidad de HAdV-36 de la muestra capturada en la placa. La absorbancia es medida espectrofotométricamente a 450 nm en una microplaca.

De 200 muestras de suero disponibles, se seleccionaron 180 para la tipificación de la seropositividad a AdV36 (90 muestras por placa), de las cuales 90 sueros fueron de personas con normopeso y 90 de personas con obesidad. Uno de los criterios de selección más importantes fue el evitar aquellas muestras de suero hemolizados.



**Figura 2.** Placas ELISA Kit HAdV-36. En la imagen se observan las dos placas correspondientes a las 180 muestras tipificadas con ELISA kit HAdV-36. La densidad del color amarillo es proporcional a la cantidad de HAdV-36 de la muestra capturada en la placa. En los pocillos A1 Y A2 se encuentran los controles positivos, en los pocillos B1 y B2 están los controles negativos y en los pocillos C1 y C2 se localizan los blancos.

#### 4.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó el programa estadístico STATA (V.12.0). Se analizaron todos los parámetros clínicos bioquímicos respecto a ambos grupos de estudio y de acuerdo al género. Las diferencias en las características entre grupos fueron evaluadas usando la *t* de Student para las variables paramétricas y la prueba de Mann-Whitney para las variables no paramétricas. Se analizó la asociación de la seropositividad de AdV36 con alteraciones metabólicas, así como la positividad a la PCR. Una  $p < 0.05$  se consideró estadísticamente significativa.

## 5. RESULTADOS

En el presente estudio se evaluaron 200 personas adultas de ambos sexos y con edades entre 20 y 60 años, originarios del Estado de Guerrero, de los cuales el 65% fueron del género femenino y el 35% masculino. Así mismo, se estratificaron en dos grupos; 100 adultos con obesidad y 100 adultos con normopeso. Al comparar los parámetros clínico-bioquímicos en ambos grupos, se observaron diferencias significativas en edad y género. Además, en el grupo con obesidad se presentan mayores medidas antropométricas y bioquímicas en comparación con el grupo con peso normal, a excepción de los niveles de colesterol y HDL (Tabla 3).

Tabla 3. Características clínicas y bioquímicas por grupos de estudio.

Variables	Total n=200	Peso normal n=100	Obesidad n=100	Valor p
Edad*	36 (20-56)	29 (20-55)	41 (23-57)	<b>&lt;0.001</b>
Género <sup>o</sup>				<b>0.001</b>
Femenino	130(65)	54(54)	76(76)	
Masculino	70(35)	46(46)	24(24)	
Peso*	68.7(47.8-101.7)	57.2 (44.2-72.9)	81.3(65-108)	<b>&lt;0.001</b>
Talla (cm)*	157(144-175)	159 (145-176)	155(143-175)	<b>0.007</b>
IMC (kg/m <sup>2</sup> )*	27.5 (19.8-39.3)	22.6 (19.3-24.8)	32.8(30.5-42)	<b>&lt;0.001</b>
Circunferencia de cintura (cm)*	93.5(73.3-117.5)	83(72-93)	105 (94-125.1)	<b>&lt;0.001</b>
Circunferencia de cadera (cm)*	104(88.7-125)	96(88-103)	113 (104-131.5)	<b>&lt;0.001</b>
Circunferencia de brazo (cm)*	29(24-38.5)	26.5(23.3-30.3)	33(28.5-39)	<b>&lt;0.001</b>
Masa grasa (%)*	30.6(13.3-47.5)	20.9(11.6-31.3)	40.4(29.5-50.5)	<b>&lt;0.001</b>
Masa grasa (kg)*	21.3(7.7-46.2)	12.2(5.7-17.9)	32.1(23.3-52.1)	<b>&lt;0.001</b>
Masa magra (kg)*	46.1(37.2-64.1)	42.4(35.4-58.9)	46.8(39.8-67.9)	<b>&lt;0.001</b>
PA sistólica (mmHg)*	112(93-143)	105(92-126)	119(100-146)	<b>&lt;0.001</b>
PA diastólica (mmHg)*	69(57-90)	65(54-82)	75(60-92)	<b>&lt;0.001</b>
Glucosa (mg/dL)*	89(72-118)	85(71-104)	93(74-136)	<b>&lt;0.001</b>
Colesterol (mg/dL)*	172(115-259)	173(112-250)	172(120-264)	0.520
Triglicéridos (mg/dL)*	123(55-260)	99(52-234)	137(63-289)	<b>&lt;0.001</b>
LDL (mg/dL)*	113(67-165)	108(67-163)	120(68-167)	<b>0.048</b>
HDL (mg/dL)*	50(35-62)	51(34-75)	49(35-62)	0.09

<sup>o</sup>Datos proporcionados por n y porcentajes. Prueba de X<sup>2</sup>. \*Datos proporcionados en medianas (p5-p95). Prueba de Mann-Whitney.

De las 200 personas captadas, 180 se tipificaron por ELISA para la detección de Ab contra AdV36, dando como resultado 16 muestras positivas, 10 del sexo femenino y 6 masculino. Al comparar los parámetros clínico-bioquímicos en ambos grupos, se observaron diferencias significativas en edad, talla e IMC. Cabe mencionar que el grupo seropositivo presentó una mediana de 24 años de edad, siendo más jóvenes que el grupo seronegativo, además de presentar normopeso (Tabla 4).

Tabla 4. Características clínicas y bioquímicas de acuerdo a la seropositividad a AdV36 tipificados por ELISA.

Variables	Total n=180	Seronegativo AdV36 n=164	Seropositivo AdV36 n= 16	Valor de p
Edad*	34(21-55)	36(21-55)	24(20-47)	<b>0.003</b>
Género <sup>o</sup>				
Femenino	118(65.6)	108(65.9)	10(62.5)	0.79
Masculino	62(34.4)	56(34.1)	6(37.5)	
Peso*	68.7(47.8-101.2)	68.8(47.4-100.8)	59.2(48.2-107.2)	0.30
Talla (cm)*	157(144-176)	156(144-175)	161(152-179)	<b>0.049</b>
IMC (kg/m <sup>2</sup> )*	27.5(20-38.9)	30.1(20.8-39.1)	22.8(18.6-36.5)	<b>0.048</b>
Circunferencia de cintura (cm)*	93(73-117)	94 (74-118)	88(71-115)	0.25
Circunferencia de cadera (cm)*	104(89-125)	104(89-125)	99(88-124)	0.23
Circunferencia de brazo (cm)*	29(24-39)	30(24-38)	27(24-39)	0.095
Masa grasa (%)*	30.7(14.3-47.4)	31.3(14.3-47.4)	24.9(10.8-47.3)	0.18
Masa grasa(kg)*	21.3(8.1-45.2)	21.8(8.1-45.2)	13.3(5.7-42.5)	0.21
Masa magra(kg)*	45.9(37.2-64.1)	45.8(37.2-64)	47.2(37.6-71.1)	0.92
PA sistólica (mmHg)*	112(93-143)	112(93-143)	107(83-130)	0.23
PA diastólica (mmHg)*	69(57-90)	70(57-90)	68(56-84)	0.34
Glucosa (mg/dL)*	89(72-119)	90(72-119)	83(67-97)	0.056
Colesterol (mg/dL)*	172(115-260)	173(116-258)	160(113-268)	0.42
Triglicéridos (mg/dL)*	123(55-263)	124(55-265)	92(55-259)	0.15
LDL (mg/dL)*	111(67-167)	112(67-168)	104(56-165)	0.30
HDL (mg/dL)*	49(34-62)	49(35-61)	55(33-62)	0.08
Grupo <sup>o</sup>				0.56
Peso normal (18.5-24.9 kg/m <sup>2</sup> )	90(50.0)	80(48.8)	10(62.5)	
Obesidad I (30-34.9 kg/m <sup>2</sup> )	66(36.7)	62(37.8)	4(25.0)	
Obesidad II (35-39.9 kg/m <sup>2</sup> )	17(9.4)	15(9.1)	2(12.5)	
Obesidad III (≥40 kg/m <sup>2</sup> )	7 (3.9)	7(4.3)	0(0)	

<sup>o</sup>Datos proporcionados por n y porcentajes. Prueba de X<sup>2</sup>. \*Datos proporcionados en medianas (p5-p95). Prueba de Mann-Whitney.

Al analizar la seropositividad a AdV36 tipificados por ELISA respecto a las alteraciones metabólicas, se observó una asociación de menor riesgo entre las variables; sin embargo, se observó que de las 16 muestras positivas, el 75% presentaron obesidad abdominal, 94% con presión arterial <130/85 mmHg, 100% con glucosa <100 mg/dL, 75% con Triglicéridos <150 mg/dL, 69% con HDL-c  $\geq$ 40 mg/dL, 62.5% con LDL-C  $\geq$ 100 mg/dL y el 75% con Colesterol <200 mg/dL (Tabla 5).

Tabla 5. Seropositividad a AdV36 tipificados por ELISA con alteraciones metabólicas.

Características	Total (n=180)	Seronegativo Ad-36 n=164 (%)	Seropositivo Ad-36 n=16 (%)	Valor <i>p</i>	OR (IC95%)	Valor <i>p</i>	OR (IC95%)*	Valor <i>p</i>
<b>Obesidad abdominal</b>				0.80				
No	50(28)	46(28)	4(25)		1		1	
Si	130(72)	118(72)	12(75)		1.2(0.36-3.8)	0.80	2.5(0.67-9.6)	0.17
<b>Presión arterial</b>				0.26				
<130/85 mmHg	151(84)	136(83)	15(94)		1		1	
$\geq$ 130/85 mmHg	29(16)	28(17)	1(6)		0.32(0.04-2.6)	0.28	0.68 (0.1-5.9)	0.73
<b>Glucosa</b>				0.06				
<100 mg/dL	149(83)	133(81)	16(100)		-		-	
$\geq$ 100 mg/dL	31(17)	31(19)	0(0)		-	-	-	-
<b>Triglicéridos</b>				0.49				
<150 mg/dL	121(67)	109(66)	12(75)		1		1	
$\geq$ 150 mg/dL	59(33)	55(34)	4(25)		0.66(0.2-2.1)	0.49	0.63 (0.2-2.2)	0.47
<b>HDL-C</b>				0.40				
$\geq$ 40 mg/dL	106(59)	95(58)	11(69)		1		1	
<40 mg/dL	74(41)	69(42)	5(31)		0.63 (0.21-1.9)	0.40	0.58(0.18-1.9)	0.37
<b>LDL-C</b>				0.94				
<100 mg/dL	66(37)	60(37)	6(37.5)		1		1	
$\geq$ 100 mg/dL	114(63)	104(63)	10(62.5)		0.96 (0.33-2.8)	0.94	1.1(0.37-3.2)	0.89
<b>Colesterol</b>				0.92				
<200 mg/dL	133(74)	121(74)	12(75)		1		1	
$\geq$ 200 mg/dL	47(26)	43(26)	4(25)		0.94(0.29-3.1)	0.92	0.81(0.24-2.7)	0.74

\*Regresión logística ajustada por edad y sexo.

Posterior a la serotipificación de AdV36 por ELISA, se realizó la tipificación de AdV36 mediante PCR. Del total de muestras analizadas, 92 fueron positivas a AdV36. Al analizar las características clínicas y bioquímicas de acuerdo a la seropositividad al virus por PCR, no se observó una significancia estadística entre las variables, a excepción de la PA sistólica (mmHg). Cabe mencionar que en el grupo seropositivo a la PCR, se observó una mayor frecuencia a tener peso normal y ser del sexo femenino (67%) (Tabla 6).

Tabla 6. Características clínicas y bioquímicas de acuerdo a la seropositividad a AdV36 tipificados por PCR.

Variables	Total n=200	Seronegativo AdV36 n=108	Seropositivo AdV36 n= 92	Valor de p
Edad*	36(20-56)	35(21-56)	36(20-57)	0.86
Género <sup>o</sup>				
Femenino	130(65)	68(63)	62(67)	0.51
Masculino	70(35)	40(37)	30(33)	
Peso*	68.5(46.3-101.7)	67.9(45.2-105.3)	68.5(48.2-95.1)	0.54
Talla (cm)*	157(144-175)	157(144-176)	157(144-175)	0.58
IMC (kg/m <sup>2</sup> )*	27.5(19.8-39.3)	24.9(20.4-40.8)	30.2(19.3-37)	0.49
Circunferencia de cintura (cm)*	94(73-118)	92 (75-119)	94(73-116)	0.94
Circunferencia de cadera (cm)*	104(89-125)	102(89-129)	105(89-124)	0.99
Circunferencia de brazo (cm)*	29(24-39)	29(23-39)	29(24-37)	0.65
Masa grasa (%)*	30.6(13-47.4)	30.3(12.3-50)	30.6(14.8-45.9)	0.90
Masa grasa(kg)*	21.5(7.7-47.3)	20.6(7.7-50.8)	22.6(8.5-41.3)	0.94
Masa magra(kg)*	46.1(37.2-64.1)	46.4(37.4-64.1)	45.4(36.6-62.9)	0.32
PA sistólica (mmHg)*	112(93-143)	116(95-144)	107(91-142)	<b>0.01</b>
PA diastólica (mmHg)*	69(57-90)	71(57-91)	69(56-89)	0.30
Glucosa (mg/dL)*	89(72-118)	89(72-117)	89(72-123)	0.32
Colesterol (mg/dL)*	172(115-259)	176(126-268)	165(113-256)	0.13
Triglicéridos (mg/dL)*	123(55-260)	124(57-250)	117(55-296)	0.45
LDL (mg/dL)*	113(67-165)	114(66-161)	111(67-171)	0.65
HDL (mg/dL)*	50(35-62)	50(35-62)	49(32-62)	0.55
Grupo <sup>o</sup>				0.08
Peso normal (18.5-24.9 kg/m <sup>2</sup> )	100(50.0)	56(52)	44(48)	
Obesidad I (30-34.9 kg/m <sup>2</sup> )	73(36.5)	33(31)	40(43)	
Obesidad II (35-39.9 kg/m <sup>2</sup> )	19(9.5)	12(11)	7(8)	
Obesidad III (≥40 kg/m <sup>2</sup> )	8(4)	7(6)	1(1)	

<sup>o</sup>Datos proporcionados por n y porcentajes. Prueba de X<sup>2</sup>. \*Datos proporcionados en medianas (p5-p95). Prueba de Mann-Whitney.



Finalmente, se realizó el análisis de la seropositividad a AdV36 tipificado por PCR respecto a las alteraciones metabólicas, observando entre las variables una asociación de menor riesgo. Sin embargo, se observó que en la población seropositiva a AdV36 por PCR, el 76% presento obesidad abdominal, 86% con presión arterial <130/85 mmHg, 86% con glucosa <100 mg/dL, 64% con Triglicéridos <150 mg/dL, 60% con HDL-C  $\geq$ 40 mg/dL, 63% con LDL-C  $\geq$ 100 mg/dL y 75% con Colesterol <200 mg/dL (Tabla 7).

Tabla 7. Seropositividad a AdV36 tipificados por PCR con alteraciones metabólicas.

Características	Total (n=200)	Seronegativo Ad-36 n=108 (%)	Seropositivo Ad-36 n=92 (%)	Valor <i>p</i>	OR (IC95%)	Valor <i>p</i>	OR (IC95%)*	Valor <i>p</i>
<b>Obesidad abdominal</b>				0.24				
No	56(28)	34(31)	22(24)		1		1	
Si	144(72)	74(69)	70(76)		1.5(0.78-2.7)	0.24	1.4(0.71-2.8)	0.33
<b>Presión arterial</b>				0.32				
<130/85 mmHg	166(83)	87(81)	79(86)		1		1	
$\geq$ 130/85 mmHg	34(17)	21(19)	13(14)		0.68(0.32-1.5)	0.32	0.63 (0.28-1.4)	0.26
<b>Glucosa</b>				0.19				
<100 mg/dL	164(82)	85(79)	79(86)		1		1	
$\geq$ 100 mg/dL	36(18)	23(21)	13(14)		0.61(0.29-1.3)	0.19	0.59(0.28-1.3)	0.18
<b>Triglicéridos</b>				0.28				
<150 mg/dL	136(68)	77(71)	59(64)		1		1	
$\geq$ 150 mg/dL	64(32)	31(29)	33(36)		1.4(0.77-2.5)	0.28	1.5(0.81-2.8)	0.20
<b>HDL-C</b>				0.55				
$\geq$ 40 mg/dL	124(62)	69(64)	55(60)		1		1	
<40 mg/dL	76(38)	39(36)	37(40)		1.2(0.67-2.1)	0.55	1.1(0.62-2.1)	0.70
<b>LDL-C</b>				0.42				
<100 mg/dL	68(34)	34(31)	34(37)		1		1	
$\geq$ 100 mg/dL	132(66)	74(69)	58(63)		0.78 (0.44-1.4)	0.42	0.78(0.43-1.4)	0.41
<b>Colesterol</b>				1.0				
<200 mg/dL	150(75)	81(75)	69(75)		1		1	
$\geq$ 200 mg/dL	50(25)	27(25)	23(25)		1.0(0.53-1.9)	1.0	1.0(0.53-1.9)	0.97

\*Regresión logística ajustada por edad y sexo.

## 6. DISCUSION

La etiología de la obesidad es multifactorial y el entendimiento de la misma se debe a la contribución de muchos factores causales. Además de los factores genéticos, ambientales y endocrinos, las infecciones virales han sido propuestas como uno de los factores relacionados con la obesidad y han sido recientemente motivo de mucha atención. Tal es el caso de los Adenovirus, de los cuales se han identificado más de 50 serotipos y son divididos dentro de 7 subgrupos (A-G) clasificados por las propiedades de su hemaglutinación y homología de su secuencia (Lynch et al., 2011). Los diferentes serotipos tienen tropismos en tejidos diferentes y se correlacionan con las manifestaciones clínicas de infección (Esposito et al., 2012).

Recientemente se han realizado investigaciones que sugieren que el AdV36 puede ser un factor asociado a la presencia de la obesidad. Se ha observado que este virus incrementa el número de células adiposas y el contenido de grasa en humanos, además del incremento en la actividad de glicerol 3 fosfato deshidrogenasa (G-3PDH), un marcador enzimático específico en la diferenciación de adipocitos; lo cual podría contribuir al desarrollo de esta condición. AdV36 potencia la diferenciación de las células 3T3-L1 así como los preadipocitos humanos; lo cual puede en parte, explicar el efecto adipogénico *in vivo* de AdV36. (Vangipuram et al., 2004).

Datos que pueden ser explicados por la producción y liberación de adipocitocinas es una de las funciones importantes de adipocitos. La leptina, una proteína involucrada en la regulación del peso corporal, es una de las adipocitocinas más estudiadas (Havel 2003; Havel 2004). Durante la diferenciación del adipocito, la expresión de leptina incrementa concomitantemente con la acumulación de gotas lipídicas. La leptina tiene efectos de realimentación paracrina sobre el metabolismo del adipocito (Ahima and Flier 2000; Huan et al., 2003). La leptina estimula la lipólisis, inhibe la expresión de genes de la síntesis de lípidos tales como la FAS y la sobre regulación de genes del adipocito involucrados en la oxidación de lípidos (Orzi et al., 2004).

Los estudios de asociación entre la positividad para AdV36, la acumulación de grasa y las alteraciones del metabolismo de lípidos en adultos y niños, se ha evaluado por la presencia y niveles de anticuerpos anti-AdV36 en sangre de sujetos obesos y con normopeso y correlacionado con el peso corporal, IMC, colesterol total y triglicéridos. En algunos casos, la presencia de DNA viral en tejido adiposo ha sido evaluado. Desafortunadamente, los resultados a veces contradictorios no permiten obtener conclusiones acerca de la importancia real de AdV36 en el desarrollo de la obesidad humana (Esposito et al., 2012).

Algunos datos interesantes fueron descritos por Pasarica y colaboradores en el 2006, en donde demostraron que los efectos proadipogénicos de AdV36 pueden estar involucrado con efectos cerebrales. Estos efectos pueden disminuir la secreción de corticosterona, los cuales tienen un rol principal en el metabolismo de las grasas y es requerida para la movilización de glicerol del tejido adiposo. Los niveles más bajos de corticosterona circulantes pueden contribuir a promover el transporte de glucosa en adipocitos.

En este estudio se observó una baja prevalencia de la seropositividad a AdV36, de manera similar, Raben y colaboradores en el 2012, encontraron una prevalencia muy baja de la infección previa por AdV36 en población adulta con obesidad y peso normal en Dinamarca (5.7% vs 10.0%), datos que son similares a los obtenidos por Na y colaboradores en el 2014, en donde la prevalencia de la positividad a anticuerpos contra AdV36 en 540 sujetos no fue estadísticamente diferente respecto al grupo normal, el sobrepeso o adultos obesos francos.

Al observar las alteraciones bioquímicas determinados por la seropositividad para AdV36, se encontró que hay un 75% de los pacientes seropositivos que poseen valores más bajos de colesterol y triglicéridos y un 100% de aquellos pacientes con niveles más bajos de glucosa. Atkinson y colaboradores en el 2005, encontraron resultados similares analizando 502 adultos (incluyendo 360 pacientes obesos), independientemente de la edad, género o sitio de colección. Los sujetos positivos a anticuerpos a AdV36 también tuvieron significativamente niveles séricos más bajos de colesterol total y triglicéridos. Así mismo, Dhurandhar

y colaboradores en el 2002, concluyeron que existe reducción de los niveles de colesterol en humanos.

A diferencia de nuestro estudio, datos obtenidos por Trovato y colaboradores en el 2009, analizaron 203 adultos (incluyendo 68 pacientes obesos), en donde la infección previa con AdV36 fue significativamente más común en los obesos que en los sujetos con normo peso (64% vs 32%), e IMC, la relación cintura/cadera, presión sanguínea e insulina, HOMA y niveles de triglicéridos fueron significativamente más altos en el grupo seropositivo a AdV36, principalmente en aquellas del género femenino.

Goossens y colaboradores en el 2011, analizaron una población de 509 adultos holandeses y belgas (incluyendo alrededor de 200 pacientes obesos), una baja prevalencia de la seropositividad a anticuerpos AdV36 fue encontrada en ambos sujetos Obesos y Normopeso (5.7% vs 3.9%), y no existe correlación entre la presencia de anticuerpos a AdV36 e IMC. Además, se identificó el ADN viral en el tejido adiposo visceral de 31 pacientes obesos quienes se sometieron a cirugía.

Broderick y colaboradores en el 2010, observaron a 150 obesos y 150 sanos militares en servicio activo. No hubo significancia estadística entre grupos y no hubo asociación entre la exposición a AdV36 y los niveles de colesterol total y triglicéridos.

En este estudio no se encontró concordancia entre la detección de ADN viral mediante PCR y la detección de anticuerpos mediante ELISA. De las 16 muestras seropositivas al ELISA, 10 de ellas fueron negativas a la PCR, indicando que no existe ADN integrado en las células pero si anticuerpos o anti virus circulantes contra AdV36. Esto puede deberse a infecciones en donde el paciente haya estado en contacto con el virus, suficiente como para montar una respuesta inmune, eliminándolo por completo y no permitiendo que se integrara en las células del huésped. Por el contrario, existen 73 muestras positivas a AdV36 detectadas mediante PCR que son negativas al ELISA, ocasionando discordancia entre los resultados, aun así, este efecto se puede explicar conociendo la sensibilidad del kit de ELISA utilizado para detectar anticuerpos contra AdV36. En este caso tiene relación la carga viral a la que haya estado expuesto cada

paciente y los niveles de anticuerpos para ser detectados en el kit de ELISA. Otro de los aspectos a considerar es que estos pacientes hayan tenido una infección por AdV36 en etapas tempranas de la vida, en donde las infecciones por AdV36 son muy comunes en los niños pequeños debido a su falta de inmunidad, y pueden producirse epidemias en niños sanos o adultos en entornos cerrados o llenos de gente (Esposito et al., 2012).

## 7. CONCLUSIONES

- Se encontró una baja seropositividad para AdV36 por ELISA (16 muestras) y moderada tipificación por PCR (92 muestras) en la población estudiada.
- No se encontró asociación de la seropositividad para AdV36 ni del DNA viral con la obesidad, pero las personas positivas al virus presentan un mejor perfil metabólico.

## 8. REFERENCIAS

- ❖ Adhikary, A. K., J. Numaga, T. Kaburaki, H. Kawashima, S. Kato, M. Araie, K. Miyata, H. Shimizu, F. Yagyu, E. Suzuki, and H. Ushijima. 2001. Rapid detection and typing of oculopathogenic strains of subgenus D adenoviruses by fiber-based PCR and restriction enzyme analysis. *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.* 42:2010–2015.
- ❖ Allard, A., B. Albinsson, and G. Wadell. 2001. Rapid typing of human adenoviruses by a general PCR combined with restriction endonuclease analysis. *J. Clin. Microbiol.* 39:498–505.
- ❖ Atkinson RL, Dhurandhar NV, Allison DB, Bowen RL, Israel BA, Albu JB, and Augustus AS. Human adenovirus-36 is associated with increased body weight and paradoxical reduction of serum lipids. *Int J Obes Relat Metab Disord* 29: 281–286, 2005.
- ❖ Avellón, A., P. Pe´rez, J. C. Aguilar, R. O. de Lejarazu, and J. E. Echevarría. 2001. Rapid and sensitive diagnosis of human adenovirus infections by a generic polymerase chain reaction. *J. Virol. Methods* 92:113–120.
- ❖ Bastard JP, Lagathu C, Maachi M, et al.: [Adipose tissue cytokines and insulin resistance]. *J Annu Diabetol Hotel Dieu* 29–37, 2004 [Article in French].
- ❖ Capeau J, Magre J, Lascols O, et al.: Diseases of adipose tissue: genetic and acquired lipodystrophies. *Biochem Soc Trans* 33:1073–1077, 2005.
- ❖ Cousin, B., Munoz, O., Andre, M., Fontanilles, A. M., Dani, C., Cousin, J. L., Laharrague, P., Casteilla, L. & Penicand, L. (1999) A role for preadipocytes as macrophage-like cells. *FASEB J.* 13: 305–312.
- ❖ Dhurandhar N, Atkinson R, and Ahmed A. Obesity of infectious origin—a review. *Growth Genet Horm* 20: 33–39, 2004.
- ❖ Dhurandhar NV, Israel BA, Kolesar JM, et al.: Transmissibility of adenovirus-induced adiposity in a chicken model. *Int J Obes Relat Metab Disord* 25:990–996, 2001.
- ❖ Dhurandhar NV, Israel BA, Kolesar JM, Mayhew GF, Cook ME, and Atkinson RL. Increased adiposity in animals due to a human virus. *Int J Obes Relat Metab Disord* 24: 989–996, 2000.
- ❖ Dhurandhar NV, Whigham LD, Abbott DH, et al.: Human adenovirus Ad-36 promotes weight gain in male rhesus and marmoset monkeys. *J Nutr* 132:3155–3160, 2002.
- ❖ Dhurandhar<sup>b</sup> NV. Infectobesity: obesity of infectious origin. *J Nutr* 2001;131:2794S–2797S.
- ❖ Duncan, B. B., Schmidt, M. I., Chambless, L. E., Folsom, A. R., Carpenter, M. & Heiss, G. (2000) Fibrinogen, other putative markers of inflammation, and weight gain in middle- aged adults-The ARIC study. *Obesity Res.* 8: 279–286.
- ❖ Echavarria, M. S., S. A. Kolavic, S. Cersovsky, F. Mitchell, J. L. Sanchez, C. Polyak, B. L. Innis, and L. N. Binn. 2000. Detection of adenoviruses (AdV) in culture-negative environmental samples by PCR during an AdV-associated respiratory disease outbreak. *J. Clin. Microbiol.* 38:2982–2984.
- ❖ Echavarria, M., J. L. Sanchez, S. A. Kolavic-Gray, C. S. Polyak, F. Mitchell-Raymundo, B. L. Innis, D. Vaughn, R. Reynolds, and L. N. Binn. 2003. Rapid detection of adenovirus in throat swab specimens by PCR during respiratory disease outbreaks among military recruits. *J. Clin. Microbiol.* 41:810–812.

- ❖ Echavarria, M., M. Forman, M. J. D. van Tol, J. M. Vossen, P. Charache, and A. C. M. Kroes. 2001. Prediction of severe disseminated adenovirus infection by serum PCR. *Lancet* 358:384–385.
- ❖ Elnifro, E. M., R. J. Cooper, P. E. Klapper, and A. S. Bailey. 2000. PCR and restriction endonuclease analysis for rapid identification of human adenovirus subgenera. *J. Clin. Microbiol.* 38:2055–2061.
- ❖ Fujimoto, T., M. Chikahira, T. Kase, S. Morikawa, T. Okafuji, Y. Yokota, and O. Nishio. 2000. Single-tube multiplex PCR for rapid and sensitive diagnosis of subgenus B and other subgenera adenoviruses in clinical samples. *Microbiol. Immunol.* 44:821–826.
- ❖ Fusinski K, Shaw M, and Leff T. Adenovirus-36 transcription factor E4orf1 accelerates preadipocyte differentiation (Abstract). *Obes Res* 12, Suppl: A2, 2004.
- ❖ Isela Parra-Rojas,<sup>1</sup> Oscar Del Moral-Hernández,<sup>2</sup> Aralia B. Salgado-Bernabé,<sup>1</sup> Iris P. Guzmán-Guzmán,<sup>1</sup> Lorenzo Salgado-Goytia,<sup>1</sup> and José F. Muñoz-Valle<sup>3</sup> (2013). Adenovirus-36 Seropositivity and Its Relation with Obesity and Metabolic Profile in Children. *International Journal of Endocrinology*. Volume 2013, Article ID 463194, 6 pages.
- ❖ Kim JY, van de Wall E, Laplante M, et al.: Obesity-associated improvements in metabolic profile through expansion of adipose tissue. *J Clin Invest* 117:2621–2637, 2007.
- ❖ Kras, K. M., Hausman, D. B. & Martin, R. J. (2000) *Obesity Res.* 8(2):186–93.
- ❖ Lankester AC, van Tol MJ, Claas EC, Vossen JM, Kroes AC. Quantification of adenovirus DNA in plasma for management of infection in stem cell graft recipients. *Clin Infect Dis* 2002; 34:864–7.
- ❖ Lion T, Baumgartinger R, Watzinger F, et al. Molecular monitoring of adenovirus in peripheral blood after allogeneic bone marrow transplantation permits early diagnosis of disseminated disease. *Blood* 2003; 102:1114–20.
- ❖ Martin-Romero, C., Santoz-Alvarez, J., Goberna, R. & Sanchez-Margalet, V. (2000) Human leptin enhances activation and proliferation of human circulating T lymphocytes. *Cell. Immunol.* 199 (1): 15–24.
- ❖ Na, B.-K., J.-H. Kim, G.-C. Shin, J.-Y. Lee, J.-S. Lee, C. Kang and W.-J. Kim. 2002. Detection and typing of respiratory adenoviruses in a single tube multiplex polymerase chain reaction. *J. Med. Virol.* 66:512–517.
- ❖ Oh DK, Ciaraldi T, Henry RR: Adiponectin in health and disease. *Diabetes Obes Metab* 9:282–289, 2007.
- ❖ Pasarica M, Shin AC, Yu M, et al. (2006) Human adenovirus 36 induces adiposity, increases insulin sensitivity, and alters hypothalamic monoamines in rats. *Obesity (Silver Spring)* 14: 1905–1913.
- ❖ Ranganathan G, Unal R, Pokrovskaya I, et al.: The lipogenic enzymes DGAT1, FAS, and LPL in adipose tissue: effects of obesity, insulin resistance, and TZD treatment. *J Lipid Res* 47:2444–2450, 2006.
- ❖ Rathod M, Vangipuram SD, Krishnan B, et al.: Viral mRNA expression but not DNA replication is required for lipogenic effect of human adenovirus Ad-36 in preadipocytes. *Int J Obes (Lond)* 31:78–86, 2007.
- ❖ Rathod MA, Rogers PM, Dhurandhar NV: Human adenovirus Ad-36 infection induces differentiation and replication of preadipocytes. *Obes Rev* 7:138, 2006.
- ❖ Rogers PM, Fusinski K, Rathod MA, et al.: Human adenovirus Ad-36 induces adipogenesis via its E4 orf-1 gene. *Int J Obes* 32:397–406, 2007.
- ❖ Rogers PM, Mashtalir N, Rathod MA, et al. (2008) Metabolically favorable remodeling of human adipose tissue by human adenovirus Ad-36. *Diabetes* 57:2321–2331.



- ❖ Roytblat, L., Rachinsky, M., Fisher, A., Greemberg, L., Shapira, Y., Douv-devani, A. & Gelman, S. (2000) Raised interleukin-6 levels in obese patients. *Obesity Res.* 8: 673–675.
- ❖ Vangipuram SD, Sheele J, Atkinson RL, Holland TC, and Dhurandhar NV. A human adenovirus enhances preadipocyte differentiation. *Obes Res* 12: 770–777, 2004.
- ❖ Vangipuram SD, Yu M, Tian J, et al.: Adipogenic human adenovirus-36 reduces leptin expression and secretion and increases glucose uptake by fat cells. *Int J Obes (Lond)* 31:87–96, 2007.
- ❖ Walls, T., A. G. Shankar, and D. Shingadia. (2003). Adenovirus: an increasingly important pathogen in paediatric bone marrow transplant patients. *Lancet Infect. Dis.* 3:79–86

## 9. ANEXOS

### Anexo 1

#### Consentimiento informado

No. Folio 

--	--	--	--

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE GUERRERO

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

*Laboratorio de Investigación en Obesidad y Diabetes*

Av. Lázaro Cárdenas S/N, Ciudad Universitaria. Chilpancingo, Gro. Tel/Fax 01747-4725503

#### Proyecto general:

**“ADENOVIRUS 36 Y SU RELACIÓN CON OBESIDAD EN ADULTOS GUERRERENSES”**

Al firmar este documento, doy mi consentimiento para que me entreviste un miembro del personal del Laboratorio de Investigación en Obesidad y Diabetes de la Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero, ubicada en Av. Lázaro Cárdenas S/N, Chilpancingo, Gro. Entiendo que la entrevista aportará información útil para interpretar los resultados que se obtengan en los exámenes de laboratorio que se me practicarán y también formará parte de los resultados de un proyecto de Investigación.

Entiendo que seré entrevistado(a), en los horarios que se me indiquen o que así convengan, se me harán preguntas sobre datos familiares, personales y de salud. Entiendo que se me tomará una muestra de sangre, suficiente para los estudios de laboratorio. La entrevista durará entre 10 y 20 minutos, también estoy enterado (a) que el entrevistador (a) puede ponerse en contacto conmigo en el futuro, a fin de obtener más información. Fui elegido (a) para participar en este proyecto debido a que cubría los criterios de inclusión. Se me ha dicho que las respuestas a mis preguntas y demás información obtenida no serán reveladas a nadie y que en ningún informe de este estudio se me identificará jamás en forma alguna.

Como compensación por cualquier esfuerzo o molestia relacionados con mi participación en este estudio me serán proporcionados los resultados de los análisis practicados, sin costo alguno.

Entiendo que en caso de que tenga alguna pregunta acerca del estudio o sobre mis derechos como participante, debo buscar a la Dra. Isela Parra Rojas o al Q.B.P. Jorge Adalberto Ocampo Galeana, en el Laboratorio de Investigación en Obesidad y Diabetes de la Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas de la UAG. Teléfono 7474998262.

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del paciente

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del entrevistador

\_\_\_\_\_  
Fecha

**Anexo 2**

**ENCUESTA**

Proyecto general

**“EVALUACION DE FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN LA POBLACION GUERRERENSE”**

Fecha: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Folio: \_\_\_\_\_

**A. Datos generales.**

1. Nombre del paciente: \_\_\_\_\_ 2. Edad: \_\_\_\_ años  
 3. Sexo:  Masculino  Femenino  
 4. Fecha de Nacimiento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ 5. Lugar de Nacimiento: \_\_\_\_\_  
 6. Edad hasta la que residió: \_\_\_\_ años  
 7. Domicilio actual: \_\_\_\_\_ 8. Tiempo de residencia: \_\_\_\_ años  
 Calle, No. Colonia, Ciudad  
 9. Tel. Casa: \_\_\_\_\_ 10. Tel. Trabajo: \_\_\_\_\_ 11. Tel. Cel. \_\_\_\_\_  
 12. Ocupación: \_\_\_\_\_ 13. Horas/día: \_\_\_\_\_ 14. Horas/semana: \_\_\_\_\_  
 15. Estado Civil:  0. Soltero(a)  1. Casado(a)  2. Unión Libre  
 16. Escolaridad:  0. Analfabeta  1. Primaria  2. Secundaria  3. Preparatoria  
 4. Licenciatura  5. Posgrado  
 17. ¿Habla una lengua indígena?  0. No  1. Si 18. ¿Cuál? \_\_\_\_\_  
 19. Sus rasgos fenotípicos presentan mayor componente:  
 Asiático  Caucásico  Africano  Mestizo  Indígena

**B. Antropometría del paciente.**

20. ¿Cuánto peso al nacer? \_\_\_\_\_ kg  
 21. ¿Fue obeso en alguna etapa de su vida?  Niñez  Adolescencia  Adulta  
 22. Peso actual: \_\_\_\_ kg  
 23. ¿Su peso actual ha sido estable?  0. No  1. Si  
 24. Si ha perdido o ganado peso, hace cuánto \_\_\_\_\_ y en que cantidad de peso aproximado \_\_\_\_\_  
 25. Estatura actual (talla): \_\_\_\_ m  
 26. Circunferencia de cintura: \_\_\_\_\_ cm  
 27. Circunferencia de cadera: \_\_\_\_\_ cm  
 28. Circunferencia de brazo: \_\_\_\_\_ cm  
 29. Circunferencia de muñeca: \_\_\_\_\_ cm  
 30. Temperatura corporal: \_\_\_\_\_ °C  
 31. Presión arterial sistólica: \_\_\_\_\_ mmHg  
 32. Presión arterial diastólica: \_\_\_\_\_ mmHg  
 33. IMC: \_\_\_\_\_  0. Bajo peso  1. Normal  2. Sobrepeso  3. Obesidad  
 34. Distribución de grasa:  0. Ginecoide  1. Androide  2. Mixto  
 35. Glucosa: \_\_\_\_\_ mg/dl 36. Colesterol: \_\_\_\_\_ mg/dl 37. Triglicéridos: \_\_\_\_\_ mg/dl

**C. Datos Socioeconómicos del paciente.**

38. Localidad:  0. Rural  1. Urbana  
 39. Su casa es:  0. Propia  1. Rentada  2. Prestada  
 40. ¿Cuántas personas habitan la casa?  0. 1-3  1. 4-6  2. >6  
 41. ¿Su vivienda cuenta con?

	No	Si		No	Si
Electricidad	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Televisor	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Drenaje	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Cocina con gas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Agua potable	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Automóvil	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Teléfono	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Piso de cemento	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

42. Usted se considera de nivel socioeconómico:  0. Bajo  1. Medio  2. Alto

**D. Hábitos del paciente.**

43. ¿Fuma actualmente?  0. No  1. Si
44. No. de cigarros al día.  0) Ninguno  1) <3  2) De 3 a 5  3) > 5
45. ¿Ingiere bebidas alcohólicas?  0. No  1. Si
46. ¿Cuántas veces a la semana?  0) Ninguna  1) < 3  2) de 3 a 5  3) > 5
47. ¿Realiza ejercicio?  0. No  1. Si  
 Tiempo al día: \_\_\_\_\_ Veces/semana: \_\_\_\_\_ Tipo de ejercicio: \_\_\_\_\_  
 Intensidad  0. Baja  1. Moderada  2. Alta
48. ¿En su hogar se cocina con leña?  0. No  1. Si
49. ¿Cuántas veces a la semana?  0) Ninguna  1) < 3  2) de 3 a 5  3) > 5
50. ¿Cuánto tiempo (hrs) a la semana?  0) Ninguna  1) < 3  2) de 3 a 5  3) > 5

**E. Hábitos alimenticios del paciente.**

51. ¿Cuántas comidas consume al día?  0. Una  1. Dos  2. Tres  3. Cuatro  4. Cinco  5. >6
52. ¿Cuáles?  0. Desayuno  1. Almuerzo  2. Comida  3. Merienda  4. Cena
53. ¿Cuáles de las comidas señaladas hace en su casa?  
 0. Desayuno  1. Almuerzo  2. Comida  3. Merienda  4. Cena  5. Ninguna
54. ¿A qué hora del día consume sus alimentos?  
 Desayuno: \_\_\_\_\_ Almuerzo: \_\_\_\_\_ Comida: \_\_\_\_\_ Merienda: \_\_\_\_\_ Cena: \_\_\_\_\_
55. ¿Cuánto tiempo invierte regularmente cuando consume sus alimentos?  
 Desayuno \_\_\_ min / Almuerzo \_\_\_ min / Comida \_\_\_ min / Merienda \_\_\_ min / Cena \_\_\_ min
56. ¿Cómo come?  0. Abundante  1. Regular  2. Poco
57. ¿Repite ración en las comidas (plato)?  0. Si  1. No  2. A veces
58. Dentro de su dieta alimenticia señale el alimento que consume y con qué frecuencia lo hace.

	Rara vez (1-2 x semana)	Frecuente (3-4 x semana)	Siempre (> de 4 x semana)
a. Comida rápida	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
b. Golosinas y frituras	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
c. Frutas y verduras	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
d. Leguminosas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
e. Carnes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
f. Lácteos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
g. Refrescos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
h. Mariscos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
i. Embutidos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
j. Huevos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
k. Cereales (soya, trigo, avena)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

59. ¿Consume algún suplemento vitamínico?  0. No  1. Si
60. ¿Cuál? \_\_\_\_\_ 61. ¿Hace cuánto? \_\_\_\_\_ (días, semanas, meses, años).

**F. Antecedentes de enfermedades crónicas en la familia.**

62. Escriba sobre las líneas si usted o algún familiar padece las siguientes enfermedades.
- a. Obesidad (Ob) \_\_\_\_\_
- b. Diabetes Tipo2 (DM2) \_\_\_\_\_
- c. Hipertensión Arterial (HA) \_\_\_\_\_
- d. Enfermedad Cardiovascular (ECV) \_\_\_\_\_
- e. Enfermedades Hepáticas \_\_\_\_\_
- f. Enfermedad renal \_\_\_\_\_
- g. Artritis reumatoide \_\_\_\_\_
- h. Colesterol \_\_\_\_\_
- i. Triglicéridos \_\_\_\_\_
- j. Tiroiditis \_\_\_\_\_
- k. Cáncer \_\_\_\_\_
- Otra ¿cuál? \_\_\_\_\_

**G. Infecciones durante su vida.**

63. ¿Actualmente ha padecido algún tipo de infección?  0. No  1. Si

64. ¿De qué tipo y cuantas veces lo ha padecido (frecuencia)?

	No	Si	Frecuencia:
a. Urinaria	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
b. Viral (Rubeola, Varicela, hepatitis-tipo, etc)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
c. Respiratoria (Sinusitis, Pulmonía, etc)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
d. Gastrointestinal o gástrica	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
e. Bucal (Gingivitis, herpes labial, etc)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
f. Sexual (verrugas)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	_____
Otra ¿Cuál o Cuáles?			_____

65. Actualmente le diagnosticaron alguna de estas enfermedades:

	No	Si
a. Artritis reumatoide	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
b. Lupus eritematoso	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
c. Gastroenteritis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
d. Gastritis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
e. Conjuntivitis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

66. Otra ¿Cuál? \_\_\_\_\_

67. ¿Con que frecuencia la padece? \_\_\_\_\_

68. ¿Ha tenido gripe recientemente?  0. No  1. Si

69. Si su respuesta fue Sí. ¿Hace cuánto? \_\_\_\_\_ (días, semanas, meses, años).

70. ¿Ha tenido alguna vez Influenza?  0. No  1. Si

71. Si su respuesta fue Sí. ¿Hace cuánto? \_\_\_\_\_ (días, semanas, meses, años).

72. ¿Ha recibido la vacuna contra influenza?  0. No  1. Si, ¿cuantas veces? \_\_\_\_\_

73. Si su respuesta fue Sí. ¿Hace cuánto? \_\_\_\_\_ (días, semanas, meses, años).

**H. Tratamiento.**

74. ¿Actualmente se encuentra sometido a algún tipo de tratamiento?  0. No  1. Si

75. ¿Para qué padecimiento se lo recetaron? \_\_\_\_\_

76. Nombre de su medicamento: \_\_\_\_\_

77. ¿Se ha sometido alguna vez a algún tratamiento para bajar de peso?  0. No  1. Si

78. Si su respuesta fue Sí. ¿Hace cuánto? \_\_\_\_\_ (días, semanas, meses, años).

79. ¿Actualmente toma medicamentos para bajar de peso?  0. No  1. Si

80. ¿Cuáles? \_\_\_\_\_

81. Actualmente tiene tratamiento para disminuir los niveles de:

	No	Si	
a. Colesterol	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	¿Cuáles? _____
b. Triglicéridos.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	¿Cuáles? _____
c. Glucosa.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	¿Cuáles? _____
d. Presión arterial.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	¿Cuáles? _____

**I. Preguntas complementarias.**

82. ¿Ha sufrido recientemente de algún golpe o accidente?  0. No  1. Si

83. Si su respuesta fue Sí. ¿Hace cuánto? \_\_\_\_\_ (días, semanas, meses, años)

84. ¿Su trabajo requiere de actividad física intensa?  0. No  1. Si

85. ¿Tiene alguna infección de transmisión sexual?  0. No  1. Si

86. ¿Cuál o cuáles? \_\_\_\_\_

87. ¿Se encuentra tomando algún tratamiento para su infección?  0. No  1. Si

88. ¿Cuál o cuáles? \_\_\_\_\_

89. ¿Hace cuánto? \_\_\_\_\_ (días, semanas, meses, años)

**J. Si usted es mujer conteste las siguientes preguntas.**

90. ¿Está embarazada?  0. No  1. Si
91. ¿Tiene trastornos en su periodo menstrual?  0. No  1. Si
92. Si su respuesta fue Sí. ¿Hace cuánto? \_\_\_\_\_ (días, semanas, meses)
93. ¿Actualmente se encuentra en su periodo menstrual?  0. No  1. Si
94. ¿Sus trastornos menstruales son asociados a la menopausia?  No  Si
95. ¿Toma algún tratamiento hormonal?  No  Si
96. ¿Que toma? \_\_\_\_\_

---

Nombre y firma del paciente

---

Nombre y firma del entrevistador

### Anexo 3

## CONDICIONES PARA LA DETECCIÓN DE ADENOVIRUS 36 POR PCR

Tabla 1. Concentraciones de PCR para la detección de AdV36

REACTIVOS	Oligos AdV36	
	Concentración inicial	Concentración final
Buffer (KCl)	10X	1X
MgCl <sub>2</sub>	25 mM	1.0 mM
dNTPs	2.5 mM	0.25 mM
Sentido 1	20 mM	4.0 mM
Antisentido 1	20 mM	4.0 mM
Taq pol	500 U/ml	12.5 U/ml
H <sub>2</sub> O	-	
ADN	1.0 µl (100 ng/µl)	
Volumen total	10.0 µl	

Tabla 2. Condiciones de PCR para la detección de AdV36

	Desnat. Inicial	Desnat. Final	Alineamiento	Extensión inicial	Extensión final	40 ciclos
Oligos AdV36	3 min. 95°C	1 min. 95°C	1 min. 50°C	30 seg. 72°C	2 min. 72°C	Producto de 259 pb