

DEPARTAMENT DE MEDICINA PREVENTIVA I SALUT
PÚBLICA, CIÈNCIES DE L' ALIMENTACIÓ,
TOXICOLOGIA I MEDICINA LEGAL

INTERACCIÓN GENÉTICO-AMBIENTAL EN LA
MODULACIÓN DE ADIPOCITOQUINAS Y MARCADORES
DE INFLAMACIÓN EN SU ASOCIACIÓN CON OBESIDAD
Y OTROS FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN
POBLACIÓN MEDITERRÁNEA.

CAROLINA ORTEGA AZORÍN

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA
Servei de Publicacions
2011

Aquesta Tesi Doctoral va ser presentada a València el dia 18 d'octubre de 2011 davant un tribunal format per:

- Dr. José María Vila Salinas
- Dr. Francisco José Sánchez Muniz
- Dra. Montserrat Robles Viejo
- Dr. Oscar Coltell Simón
- Dr. José I:González Arráez

Va ser dirigida per:

Dra. Dolores Corella Piquer

Dra. Marisa Guillén Domínguez

©Copyright: Servei de Publicacions
Carolina Ortega Azorín

I.S.B.N.: 978-84-370-8788-7

Edita: Universitat de València

Servei de Publicacions

C/ Arts Gràfiques, 13 baix

46010 València

Spain

Telèfon:(0034)963864115



Universitat de València

**Departament de Medicina Preventiva i Salut Pública,
Ciències de l'Alimentació, Toxicologia i Medicina Legal**

**Interacción genético-ambiental en la
modulación de adipocitoquinas y
marcadores de inflamación en su
asociación con obesidad y otros factores
de riesgo cardiovascular en población
mediterránea**

Tesis doctoral presentada por:

Carolina Ortega Azorín

Licenciada en Bioquímica

Para la obtención del Grado de Doctora por la Universidad de Valencia

Valencia, 2011

Dirigida por las profesoras:

Dolores Corella Piquer

Marisa Guillén Domínguez



Universitat de València

Dolores Corella Piquer, Catedrática de Universidad, del Departament de Medicina Preventiva i Salut Pública, Ciències de l'Alimentació, Toxicologia i Medicina Legal. Universitat de València

Marisa Guillén Domínguez, Profesora contratada doctora, del Departament de Medicina Preventiva i Salut Pública, Ciències de l'Alimentació, Toxicologia i Medicina Legal. Universitat de València

CERTIFICAN:

Que la presente tesis doctoral con el título: “**Interacción genético-ambiental en la modulación de adipocitoquinas y marcadores de inflamación en su asociación con obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular en población mediterránea**”, ha sido realizada por **Carolina Ortega Azorín**, bajo nuestra dirección, y reúne los méritos suficientes para que su autora obtenga el título de Doctora por la Universitat de València.

Y para que así conste, firman el presente certificado en

Valencia, a 5 de Septiembre de 2011

Dolores Corella Piquer

Marisa Guillén Domínguez

Esta tesis doctoral se ha realizado durante el disfrute de las siguientes becas y contratos:

Beca de colaboración BC05-75 y BC05-138 a cargo de Proyecto INBIOMED: “Plataforma de almacenamiento, Integración y análisis de datos clínicos, genéticos, epidemiológicos y orientada a la investigación sobre patologías”. Unidad de Epidemiología Genética y Molecular. Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública. Facultad de Medicina. Universidad de Valencia. 1 Junio 2005- 31 Octubre 2005.

Beca de colaboración BC05-251 y BC06-23 a cargo de Proyecto PREDIMED: “Efectos de la dieta mediterránea en la prevención primaria cardiovascular”. Unidad de Epidemiología Genética y Molecular. Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública. Facultad de Medicina. Universidad de Valencia. 16 Noviembre 2005- 31 Diciembre 2006.

Contrato Personal Investigador. CIBER de Fisiopatología Obesidad y Nutrición. Desde 26 Junio de 2007 hasta la actualidad.

Dedicatoria

A mi querida madre por enseñarme el valor de las verdaderas cosas importantes y apoyarme siempre en todas mis ideas y decisiones, a pesar de que la vida pronto nos separó nunca dejará de estar a mi lado.

A Dani por estar siempre conmigo, por tu ayuda y tu tremenda comprensión y por saber mostrarme siempre el lado bonito de las cosas, haces que la vida sea tremendamente más fácil y emocionante, eres el mejor compañero para compartirla. Pronto seremos uno más y estará tan orgulloso de ti como lo estoy yo.

A mi padre, mis hermanos y a Caty por apoyarme en todo momento, por cuidarme con un cariño infinito y animarme a conseguir mis propósitos. Sois muy importantes para mí y me siento muy feliz de teneros a mi lado. A mis sobrinos, por ser la alegría de la casa, por considerarme una hermana, una amiga y por compartir conmigo siempre vuestras ideas.

Agradecimientos

Deseo agradecer la realización de esta tesis:

A mis directoras por aceptarme para realizar esta tesis doctoral bajo su dirección. Les agradezco su confianza en mí y haber hecho siempre todo lo posible por conseguir lo necesario para llevar a cabo esta tesis.

A mi amiga y compañera Paula, necesitaría tantas páginas como tiene esta tesis para expresar todo lo que representas para mí. Como compañera eres ejemplar y como amiga insustituible. Tu apoyo y amistad ha sido vital para mí durante todos estos años. Juntas hemos vivido muchas cosas pero todas las recordaré siempre con mucho cariño y una gran sonrisa gracias a tu compañía.

A mis amigos de Yecla por animarme siempre y comprender mis ausencias, por sus consejos y apoyo, sin vosotros este trayecto habría sido mucho más duro. Gracias por demostrarme que la amistad no depende de la distancia ni de las tareas que cada uno se busca, siempre hay un hueco para nosotros.

También a Arancha y Paco, “los cuñaos”, vuestra llegada a Valencia supuso un gran cambio para nosotros, sois la familia que necesitábamos. Gracias por estar tan pendiente de mí y despegarme del ordenador siempre en el momento adecuado. A Begoña por transmitir siempre alegría y ayudarme en todo lo que esta en su mano. A Ciscar por las miles aventuras vividas durante la carrera, cruzarnos en 2º me ha dado grandes oportunidades personales. A Silvia por tener siempre unas palabras de aliento en los momentos más extremos.

A María Arregui por su tremenda bondad, su capacidad de trabajo y demostrarnos que siempre esta ahí cuando la necesitas, te deseo lo mejor. A mis antiguos compañeros Xelo, Saray, Titi, María Gargallo y Quique por vuestro apoyo y cariño, estar a vuestro lado hacía que el trabajo se convirtiera en un hobby, vuestro paso por el departamento nos ha hecho ganar una gran amistad.

A mis compañeras Eva, Laura, Patricia y Rosana por nuestras charlas y reflexiones, especialmente durante nuestras comidas gourmet de “tupperware” y por controlar que mis comidas no fueran demasiado penosas en esta última temporada. A Vicente por preocuparse en los momentos de estrés y estar siempre dispuesto a ayudarnos en todo y especialmente por su confianza. A Javi por sus consejos y las conversaciones compartidas.

También a Olga y Paco por su apoyo, especialmente en los momentos personales de gran dificultad. A Sorlí por su increíble bondad y sobre todo por seguir abriendo nuestros correos después de las miles de listas infinitas pendientes de revisar. A Gema por su apoyo y ayuda y por transmitir su alegría. A Maribel por preocuparse por mí siempre que se me hacía demasiado tarde. A Toni, Pepe y Carmen por ayudarnos siempre que los necesitamos.

A todos los participantes que han colaborado en el estudio PREDIMED y todas las personas que han facilitado la elaboración de este estudio, sin su participación este trabajo no hubiera sido posible.

ÍNDICE

TERMINOLOGÍA.....	15
1. INTRODUCCIÓN.....	19
1.1 LA OBESIDAD.....	19
1.2 EL TEJIDO ADIPOSEO.....	31
1.3 REGULACIÓN DEL BALANCE ENERGÉTICO CORPORAL.....	52
1.4 FACTORES RELACIONADOS CON EL DESARROLLO DE LA OBESIDAD	59
1.5 OBESIDAD Y OTROS FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR	80
1.6 COMPLICACIONES CLÍNICAS ASOCIADAS CON LA OBESIDAD	89
1.7 EPIDEMIOLOGÍA GENÉTICA DE LA OBESIDAD	91
1.8 INTERACCIONES GEN*GEN	101
1.9 INTERACCIONES GEN*AMBIENTE	102
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	111
2.1 HIPÓTESIS.....	111
2.2 OBJETIVOS CONCRETOS	111
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	115
3.1 INTRODUCCIÓN	115
3.2 ESTUDIO PREDIMED	116
3.2.1 SELECCIÓN DE PARTICIPANTES	117
3.2.2 RECLUTAMIENTO DE PARTICIPANTES.....	119
3.2.3 RECOPIACIÓN DE DATOS DE LOS PARTICIPANTES	120
3.3 DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS A PARTIR DE MUESTRAS BIOLÓGICAS.....	125
3.4 ANÁLISIS GENÉTICO	132
3.5 MÉTODOS ESTADÍSTICOS	148

4. RESULTADOS.....	155
4.1 GENERALIDADES	155
4.2 ESTUDIO PREDIMED	156
4.2.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN	156
4.2.2 ESTUDIO DE CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN EN RELACIÓN A LA OBESIDAD	158
4.2.3 ESTUDIO DE CARACTERÍSTICAS RELACIONADAS CON EL DESARROLLO DE LA OBESIDAD	159
4.2.4 ESTUDIO DE LOS NIVELES DE ADIPOCITOQUINAS Y DE AGNE	166
4.2.5 ESTUDIO GENÉTICO DE POLIMORFISMOS EN GENES CANDIDATOS Y SU ASOCIACIÓN CON OBESIDAD Y OTROS FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR ...	185
4.2.6 ESTUDIO DE POSIBLES INTERACCIONES GEN*AMBIENTE SOBRE LA OBESIDAD Y OTROS FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR	268
4.2.7 ESTUDIO DE COMBINACIONES GENOTÍPICAS ENTRE POLIMORFISMOS	292
4.2.8 ESTUDIO DE POSIBLES INTERACCIONES GEN*GEN SOBRE EL RIESGO DE OBESIDAD	294
4.3 ESTUDIO DE LA SECUENCIACIÓN DE LOS EXONES DEL GEN ADIPOQ	297
5. DISCUSIÓN.....	301
5.1 DISCUSIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA Y DE CARACTERÍSTICAS RELACIONADAS CON EL DESARROLLO DE OBESIDAD	302
5.2. DISCUSIÓN DEL PERFIL DE ADIPOCITOQUINAS Y AGNE DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA Y SU ASOCIACIÓN CON OBESIDAD Y OTROS FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR	306
5.3 DISCUSIÓN DE LA ASOCIACIÓN ENTRE FACTORES AMBIENTALES CON LOS NIVELES DE ADIPOCITOQUINAS Y DE AGNE EN LA POBLACIÓN ESTUDIADA	316
5.4 DISCUSIÓN DE LA ASOCIACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS ANALIZADOS CON OBESIDAD Y OTROS FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR Y DE LAS INTERACCIONES GEN*AMBIENTE	323
5.5 DISCUSIÓN DEL EFECTO DE COMBINACIONES GENOTÍPICAS ENTRE POLIMORFISMOS SOBRE PARÁMETROS RELACIONADOS CON LA OBESIDAD Y OTROS FACTORES DE RIEGO CARDIOVASCULAR	378
5.6 DISCUSIÓN DE LAS INTERACCIONES GEN*GEN	380
5.7 DISCUSIÓN DE LA SECUENCIACIÓN DE LOS EXONES DEL GEN ADIPOQ	383

6. CONCLUSIONES.....	385
7. BIBLIOGRAFÍA.....	389
8. ÍNDICE DE FIGURAS.....	475
9. ÍNDICE DE TABLAS.....	481

TERMINOLOGÍA

Las abreviaturas utilizadas en esta tesis son las siguientes:

A:	Adenina
ABCC8:	Gen del casete de unión al ATP, subfamilia C, miembro 8
ACC:	Acetil CoA carboxilasa
ADIPOQ:	Gen de la adiponectina
ADIPOR1:	Receptor 1 de la adiponectina
ADN:	Ácido desoxirribonucleico
AESA:	Agencia Española de Seguridad Alimentaria
AGM:	Ácidos grasos monoinsaturados
AGNE:	Ácidos grasos no esterificados
AGP:	Ácidos grasos poliinsaturados
AgRP:	Péptido Agouti relacionado
AGS:	Ácidos grasos saturados
AMPK:	Cinasa activada por monofosfato de adenina
AOV:	Aceite de oliva virgen
AOVE:	Aceite de oliva virgen extra
AP-1:	Proteína activador-1
APPL1:	adaptor protein, phosphotyrosine interaction, PH domain and leucine zipper containing 1
ARC:	Núcleo arqueado o arcuato
ARN:	Ácido ribonucleico
ATP III:	Adult Treatment Panel III
ATP:	Adenosine triphosphate
BDNF:	Factor neurotrófico derivado del cerebro
C:	Citosina
CART:	Transcrito regulado por anfetamina y cocaína
CB:	Receptor cannabinoide

CCK:	Colecistoquinina
CD36:	Gen de la translocasa de ácidos grasos
c-HDL:	Colesterol HDL
c-LDL:	Colesterol LDL
CNR1:	Gen del receptor 1 del sistema cannabinoide
CREB:	Proteína de unión al elemento de respuesta AMPc
CT:	Colesterol total
DM:	Dieta Mediterránea
DMT2:	Diabetes mellitus tipo 2
DT:	Desviación típica.
ECV:	Enfermedades cardiovasculares
EDTA:	Ácido etilendiaminotetraacético
EEUU:	Estados Unidos
ENPP1:	Ecto-nucleótido pirofosfatasa fosfodiesterasa
FOXO:	Factor de transcripción forkhead
FR:	Factor de riesgo
FS:	Frutos secos
G:	Guanina.
G6DP:	Glucosa-6-fostatasa
GHRL:	Gen de la ghrelina
GHSR:	Receptor de la ghrelina
GLP:	Péptido relacionado con el glucagón
GWA:	Genome wide association
HDL:	Lipoproteínas de alta densidad
HTA:	Hipertensión arterial
IAM:	Infarto agudo de miocardio
IC:	Intervalo de confianza
ICAM:	Moléculas de adhesión intercelular
ICC:	Insuficiencia cardíaca congestiva
IDF:	International Diabetes Federation
IL:	Interleucina
IMC:	Índice de masa corporal
INE:	Instituto Nacional de Estadística

INSP:	Instituto Nacional de Salud Pública
IOTF:	International Obesity Task Force
IRS2:	Sustrato del receptor insulínico 2
JAK2:	Janus quinasa-2
KCNJ11:	Gen del canal rectificador interno de potasio, subfamilia J, miembro 11
LCT:	Lactasa
LDL:	Lipoproteínas de baja densidad
LEP:	Gen de la leptina
MAPK:	Proteína quinasa activada por mitógenos
MC4R:	Gen del receptor 4 de la melanocortina
MCM6:	Proteína 6 de mantenimiento de minicromosomas
MCP-1:	Proteína 1 quimiotáctica de monocitos
MLXIPL:	MLX interacting protein-like
NADH:	Nicotinamida adenina dinucleotido reducido
NADPH:	Fosfato de nicotinamida adenina dinucleótido reducido
NCEP:	National Cholesterol Education Program
NF- κ B:	Factor nuclear kappa beta
NHANES:	National Health and Nutrition Examination Survey
NIH:	National Institutes of Health
NO:	Óxido nítrico
NPV:	Núcleo paraventricular
NPY:	Neuropéptido Y
NPY2R:	Receptor del neuropéptido Y
NR1H3:	Receptor nuclear subfamilia 1, grupo H, miembro 3
NTS:	Núcleo del tracto solitario
OMS:	Organización Mundial de la Salud
OR:	Odds ratio
PAD:	Presión arterial diastólica
PAI-1:	Inhibidor del activador del plasminógeno 1
PAS:	Presión arterial sistólica
pb:	Par de bases
PCR:	Proteína C reactiva
PEPCK:	Fosfoenolpiruvato carboxiquinasa

PI3K:	Fosfatidil inositol 3 quinasa
PKA:	Proteína kinasa A
PKC:	Proteína kinasa C
POMC:	Proopiomelanocortina
PPAR:	Gen de los receptores activados por el proliferador de peroxisomas
PREDIMED:	PREvención con Dieta MEDiterránea
PYY:	Péptido YY
QTL:	<i>Loci</i> de rasgos cuantitativos
RCV:	Riesgo cardiovascular
RFLP:	Polimorfismos de longitud en los fragmentos de restricción
RLEP:	Receptor de la leptina
RMN:	Resonancia magnética nuclear
ROS:	Especies reactivas de oxígeno
SEEDO:	Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad
SENC:	Sociedad Española de Nutrición Comunitaria
SHBG:	Proteína transportadora de hormonas sexuales
SN:	Sistema nervioso
SNC:	Sistema nervioso central
SNP:	Single nucleotide polymorphism
STAT:	Transductor de la señal y activador de la transcripción proteica
SUR1:	Receptor de sulfonilureas
T:	Timina
TC:	Tomografía computerizada
TNF α :	Factor de necrosis tumoral α
TSPAN8:	Gen de la tetraspanina 8
TTOG:	Test de tolerancia oral a la glucosa
UCP:	Proteínas desacoplantes mitocondriales
USDA:	Departamento de Agricultura de EEUU
USDHHS:	United States Department of Health and Human Services
VCAM:	Moléculas de adhesión celular vascular
VLDL:	Lipoproteínas de muy baja densidad
α -MSH:	Hormona estimulante de los melanocitos

1.1 La obesidad

En los últimos años, la obesidad ha dejado de ser considerada como un problema estético para ser reconocida como una enfermedad de carácter crónico. Hasta hace un par de décadas se desconocía la magnitud de la obesidad, pues las cifras internacionales revelaban que la prevalencia de desnutrición seguía siendo muy elevada, lo que impedía valorar la obesidad como un problema en ascenso en diferentes países. En cambio, en la sociedad del siglo XXI, la obesidad se ha convertido en uno de los mayores problemas de salud pública. En la última década, la prevalencia de la obesidad ha aumentado y continúa incrementándose de forma alarmante, tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo. Por ello, la Organización Mundial de la Salud (OMS) la definió como “la enfermedad epidémica no transmisible más grande del mundo” (OMS, 1998), considerando como obesidad y sobrepeso la acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. Por su parte, la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO), se refiere a la obesidad como una enfermedad crónica caracterizada por el aumento de peso, que se produce por un desequilibrio prolongado en el balance energético, entre la ingesta calórica y el gasto energético (SEEDO, 2000). Un exceso en la ingesta calórica que no vaya acompañado de un aumento del gasto energético conduce a un aumento de la grasa corporal, y por tanto, a la obesidad. Pero, una definición más detallada de la obesidad sería que es una enfermedad compleja multifactorial que aparece por la influencia interactiva de factores sociales, ambientales, psicológicos, metabólicos, celulares y moleculares (Bastarrachea-Sosa R et al, 2001).

La obesidad, entre las enfermedades crónicas no transmisibles, es considerada como una enfermedad y al mismo tiempo un reconocido factor de riesgo para muchas otras, dado que la obesidad aumenta sustancialmente no sólo el riesgo de diabetes y de enfermedad cardiovascular, sino también ciertos tipos de cáncer y otras enfermedades altamente prevalentes (Must A et al, 1999, Calle EE et al, 2003). Aunque se han identificado diversos factores que interactúan en la génesis de la obesidad, lo cierto es que se trata de una enfermedad que no distingue género, raza, edad, estado socioeconómico ni cultural (INSP, 2000).

1.1.1 Definición y clasificación de la obesidad

La obesidad se define como el progresivo aumento en la cantidad de grasa corporal, que se produce como resultado del desequilibrio entre la ingesta y el gasto energético, de la distribución de las reservas energéticas y de la capacidad de adipogénesis (Loos RJ et al, 2003). En general, el incremento de grasa corporal se traduce, en condiciones normales, en un aumento de peso. Sin embargo, no todo aumento de peso corporal se produce debido a un incremento de tejido adiposo.

Hasta la década de 1980, la obesidad fue definida en referencia a un "peso ideal", derivado de las tablas realizadas por la Metropolitan Life Insurance Company, las cuales establecían un rango de pesos corporales ideales en función de la altura, la constitución física, el sexo y la raza, en el cual el índice de mortalidad era menor, para las edades comprendidas entre los 25 y los 59 años (Metropolitan Life Insurance Company, 1983), pero no podían ser extrapoladas a otra población. En la década de 1980, el enfoque del peso corporal ideal fue sustituido por el Índice de Masa Corporal (IMC), también conocido como Índice de Quetelet, calculado como el peso en kilogramos dividido por el cuadrado de la estatura en metros (Kg/m^2) (Dietz WH et al, 1998; Keys A et al, 1972), pudiendo determinarse los puntos de corte para el sobrepeso y la obesidad. Aunque este índice mide más la masa corporal total que la masa grasa, se correlaciona muy estrechamente con la cantidad de grasa corporal (Quiles J et al, 1996). La OMS también ha aceptado este criterio y junto con el Grupo Internacional de Trabajo sobre Obesidad (IOTF) recomienda que se utilice el valor del IMC para definir la obesidad en los estudios epidemiológicos que estimen su prevalencia, con el fin de que los resultados obtenidos en diferentes estudios y países sean comparables (OMS, 2000).

Así pues, en la clasificación de sobrepeso y obesidad aplicable tanto a hombres como a mujeres en edad adulta propuesto por el comité de expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 1998) el punto de corte para definir la obesidad es de un valor de $\text{IMC}=30 \text{ kg/m}^2$, y el de sobrepeso a valores de IMC entre $25\text{--}29,9 \text{ kg/m}^2$, limitando el rango para la normalidad a valores de IMC entre $18,5\text{--}24,9 \text{ kg/m}^2$ (Tabla 1.1). Sin embargo la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad realizó ciertas modificaciones a la clasificación propuesta por la OMS (SEEDO, 2000) (Tabla 1.2), así se propusieron dos diferencias importantes con respecto a la clasificación de la OMS (Salas-Salvado J et al, 2007):

- Por un lado la SEEDO el amplio rango que abarca el sobrepeso en la que está incluida una gran parte de la población adulta y que posee una gran importancia en la estrategia global de la lucha contra la obesidad y de los factores asociados, lo divide en dos categorías, clasificando al sobrepeso de grado II como pre-obesidad.
- Una segunda diferencia es la introducción de un nuevo grado de obesidad (obesidad grado IV u obesidad extrema) para aquellos pacientes con un $IMC \geq 50 \text{ kg/m}^2$ y que son tributarios de indicaciones especiales en la elección del procedimiento de cirugía bariátrica aconsejable.

Tabla 1.1. Criterios para definir la obesidad según la OMS en función del IMC (OMS, 1998)

	Valores límite del IMC (kg/m^2)
Normopeso	18,5-24,9
Sobrepeso (obesidad grado I)	25-29,9
Obesidad grado II	30-34,9
Obesidad grado III	35-39,90
Obesidad grado IV	≥ 40

Tabla 1.2. Criterios para clasificar el sobrepeso y la obesidad según la SEEDO en función del IMC (SEEDO, 2000)

	Valores límites del IMC (kg/m^2)
Peso insuficiente	<18,5
Normopeso	18,5-24,9
Sobrepeso grado I	25-26,9
Sobrepeso grado II (preobesidad)	27-29,9
Obesidad de tipo I	30-34,9
Obesidad de tipo II	35-39,9
Obesidad de tipo III (mórbida)	40-49,9
Obesidad de tipo IV (extrema)	≥ 50

Las clasificaciones mostradas anteriormente no sirven para la población infantil y juvenil, pudiendo utilizar en estos casos los nomogramas de los Centers for Disease Control and Prevention (Daniels SR et al, 2005), que consisten en unas tablas específicas para la edad y sexo, que utilizando el IMC establecen la obesidad a través de percentiles, considerando dentro de la normalidad el percentil comprendido entre 5-85, como sobrepeso entre el 85-95 y obesidad a los niños que

superan el percentil 95, o las tablas de Cole y colaboradores (Cole TJ et al (2000), cuyo empleo proponen comités de expertos como la International Obesity Task Force (IOTF) y establece sobrepeso con el percentil 85 y obesidad en el percentil 97.

El IMC, como indicador indirecto de la cantidad de grasa corporal, presenta algunas limitaciones, como por ejemplo el que no se diferencie el tejido adiposo del muscular o edema (USDHHS, 1996). Asimismo, las asociaciones entre el IMC y la adiposidad corporal pueden ser no-lineares o ser diferentes en función de la edad (USDHHS, 1996). También se han detectado diferencias en los valores clasificatorios por étnias o grupos poblacionales (USDHHS, 1996; SEEDO, 2000; Fernández-Real et al, 2001).

Por otro lado, además del exceso de grasa, estudios epidemiológicos y metabólicos llevados a cabo durante los últimos años han enfatizado la noción introducida a mediados de los 40 por el médico francés Dr. Jean Vague, la cual indicaba que las complicaciones comúnmente halladas en los pacientes obesos estaban mayormente relacionadas con la localización del exceso de grasa más que con el exceso de peso en sí mismo (Vague J, 1947). A partir de este pionero trabajo en el cual Vague describe la forma de obesidad de alto riesgo bajo el término de "obesidad androide" o intraabdominal, siendo más frecuente en varones y que se representa por la forma física de una manzana. Esta observación ha sido corroborada en diversas investigaciones (Montague CT et al, 2000), y varios estudios han confirmado la noción que la elevada proporción de grasa abdominal es un factor de riesgo mayor para el desarrollo de la enfermedad coronaria, la diabetes de tipo 2 y la mortalidad (Kissebah AH et al, 1989; Kannel WB et al, 1991; Hayashi T et al; 2004; Després JP et al, 2006). Mientras que la obesidad descrita por Vague bajo el término de "obesidad ginoide", más comúnmente hallada en mujeres, y que se representa por la forma física de una pera, se caracteriza por la acumulación de grasa corporal preferentemente en la región gluteo-femoral. Esta distribución, inicialmente, no representa una amenaza para la salud cardiovascular (Terry RB et al, 1991; Pouliot MC et al, 1994). Por este motivo el estudio de la distribución del tejido graso adquiere un interés especial, más que la medición en sí de la obesidad (Scarsella C et al, 2003).

Por ello, aunque el IMC se considera el método de referencia para el diagnóstico de la obesidad, existen diferentes métodos para llevar a cabo la medición de la grasa corporal y su distribución, que se pueden agrupar fundamentalmente en las técnicas de medición antropométricas y en otros sistemas como el análisis de la composición corporal o las técnicas de imagen, como son la densitometría, impedanciometría, ecografía, activación de neutrones, absorciometría de doble fotón (DEXA), tomografía computerizada (TC),

resonancia magnética nuclear (RMN) o técnicas dilucionales. La complejidad, sofisticación y alto coste de estas técnicas, hace que su uso se vea restringido al estudio, experimental o clínico, de individuos o pequeños colectivos (Burniat W et al, 2002). Las mediciones antropométricas (sobre todo peso y talla, la medición de pliegues cutáneos y de circunferencias corporales) han demostrado ser métodos sencillos y de bajo coste económico, que han logrado una aceptable precisión para evaluar el grado de obesidad y el porcentaje de grasa corporal tanto de las personas como de las poblaciones (Burniat W et al, 2002; Neovius M et al, 2005).

Entre las técnicas antropométricas para la clasificación de la obesidad está la medición de los pliegues cutáneos o plicometría en diferentes sitios, con ecuaciones y nomogramas para la conversión del grosor del pliegue en grasa y que se expresa en el porcentaje de grasa corporal. Esto tiene su explicación a partir de la consideración de que aproximadamente el 50 % de la grasa corporal se encuentra en el tejido celular subcutáneo (Lohman TG 1981; Monterrey Gutiérrez P et al, 2001). Sin embargo, la medición de los pliegues presenta algunas limitaciones como la variabilidad de la medida según el profesional que la realiza y la dificultad que hay de pinzarlo de forma correcta. Incluso el hecho de que la distribución de la grasa difiere en individuos con igual cantidad de tejido adiposo y que en ciertas formas de obesidad la grasa tiene una distribución generalizada, mientras en otras es fundamentalmente abdominal, además de que la grasa corporal aumenta con la edad, y no así el grosor del pliegue (Rodríguez LE et al, 2003).

Otros datos antropométricos que se usan en la práctica clínica y en la investigación son la medición del diámetro sagital y la medida de circunferencias. Es importante realizar una correcta medición de estos datos antropométricos, los cuales resultan difíciles si no se toman referencias óseas. Por lo que el lugar de medición del diámetro sagital y de las circunferencias, para las que se utiliza una cinta métrica, siguiendo los criterios de referencia establecidos por la SEEDO en su Consenso SEEDO 2000 son:

- **Diámetro sagital:** esta medición se realiza con un calibrador abdominal tipo Holtain. Este indicador se valora estimando la distancia entre el ombligo y L4-L5 con el individuo en decúbito supino (Heymsfield SB et al, 1998). Cifras superiores a 25 cm para el diámetro sagital delimitan valores de riesgo (Pouliot MC et al, 1994). Este tipo de medida esta muy correlacionada con la obtenida por tomografía computerizada (TC) o resonancia magnética (RM) para la acumulación de grasas perivisceral.

- ***Circunferencia de la cintura:*** es la medida en el punto medio entre la última costilla y el margen superior de la cresta iliaca, o medido al inicio de una leve espiración (espiración no forzada) y a la altura de espinas ilíacas antero-superiores en bipedestación, presenta una gran correlación con la grasa abdominal (Pouliot MC et al, 1994) y se considera un buen marcador del riesgo cardiovascular y metabólico. Se define como valor de riesgo según las medidas del Adult Treatment Panel III (ATP-III) una circunferencia igual o superior a 102 cm en el varón y de 88 cm para la mujer. Sin embargo, han sido controversiales los diferentes valores propuestos como puntos de corte de la circunferencia de la cintura en cuanto a clasificar a los individuos con un mayor riesgo, ya que este valor podría variar según grupo étnico (Misra A et al, 2005). Por ello en el año 2005, la International Diabetes Federation (IDF) redujo los puntos de corte para definir la obesidad abdominal considerando de mayor riesgo valores del perímetro de la cintura igual o superior a 94 cm en el varón y de 80 cm para la mujer (IDF, 2005).
- ***Circunferencia de la cadera:*** la mayor circunferencia a la altura de los trocánteres mayores medido sobre la nalga.
- ***Circunferencia del muslo:*** se realiza midiendo el perímetro desde la raíz del muslo en sentido horizontal y paralelo al plano del suelo

A partir de la relación de estos tres últimos perímetros, se establecen dos índices antropométricos, el índice cintura/muslo y el más utilizado, el índice cintura/cadera:

- ***Índice cintura-muslo:*** Los valores considerados normales para este índice son los superiores a 1,6 para el hombre y a 1,4 en la mujer. También se ha utilizado como método para determinar obesidad de distribución central con escaso éxito (Martínez-Olmos MA et al, 2004)
- ***Índice cintura-cadera:*** es aceptado como un buen indicador antropométrico de la obesidad central. Este índice es mayor en el hombre que en la mujer, debido a la diferencia de la distribución de la grasa en ambos sexos y, además, tiende a aumentar con la edad. Se han propuesto un índice mayor de 1,0 en el hombre y de 0,85 en la mujer como predictor de aumento del riesgo de anomalías metabólicas (Bray GA et al, 1987; NIH, 1999).

Diversas investigaciones han manifestado que el riesgo de morbilidad no es debido al aumento de la grasa corporal general en sí, sino más bien con el incremento de la grasa en la región abdominal, específicamente con la grasa intraabdominal (Hartz et al, 1984; Landin K et al, 1990; Katznel LI et al 1993). Se

ha planteado que la grasa intraabdominal, por poseer una respuesta fisiológica distinta con la grasa situada subcutáneamente es más sensible a los estímulos lipolíticos (Berdasco A, et al, 2002).

Por ello, la medida del índice cintura-cadera, al indicar la cantidad de grasa intraabdominal, ha adquirido un valor predictivo importante de riesgo de alteraciones y consecuencias metabólicas de la obesidad, por lo cual su uso como diagnóstico de la obesidad casi iguala en importancia al IMC. Sin embargo, en los últimos años es considerada la circunferencia de la cintura el mejor marcador de sobrepeso y obesidad por expresar una relación muy estrecha con la grasa abdominal, responsable, en mayor medida, de las consecuencias metabólicas directamente relacionadas con la obesidad (Berdasco A, 2002). Una circunferencia de la cintura mayor de 94 mm en el hombre y de 80 mm en la mujer, es diagnóstico de sobrepeso u obesidad abdominal aun cuando el IMC no lo evidencie, y resulta un marcador importantísimo de futuras complicaciones; por lo tanto, es un punto de partida para la intervención médica, sobre todo si se asocian otros factores de riesgo como la HTA, DMT2, o las alteraciones lipídicas (Gómez AB et al, 2002; Siani A et al, 2002).

1.1.2 Epidemiología de la obesidad

La obesidad es una enfermedad crónica compleja y de origen multifactorial, con gran transcendencia socio-sanitaria y económica. Al igual que el resto de enfermedades crónicas, tiene importantes limitaciones y su control representa elevados costes de atención médica y terapéutica. Es la enfermedad metabólica más prevalente en los países desarrollados y en los que están en vías de desarrollo, de ahí que la OMS la catalogue como la “epidemia del siglo XXI”. Constituye un grave problema de salud pública, su importancia radica tanto en la morbilidad que se le asocia como en la mortalidad que conlleva. Se ha manifestado que diversas alteraciones en la salud están asociadas al sobrepeso y la obesidad, entre ellas cabe destacar la dislipemia, la DMT2, la hipertensión, la enfermedad coronaria y cerebrovascular y algunos tipos de cáncer, entre otras (Salas-Salvadó J et al, 2007).

En los últimos años, la incidencia de la obesidad no ha aumentado sólo en los países desarrollados sino también en los países en vías de desarrollo, puesto que éstos han adoptado un estilo de vida occidental, abandonando sus tradiciones y costumbres. Hasta hace relativamente poco tiempo, el mundo se enfrentaba a los problemas originados por la pobreza, como las enfermedades asociadas a la escasez de alimentos; pero mientras que los países desarrollados lograron disminuir drásticamente estos problemas, en los países en desarrollo aún se observan junto con las enfermedades “por exceso” (Caballero B et al, 2007). Este hecho manifiesta

que el aumento del sobrepeso y la obesidad no es solamente debido a la gran disponibilidad de diversos alimentos, puesto que en ese caso solo se presentaría en los países con gran desarrollo, sino que más bien es el resultado de un “ambiente obesogénico” en el cual los nuevos patrones de trabajo, transporte y recreación hacen que las personas lleven una vida menos activa y más sedentaria, propiciado por la urbanización que favorece la disminución en la actividad física y el aumento en la disponibilidad de alimentos de alta densidad energética, con mayor contenido de azúcares y grasas saturadas (Popkin BM et al, 2004). Sin embargo, este “ambiente obesogénico” afecta de manera diferente a las personas, pues mientras algunas son capaces de mantener un balance energético, otras caen en el desequilibrio metabólico que lleva a la obesidad; esta diferencia puede atribuirse a la variación genética entre los individuos (Maes HH et al, 1997).

La teoría que podría explicar este fenómeno es la teoría del “gen ahorrador” propuesta por Neel (Neel JV, 1962), según la cual a lo largo de la historia los individuos que han sobrevivido son aquellos cuyo genotipo les proporcionaba la ventaja de sobrevivir en épocas de hambruna gracias al mantenimiento de una reserva energética, como podría ser la grasa abdominal, que les confería una mayor supervivencia. Sin embargo, en la actualidad, los individuos que poseen estos genes que han favorecido la acumulación de una reserva energética a lo largo de la evolución, los llamados “genes ahorradores”, ahora hacen que tengan mayor susceptibilidad a desarrollar obesidad dado el “ambiente obesogénico” en el que vivimos (Groop L et al, 1997).

Por ello, la distribución del sobrepeso y la obesidad es desigual, pues varía entre diferentes etnias y países (Jia WP et al, 2002; Martínez JA et al, 2004). Las prevalencias van desde menos del 5% en países como China y algunos de África, hasta 75% en las Islas del Pacífico Sur. En algunos de los países latinoamericanos como México, las tasas de obesidad son intermedias (18,6% en hombres y 28,1% en mujeres), pero cercanas a las de países desarrollados como los Estados Unidos (31% en hombres y 33,2% en mujeres) e Inglaterra (22,3% en hombres y 23% en mujeres). A pesar de las diferencias de distribución geográfica de la obesidad, resulta evidente que la prevalencia de la misma ha mostrado un incremento casi constante en el mundo (López-Alarcón M et al, 2008). Expresión de esta preocupación son los importantes documentos elaborados por organismos nacionales e internacionales en años recientes. Entre los cuales destaca “La Estrategia Global sobre Dieta, Actividad Física y Salud” de la OMS (aprobada por Resolución de su Asamblea WHA57.17) (OMS; 2004), el programa “Healthy people 2010” del Departamento de Salud de los Estados Unidos, para reducir la prevalencia de obesidad en adultos al 15% (USDHHS, 2000), y el desarrollo del Healthy people 2020, la Carta Europea contra la obesidad (OMS, 2006), el Libro Blanco de la Unión Europea (Comisión Europea, 2007), el informe de

FORESIGHT UK (Eastern Region Public Health Observatory, 2007), y el documento base de la estrategia NAOS en España (AESA, 2005).

A nivel mundial casi dos mil millones de personas tienen sobrepeso, lo que equivale al número de individuos que sufren de inanición (Buchwald H et al, 2007), y de ellas unos 300 millones son personas obesas. Según la OMS en su informe de “10 datos sobre la obesidad” indica que el 65% de la población mundial vive en países donde el sobrepeso y la obesidad causan más muertes que la insuficiencia ponderal. Entre esos países se incluyen todos los de ingresos altos y medianos. El 44% de los casos mundiales de diabetes, el 23% de cardiopatía isquémica y el 7–41% de determinados cánceres son atribuibles al sobrepeso y la obesidad (OMS, 2010(a)). La OMS ha estimado que si la actual tendencia se mantiene en el año 2015 habrá aproximadamente 2,3 millones de individuos con sobrepeso y 700 millones con obesidad en todo el mundo (OMS, 2008). En la Figura 1.1 se muestra la prevalencia de sobrepeso en todo el mundo según los datos más recientes de la OMS para cada país (OMS, 2010(b)):

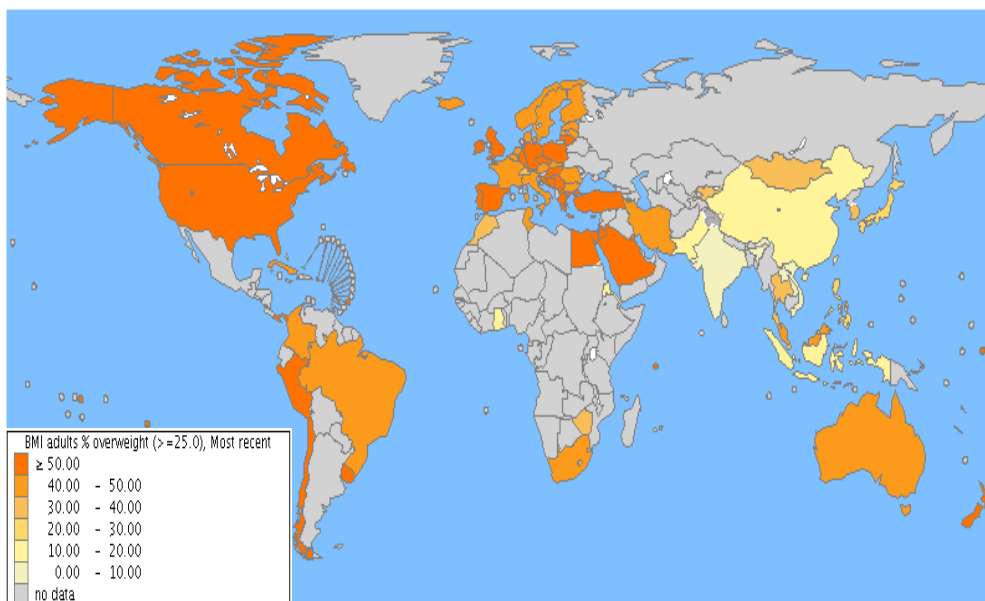


Figura 1.1. Distribución geográfica de la prevalencia de sobrepeso en el mundo (Global Database on Body Mass Index, OMS, 2010. <http://apps.who.int/bmi/index.jsp> (b))

En los países de Europa también se ha observado un incremento en la prevalencia de la obesidad en la población, sin embargo presenta proporciones inferiores a las descritas en los Estados Unidos y en América Latina. En todo caso, la prevalencia de la obesidad en Europa se encuentra en el rango del 10-25% en hombres y del 10-30% en mujeres (James WP, 2008). En los últimos 10 años la prevalencia de la obesidad ha aumentado en un 10-40% en gran parte de los países europeos. En la mayoría de los países más del 50% de personas tienen sobrepeso o son obesos. La prevalencia de la obesidad es mayor en los hombres que en las mujeres en 14 de 36 países o regiones con datos para ambos sexos, y la prevalencia de sobrepeso fue mayor entre los hombres en los 36 países (Branca F et al, 2007). Además, según los datos del WHO MONICA Project la prevalencia de esta enfermedad en Europa tiene una gran variabilidad entre países, oscilando ésta entre el 7% de los hombres en Suiza al 45% de mujeres en Lituania (Heseker H et al, 2000). En general, en las regiones central, oriental y meridional de Europa las tasas de prevalencia son más altas que en las regiones del norte y occidente (Figura 1.2). Este patrón geográfico puede ser explicado, al menos en parte, por las diferencias en las condiciones socioeconómicas, así como por el estilo de vida y factores nutricionales. La prevalencia de la obesidad en España e Italia, en particular, es alta, y se ha discutido recientemente en la literatura sobre la urbanización y la mundialización de ciertos factores de estilo de vida que han tenido un impacto negativo en la tradicional dieta mediterránea (Belahsen R et al, 2006).

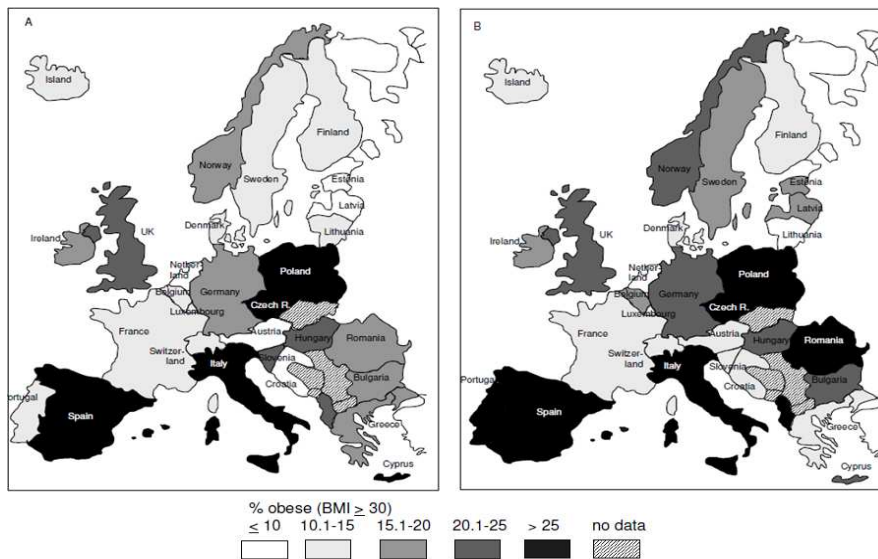


Figura 1.2. Distribución geográfica de la prevalencia de obesidad en Europa A. en hombres y B. en mujeres obtenido a partir de estudios realizados en cada uno de los países en los últimos quince años (Berghöfer A et al, 2008).

Las grandes variaciones en la prevalencia de la obesidad en las diferentes regiones de Europa también pueden ser debidas en parte a su origen étnico. En estudios en que participaron diversos grupos de inmigrantes en Canadá (Tremblay MS et al, 2005) y Suecia (Gadd M et al, 2005) el origen étnico se ha demostrado que es un importante factor determinante de la obesidad, con independencia de las condiciones socioeconómicas. En las últimas décadas, en distintos países europeos se ha dado una importante inmigración tanto de países del Este de Europa como de otros continentes. Esta nueva población presenta sus propios hábitos alimentarios, carga genética y estilos de vida los cuales se encontraban adaptados a su realidad originaria pero al emigrar pueden caer en una inadaptación en su nuevo entorno social (Prentice AM, 2006).

En el caso de España la prevalencia de obesidad se sitúa en un punto intermedio entre los países del norte de Europa, con las proporciones de obesidad más bajas y los países del este europeo, que presentan las tasas más elevadas. En los últimos años los cambios socio-demográficos han influido en la dieta tradicional y hábitos de vida de la población. La tradicional Dieta Mediterránea se ha sustituido por una dieta compuesta de mayor alimentos densos en energía que contienen más grasas (sobre todo de origen animal) y azúcares añadidos, junto con una disminución en el consumo de hidratos de carbono complejos y fibras. Al mismo tiempo, se ha reducido la actividad física, tanto en el trabajo como durante el tiempo libre. Todo ello ha conducido a un incremento de la prevalencia del sobrepeso y la obesidad en España. Así pues, según los datos obtenidos de la Encuesta Europea de Salud 2009, publicados por el Instituto Nacional de Estadística (INE, 2009), alrededor de seis millones de españoles mayores de 18 años (el 17,1%) presentan obesidad, y el 36,6 % de la población adulta presenta sobrepeso. De estos datos también se obtiene que los hombres presentan mayores índices de obesidad con un 18,6% de prevalencia frente a las mujeres con un 15,6%, así como también presentan mayor prevalencia de obesidad con un 44,2% frente a las mujeres que muestran una incidencia de obesidad del 29,2% (INE, 2009). Sin embargo, la prevalencia de la obesidad se va intensificando con la edad en ambos sexos, donde más del 24% de los mayores de 65 años son obesos y el 43% presentan sobrepeso. Por otro lado, las tendencias de la obesidad infantil y juvenil en España indican un incremento de la prevalencia en las últimas décadas, triplicándose en los últimos 20 años, alcanzando el 14% (estudio enKid). Estos datos, desde el punto de vista epidemiológico, son importantes porque la obesidad en la infancia, en especial en la segunda década de la vida, es un potente predictor de la obesidad en el adulto (Serra-Majem L et al, 2003(a)).

Al estudiar la prevalencia de obesidad en la población adulta de España por regiones, se observan diferencias geográficas, tanto en hombres como en mujeres, registrándose una mayor prevalencia de obesos en las regiones del Noroeste y Sur.

La distribución geográfica de la obesidad en España por regiones y comunidades autónomas, a excepción de la región Noroeste, parece tener un gradiente de norte a sur (Gutiérrez-Fisac JL et al, 1999; Aranceta-Bartrina J et al, 2003; Tur JA et al, 2005). En la figura 1.3 se muestra la prevalencia de la obesidad en hombres y en mujeres según la distribución geográfica por regiones en España realizado por el estudio DORICA:

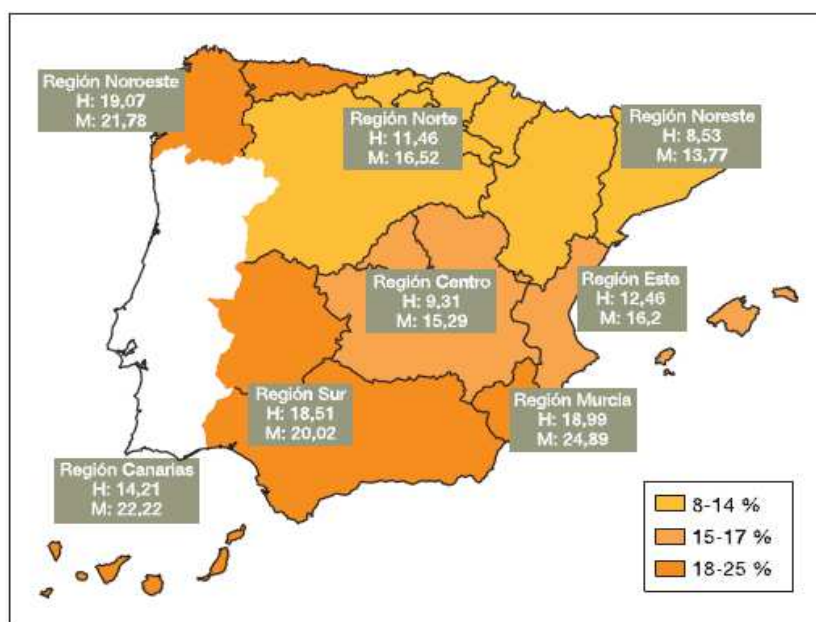


Figura 1.3. Prevalencia de obesidad (%) y por las distintas áreas de la geografía española en función del sexo, proporcionado por el estudio DORICA (Aranceta J et al, 2004).

En la Comunidad Valenciana el estudio de la obesidad se realizó a través de la Encuesta de Salud de la Comunidad Valenciana 1990-1991 (Generalitat Valenciana, Conselleria de Sanitat i Consum, 1993), en el cual se obtuvieron, a partir de datos declarados en personas mayores de 16 años, unos resultados de prevalencia de la obesidad del 7,3% para ambos sexos. Diez años más tarde la Encuesta de Salud de la Comunidad Valenciana 2000-2001 (Generalitat Valenciana, Conselleria de Sanitat i Consum, 2002) estimó, a través de la misma metodología de la vez anterior, una prevalencia del 11,4% para la población mayor de 16 años, 10,4% en hombres y 12,4% en mujeres. Estos resultados dejaban latente el aumento en la prevalencia de la obesidad a inicios de este siglo. De manera paralela, en estos resultados se mostró un incremento de la proporción de individuos obesos al avanzar de edad, llegando al máximo en el grupo de 50-64

años. Además, dentro de la propia Comunidad se observó por provincias un gradiente norte-sur en la proporción de obesos, donde la prevalencia fue menor en Castellón e iba incrementando al ir al sur, siendo mayor en Valencia y superior aún en Alicante. En la encuesta realizada en el año 2005 también se incrementó la prevalencia, ya que el 36,4% presentaban sobrepeso y el 12,4% obesidad, entre éstos al diferenciar por sexos las prevalencias eran similares, ya que los hombres presentaban una incidencia de obesidad del 12,2% frente al 12,6% de las mujeres, por lo que se seguía incrementando el número de personas que mostraban exceso de peso (Generalitat Valenciana, Conselleria de Sanitat i Consum, 2005).

1.2 El tejido adiposo

La obesidad, dada su creciente prevalencia, ha sido considerada la epidemia del siglo XXI, cuyo desarrollo es debido a un desequilibrio entre la ingesta y el consumo energético. Por ello, el estudio del tejido adiposo y concretamente de sus células específicas, los adipocitos, permite la comprensión de los mecanismos que dan lugar a las alteraciones metabólicas asociadas al desarrollo de la obesidad.

En una persona adulta aproximadamente entre el 15 y el 25% de su peso corporal es debido al tejido adiposo (en hombres 15-20%, >25% se considera obesidad; en mujeres 20-25%, >33% se considera obesidad) (Cinti S, 2005). Los adipocitos pueden variar considerablemente de tamaño desde 20 a 200 micrómetros de diámetro, por lo que en ciertas circunstancias pueden incrementar su volumen hasta 1000 veces más. A nivel celular el tejido adiposo no está formado únicamente por los adipocitos, ya que estos constituyen aproximadamente el 60-70% del total del tejido, el resto está formado por células sanguíneas, células endoteliales, macrófagos, pericitos y precursores de los adipocitos en distintos grados de diferenciación, ya sean fibroblastos como precursores primarios y preadipocitos que son células intersticiales vacías de lípidos y prontas a transformarse en adipocitos (Poissonnet CM et al, 1984; Hausman GJ, 1987).

El crecimiento del tejido adiposo comprende el incremento del tamaño y la formación de nuevos adipocitos, siendo la base para la clasificación de la obesidad por hipertrofia (aumento del tamaño de las células) e hiperplasia (aumento del número de células) (Borrajó E et al, 2002). La obesidad hipertrófica es la más común en el adulto, se caracteriza por una gran cantidad de grasa en los adipocitos sin aumento en el número de células. Ésta se puede asociar con un desequilibrio entre la ingesta calórica y su utilización (Chiprut R et al, 2001). La obesidad hiperplásica corresponde a una forma clínica de larga duración en la que el número de adipocitos es mayor, así como la cantidad de grasa que contienen. Estos individuos tienden a ser obesos desde niños y a tener una ganancia importante de

peso durante la adolescencia (Chiprut R et al, 2001). El número de células grasas aumenta más rápidamente durante la infancia mayor y pubertad, pero pueden incrementar durante la vida adulta. El tamaño de los adipocitos puede ser reducido después de una restricción calórica, pero no hay evidencias de que puedan existir pérdidas completas de adipocitos formados (Godínez SA et al, 2002)

Durante mucho tiempo se consideró que prácticamente la única función que tenía el tejido adiposo era la de mantener el balance energético en mamíferos, ya que era concebido como un tejido encargado de almacenar energía, puesto que durante los periodos de alta ingesta energética, los adipocitos captan los ácidos grasos del torrente circulatorio y los acumulan en forma de triglicéridos, contribuyendo así a la formación de una reserva energética, que puede ser posteriormente liberada en forma de ácidos grasos libres en periodos de restricción calórica. Sin embargo, actualmente el tejido adiposo no puede ser considerado exclusivamente como un tejido pasivo cuya única función sea la de simplemente almacenar energía. Se ha descubierto que la célula esencial del tejidos adiposo, el adipocito, sintetiza y libera al torrente circulatorio diferentes péptidos, estos péptidos utilizan mecanismos de acción endocrinos, paracrinos, autocrinos y yuxtacrinos, e intervienen en una amplia variedad de procesos fisiológicos y patológicos, incluidas la inmunidad y la inflamación (Otero M et al, 2005) y además tienen efectos en la función de órganos distantes, tales como el músculo, páncreas, hígado y cerebro. Estas proteínas fueron denominadas bajo el término común de adipocitoquinas o adipocinas. Esto pone de manifiesto que el tejido adiposo no actúa solo como un simple reservorio de energía, sino también como un tejido endocrino muy activo que secreta importantes moléculas relacionadas con la homeostasis de la energía y con distintos procesos metabólicos (Moreno MJ et al, 2002; Flier JS, 2004). Estos factores secretados por el tejido adiposo pueden tener efectos en muchos sistemas biológicos, ya que intervienen en la homeostasis energética (metabolismo de lípidos, carbohidratos, control del apetito, termogénesis), sistema inmunológico, función reproductiva, hemostasia y angiogénesis (Ronti T et al, 2006; Sethi JK et al, 2007) Esto ha provocado un giro en el estudio y comprensión de la fisiología del tejido adiposo, que ha pasado de centrarse en los procesos internos de lipogénesis y lipólisis a focalizarse en la comunicación e interacción del mismo con otros órganos, como regulador activo del control del equilibrio energético y de los procesos metabólicos asociados al mismo (Argente J et al, 2006).

1.2.1 Tipos de tejido adiposo

El tejido adiposo también puede diferenciarse morfológica y funcionalmente en tejido adiposo blanco y tejido adiposo pardo o marrón, que difieren entre sí en cuanto a color, morfología, distribución, genes y función (Guisado-Requena IM et al, 2009). Mientras que el tejido adiposo pardo, muy escaso en los humanos, su función mayoritariamente es de regulación térmica (Katrin S et al, 2004), el tejido adiposo blanco está especializado en almacenar energía en forma de triglicéridos, además de realizar la función como órgano secretor al producir gran variedad de adipocitoquinas (Cabrero A et al, 2002).

1.2.1.1 Tejido adiposo pardo

El tejido adiposo pardo es multilocular, puesto que está formado por múltiples gotitas citoplasmáticas de diferentes tamaños conteniendo triglicéridos. El color pardo está dado por los citocromos que forman parte de la cadena respiratoria de las numerosas mitocondrias que posee (Cannon B et al, 2004), las cuales le dan una alta capacidad oxidativa, necesaria para la disipación energética a través de la termogénesis (Moreno MJ et al, 2002; Valenzuela A, 2004).

El tejido adiposo pardo es uno de los principales determinantes de la termogénesis en mamíferos que hibernan, aunque también se ha descrito en no hibernantes, como el hombre, especialmente en recién nacidos. Su función fisiológica es el mantenimiento de la temperatura corporal, principalmente en neonatos (Asakura H, 2004). En él, la mitocondria libera energía química en la forma de calor mediante el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa, haciendo el proceso de respiración celular sumamente ineficiente. Éste fenómeno es mediado por la proteína termogenina, la cual causa la pérdida del gradiente de protones, a través de la membrana mitocondrial interna y, por lo tanto, libera energía en la forma de calor, en lugar de acumularla como ATP (Cannon B et al, 2004). La termogenina pertenece a un grupo de proteínas desacoplantes colectivamente conocidas como UCP (UnCoupling Protein), las cuales tienen una función muy importante en el control de la termogénesis, especialmente en los animales que hibernan. Las UCPs son 5, la UCP-1 se encuentra solo en el tejido adiposo pardo, la UCP-2 se distribuye en varios tejidos (músculo, riñón, vísceras), la UCP-3 solo se encuentra en el músculo esquelético, y las UCP-4 y UCP-5 se ubican en el cerebro (Valenzuela A et al, 2009).

En neonatos el tejido adiposo pardo está muy desarrollado, llegando a suponer entre el 2 al 5% del peso corporal, sin embargo, disminuye marcadamente después de la octava semana de vida, aunque sigue habiendo cantidades pequeñas en todas las categorías de edad (en el adulto supone un 1% de la masa corporal). Estos

restos se ubican principalmente en sitios centrales e internos distribuidos de manera que el calor que genera calienta la sangre que va a los órganos vitales; se encuentra en la región axilar, subescapular, interescapular, intercostal, cervical e inguinal (Vidal N et al, 2004). El tejido adiposo pardo puede ser metabólicamente importante en humanos, y el hecho de que esté reducido, aunque todavía presente en la mayoría de las personas con sobrepeso u obesas puede ser fundamental para el tratamiento de la obesidad (Pérez MJ et al, 2010).

1.2.1.2 Tejido adiposo blanco

El tejido adiposo blanco es unilocular, es decir, que tiene una estructura intracelular uniforme, cada adipocito contiene una gran gota central de triglicéridos, de ahí su estructura. La gota de lípido está limitada por pequeños filamentos proteicos denominados perilipinas (Subramanian V et al, 2004). El tejido adiposo blanco está muy irrigado, como mínimo existe un capilar que está en contacto con cada célula.

El tejido adiposo blanco tiene una serie de funciones que pueden sintetizarse en las cuatro siguientes: la más conocida de todas es la de actuar como reservorio de energía, al almacenar ácido grasos y liberarlos manteniendo un equilibrio con la concentración correspondiente en el torrente sanguíneo, y luego las siguientes funciones son sintetizar lípidos a partir de excedentes de hidratos de carbono o proteínas; responder a estímulos hormonales y nerviosos y secretar sus propias hormonas, las llamadas adipocitoquinas (Trayhurn P et al, 2001), aunque recientemente se está proponiendo el tejido adiposo como fuente importantísima de células madre adultas (Femyhough ME et al, 2008).

Se distribuye en múltiples depósitos corporales pudiéndose dividir en dos grandes compartimentos; la grasa subcutánea (tejido adiposo subcutáneo) y como pániculo adiposo en el mesenterio y en la zona retroperitoneal (tejido adiposo visceral).

1.2.1.2.1 Tejido adiposo subcutáneo

Es cuantitativamente el más importante, ubicado inmediatamente por debajo de la piel constituyendo alrededor de un 80% del total de la grasa corporal (Godínez SA et al, 2002; Valenzuela A, 2004). Tiene un metabolismo más ralentizado comparado con el del tejido adiposo visceral. Su función más destacada es la de aislante térmico y de amortiguación mecánica (Valenzuela A et al, 2009). También se ha propuesto que podría actuar de “amortiguación metabólica” al intentar disminuir el impacto de los excesos calóricos en el tejido adiposo visceral,

aunque esta idea no está esclarecida hasta el momento (Bakker et al, 2004; Sethi JK et al, 2007).

Paralelamente, se ha propuesto que el tejido adiposo subcutáneo de la región abdominal podría ser el que más se correlaciona con los valores de insulina plasmáticos (Abate N et al, 1995; Goodpaster BH et al, 1997) y de triglicéridos (Marcus MA et al, 1999), aunque no existe consenso sobre si la subdivisión de tejido adiposo subcutáneo abdominal está relacionada con el riesgo metabólico. En este sentido, hay autores que defienden la idea de que la grasa subcutánea posterior representa en mayor medida a la grasa subcutánea profunda y, por tanto, podría tener un mayor influencia sobre la resistencia a la insulina que la cantidad de grasa que pueda existir en la región anterior del abdomen (Kelley DE et al, 2001; Piernas C et al, 2008). Sin embargo, otros autores indican que la grasa subcutánea del abdomen no es un factor independiente para el pronóstico de la resistencia a la insulina (Ross R et al, 2002). Finalmente, otros estudios proponen que no es la grasa subcutánea por sí sola o sus diferentes áreas lo que determina el riesgo metabólico, sino su relación con el área visceral (Pérez MJ et al, 2010).

1.2.1.2.2 Tejido adiposo visceral

El tejido adiposo visceral está situado en el interior de las paredes óseas y musculares del abdomen, rodeando las vísceras. El tejido visceral puede llegar a representar entre el 5-10% del tejido adiposo total en mujeres y hombres (Sethi JK et al, 2007). Sin embargo, las mujeres en la edad adulta y postmenopáusicas presentan mayor tendencia a incrementarlo que los hombres (Kuk JL et al, 2009). Paralelamente, algunos autores consideran que el sexo no es una variable predictora de la grasa visceral, sino que el factor responsable del incremento de los depósitos de grasa visceral que se producen con el envejecimiento fundamentalmente es la edad, indicando que cada año más de edad está relacionado con un aumento del área de grasa visceral de 3,30 cm (Bouza A et al, 2008).

El tejido adiposo visceral desde el punto de vista metabólico es más activo que el subcutáneo, en proporción a los procesos de lipogénesis y de lipólisis, lo cual está determinado por una gran cantidad de receptores adrenérgicos lipolíticos y antilipolíticos (Hellmér J et al, 1992). A través de diversos estudios utilizando técnicas de imagen se ha observado que el tamaño del compartimento adiposo visceral se relaciona con factores de riesgo de enfermedad cardiovascular (Kissebah AH et al, 1994; Wajchenberg BL, 2000; Liu KH et al, 2005), con características de complicaciones asociadas a la obesidad, como pueden ser elevadas concentraciones plasmáticas de triglicéridos y apolipoproteína B, mayor proporción de partículas c-LDL, inferiores concentraciones de c-HDL, valor superior en la relación colesterol total/c-HDL, resistencia a la insulina e

hiperinsulinemia, y cambios en las concentraciones séricas de leptina, TNF- α , y distintas hormonas sexuales (Ross R et al, 2002; Tchernof A et al, 1996; Williams MJ et al, 1997; Rexrode KM et al, 1998; Garaulet M et al, 2004; Hernández Morante JJ et al, 2008). En general, se considera que el factor fundamental para el desarrollo de la resistencia a la insulina es la mayor proporción de grasa visceral (Ross R et al, 2002; Lovejoy JC et al, 2001), incluso con una asociación más fuerte que otros factores de riesgo como las alteraciones de la relación lípidos-proteínas (Deschênes D et al, 2003).

1.2.2 El tejido adiposo como órgano de almacenamiento

La función tradicionalmente conocida del tejido adiposo es la de actuar como almacén de energía, así como de liberarla en las situaciones necesarias, este hecho se lleva a cabo a través de dos procesos; la lipogénesis y la lipogenolisis. La acumulación de grasa está determinada por el balance entre la síntesis de lípidos, lipogénesis, y su degradación, lipólisis, que es la oxidación de ácidos grasos.

1.2.2.1 Lipogénesis

El tejido adiposo blanco es el mayor reservorio energético del organismo. Por medio de la acción de la lipoproteína lipasa (LPL), que se encuentra adherida a los capilares que irrigan el tejido adiposo, los triglicéridos que portan las lipoproteínas son hidrolizados hasta ácidos grasos libres y monoacilglicerol. Los ácidos grasos, a través de procesos de transporte activo mediados por proteínas transportadoras específicas de ácidos grasos, son captados por los adipositos. Una vez son incorporados al interior celular, los ácidos grasos son reestirificados a triglicéridos y almacenados en el interior de la gran gota de grasa que forma parte de los adipositos (Valenzuela A et al, 2009).

La síntesis de lípidos se incrementa durante el periodo postprandial y tras el consumo de carbohidratos, y se inhibe en condiciones de ayuno (Seböková E et al, 1997). La acumulación de lípidos en el tejido adiposo depende de la captación de ácidos grasos circulantes (Zechner R et al, 2000). En humanos, el proceso de almacenamiento de ácidos grasos en el tejido adiposo depende prácticamente de la liberación de los mismos por parte de las lipoproteínas a través de la acción de la LPL. Sin embargo, se ha observado que sujetos con deficiencia de LPL pueden llegar a acumular triglicéridos en el tejido adiposo, este hecho permite estipular la existencia de otros mecanismos para la acumulación de triglicéridos, como lo sería la lipogénesis de novo (Brun LD et al, 1989; Ranganathan G et al, 2006). El término lipogénesis de novo significa específicamente la formación de ácidos

grasos a partir de algún precursor derivado del adipocito, como sería el caso de la glucosa (Valenzuela A et al, 2009).

1.2.2.2 Lipogenolisis

La lipogenolisis es un proceso metabólico llevado a cabo por los adipocitos durante los períodos de carencia de nutrientes y/o estrés.

En el proceso de lipogenolisis, los triglicéridos acumulados en el tejido adiposo son hidrolizados hasta ácidos grasos y glicerol. La regulación de la liberación de ácidos grasos no esterificados (AGNE) y la lipólisis es moderada para responder a las necesidades energéticas del cuerpo dependiendo de la situación fisiológica dada. Si esta atenuación falla, no sólo se ve afectada la compensación energética adecuada, sino que también puede haber un exceso de AGNE liberados. En ambos casos se pueden causar disturbios metabólicos, tales como diabetes tipo 2 o el llamado síndrome metabólico (Londos C et al, 1999).

El paso limitante de este proceso está controlado por la lipasa sensible a hormonas. Esta enzima cataliza la hidrólisis de los triglicéridos a monoacilglicéridos, los que son finalmente degradados por la enzima monoacilglicerol lipasa. La lipasa sensible a hormonas está sujeta a una fina regulación y se activa por fosforilación realizada por una kinasa activada por AMPc. La lipólisis es estimulada por todos los agentes que estimulen a la enzima adenilato-ciclasa y aumenten la formación de AMPc, como ocurre con las catecolaminas que activan los receptores beta adrenérgicos. Por el contrario, la lipólisis es inhibida por aquellas hormonas que inhiban la formación de AMPc. Esto ocurre con catecolaminas que actúan a través de los receptores alfa 2 adrenérgicos. Las catecolaminas tienen, por lo tanto, un efecto dual sobre la lipólisis y por ello su efecto lipolítico neto depende del balance entre la activación de receptores beta y alfa 2 adrenérgicos (Valenzuela A et al, 2009).

Las perilipinas, proteínas que pertenecen a una familia de fosfoproteínas, son específicas de los adipocitos y recubren la superficie de las gotas de lípidos controlando los procesos de almacenamiento y liberación de triglicéridos. De las tres diferentes isoformas de perilipinas, la perilipina A es la más abundante en los adipocitos. La función de las perilipinas es la de prevenir la lipólisis en condiciones basales (cuando el cuerpo está recién alimentado) ya que se fosforila en niveles mínimos impidiendo el acceso de las lipasas citosólicas a los triglicéridos almacenados (Brasaemle DL et al, 2000).

En la Figura 1.4 se esquematizan los procesos de lipogénesis y lipogenólisis.

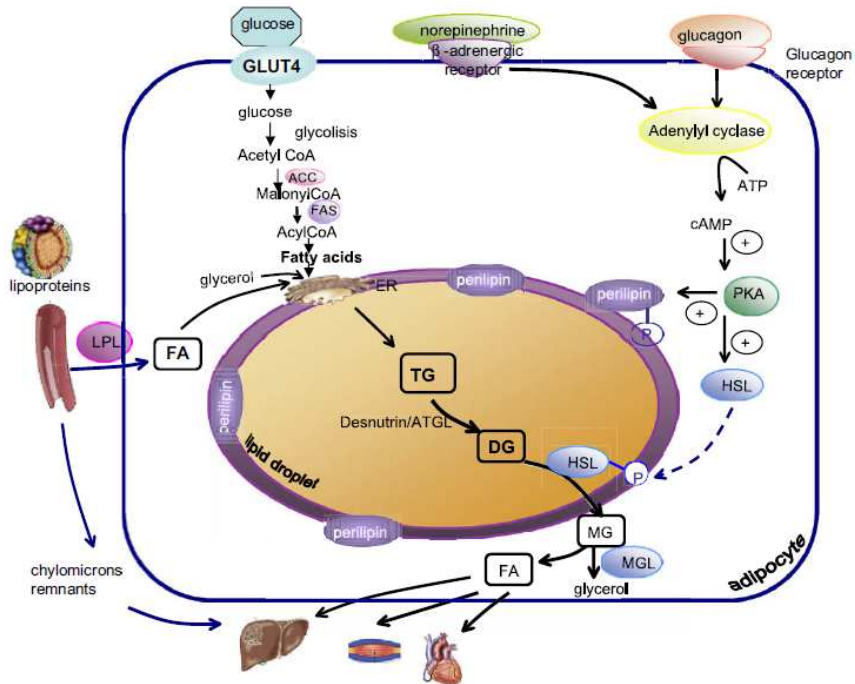


Figura 1.4. Representación esquemática de los procesos de lipogénesis y lipogenólisis. FA: ácidos grasos, TG: triglicéridos, DG: diglicéridos, MG: monoglicéridos, LPL: lipoprotein lipasa, ER: retículo endoplasmático, ATGL: lipasa adiposa de triglicéridos, HSL: lipasa sensible a hormona, MGL: lipasa monoacilglicerol (Vázquez-Vela ME et al, 2008)

1.2.2.3 Ácidos grasos libres

La obesidad está asociada con el aumento en la liberación de ácidos grasos no esterificados (AGNE) y triglicéridos a la circulación (Campbell PJ et al, 1994). Se han asociado grandes concentraciones de estos ácidos y triglicéridos circulantes con la acumulación de lípidos en múltiples tejidos, incluyendo hígado, músculo esquelético, corazón y células pancreáticas.

Los AGNE en plasma, junto con el glicerol son productos de la hidrólisis de triglicéridos y la fuente de energía más importante para un gran número de órganos. Los AGNE son metabolizados mediante la oxidación y la cetogénesis, mientras que el glicerol es canalizado a la vía gluconeogénica hepática (Jenkins-Kruchten AE et al, 2003).

Principalmente, los AGNE se liberan en el periodo de ayuno como fuente de energía para el resto del cuerpo, con acciones adicionales en la homeostasis de la glucosa. En los adipocitos la lipólisis está inhibida por la insulina, por ello, la resistencia a la insulina está asociada con el proceso de lipólisis y con la liberación de AGNE al torrente sanguíneo. Este incremento de AGNE en la circulación tiene graves consecuencias debido al mecanismo competitivo con la glucosa; puesto que en exceso de ácidos grasos el músculo los utilizan preferentemente (Arner P, 2002), produciéndose una disminución en la oxidación de la glucosa. Además, los AGNE inhiben la captación de glucosa dependiente de insulina a nivel del sistema de transporte, fosforilación o ambos (Boden G, 2002), también estimulan la glucogenogénesis dependiente de insulina. Al antagonizar a nivel hepático la acción de la insulina, se induce a un estado de resistencia que produce un aumento en la síntesis de glucosa endógena (Boden G, 2002). Por otro lado, los AGNE son responsables del 30 al 50 % de la secreción basal de insulina, e inducen también la liberación de insulina dependiente de la glucosa (Ziegler O et al, 2001). El resultado final es la hiperglucemia, la hiperinsulinemia, y la insulinoresistencia. Además, paralelamente el incremento de los AGNE se ha asociado con el proceso inflamatorio involucrado en la aterosclerosis, ya que éstos activan las vías de los factores de transcripción IkappaB y NkappaB, los cuales están involucrados en los mecanismos de inflamación a nivel endotelial, como también promueven el aumento de diacilglicerol y proteína quinasa C involucradas en los mecanismos de lipotoxicidad (Sheehan MT et al, 2000; Parks EJ et al, 2000).

1.2.3 El tejido adiposo como órgano endocrino

La clonación y descripción del gen de la leptina (Zhang Y et al, 1994), la cual es expresada principalmente en el tejido adiposo blanco, puso de manifiesto el papel endocrino del tejido adiposo, el cual ejerce diferentes acciones reguladoras, siendo capaz de coordinar y administrar cambios en el balance energético y en el estado nutricional general, a través de una serie de sustancias fisiológicas producidas por el adipocito, las adipocitoquinas (Valenzuela A et al, 2009).

Las adipocitoquinas actúan como mediadores bioactivos liberados por el tejido adiposo. Los efectos de éstas sobre la función vascular, la regulación inmune y el metabolismo hacen que el adipocito tenga un papel clave en el desarrollo de una serie de síntomas clínicos que incluye la homeostasis de la glucosa, la hipertensión, el metabolismo lipídico, la regulación del apetito, la función neuroendocrina y la función cardiovascular (Weiss R et al, 2004; Trujillo ME et al, 2006). Es más, muchas de las mismas adipocitoquinas implicadas en el desarrollo de la resistencia a la insulina inducida por la obesidad pueden alterar el metabolismo lipídico. Además de las funciones endocrinas en cuanto al control de

la ingesta de alimentos y/o del gasto energético, las adipocitoquinas pueden actuar localmente ejerciendo efectos autocrinos o paracrinos que pueden alterar las funciones del tejido adiposo y su capacidad de expansión (Miner JL, 2004; Sethi JK et al, 2007).

El número de adipocitoquinas descritas ha ido aumentando en los últimos años y existen indicios de que la lista será aún mayor con el tiempo (Figura 1.5). Algunas adipocitoquinas son liberadas por el tejido adiposo, tales como la resistina, la vifastina, la apelina, la omentina, la chemerina, etc, y otras que se comparten con otros sistemas, tales como la Interleuquina 6 (IL-6), la proteína quimiotáctica de monocitos (MCP-1), el inhibidor 1 del activador del plasminógeno (PAI-1) o el factor de necrosis tumoral (Lago F et al, 2007). Todas las adipocitoquinas en conjunto se encargan de integrar tanto la respuesta alimentaria como el gasto energético del organismo (Valenzuela A et al, 2009).

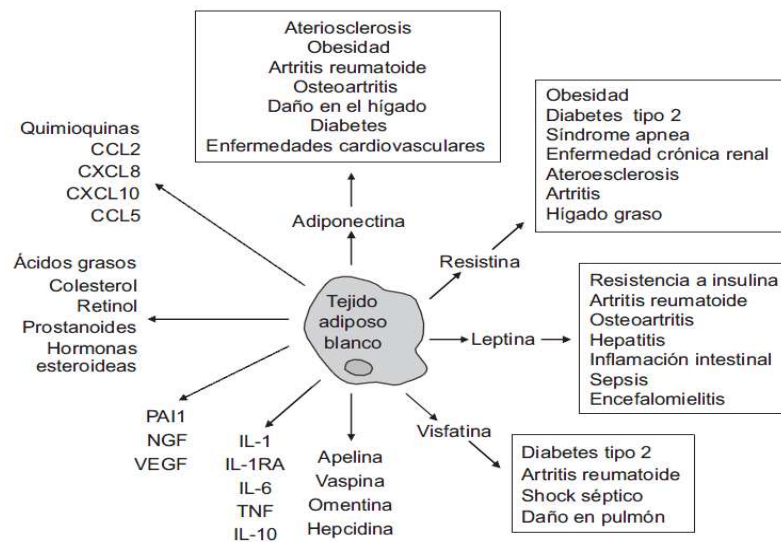


Figura 1.5. Representación esquemática de las múltiples adipocitoquinas secretadas por el tejido adiposo blanco y la implicación que presentan con enfermedades inflamatorias o autoinmunes. CCL2 (también conocida como MCP-1): quimioquina con motivo C-C ligando 2; CXCL8 (también conocida como IL8): interleucina 8; CXCL10 (también conocida como IP10): quimioquina con motivo C-X-C ligando 10; CCL5 (también conocida como RANTES): quimioquina con motivo C-C ligando 5; PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno 1; NGF: factor de crecimiento nervioso; VEGF: factor de crecimiento del endotelio vascular, IL: interleucina; IL-1RA: antagonista del receptor de interleucina 1; TNF: factor de necrosis tumoral (Gómez R et al, 2009).

Así, un mejor entendimiento de la función endocrina del tejido adiposo, que permita dilucidar la complicada red de comunicación de las adipocitoquinas entre ellas mismas y con otros órganos, permitiría desarrollar una terapia que pudiera combatir estos desordenes metabólicos. Entre todas estas hormonas secretadas por el tejido adiposo cabe destacar; la leptina, la cual actúa a nivel del hipotálamo modulando el peso corporal, la ingesta de alimentos y las reservas de grasa (Lord GM et al, 1998; Ge H et al, 2002), y la adiponectina, una proteína a la que se le han atribuido propiedades antiinflamatorias y antiaterogénicas (Ouchi N et al, 1999; Ouchi N et al 2000; Yokota T et al, 2000, Okamoto Y et al, 2000)

1.2.3.1 Leptina

Desde comienzos del siglo XX se han realizado diversas investigaciones para comprender la regulación del apetito y del peso corporal. En 1953 Kennedy propuso que el peso corporal está regulado, a la larga, por un factor humoral producido por los adipocitos en proporción a la cuantía de lípidos almacenados en el tejido adiposo, estableciéndose así un equilibrio entre la ingesta y la energía gastada (Kennedy GC, 1953). Posteriormente, en 1973, Coleman y colaboradores mediante experimentos de parabiosis con dos modelos de obesidad genética en el ratón: los ratones obesos *ob/ob* y los ratones diabéticos *db/db*, y con ratones normales demostraron que el producto del gen *ob* sería un factor encargado de regular la ingesta en el ratón (Coleman DL, 1973).

El posterior desarrollo de las técnicas de biotecnología y la biología molecular ha sido fundamental en el estudio de la obesidad a nivel molecular. De esta manera, a principios de la década pasada, en 1994 Zhang y colaboradores lograron la clonación del gen responsable de la obesidad en los ratones *ob/ob* (Zhang Y et al, 1994), cuyo producto génico se denominó leptina (del griego leptos o delgado).

El gen humano de la leptina (gen *Ob*) se encuentra en el cromosoma 7q31.3 (Isse N et al, 1995), su DNA tiene más de 15.000 pares de bases. El gen *Ob* incluye 650 Kb y está constituido por tres exones separados por 2 intrones. La región que codifica para la síntesis de la leptina se localiza en los exones 2 y 3. La leptina es un péptido de 167 aminoácidos, con una secuencia señal de 21 aminoácidos que se escinde antes de que la leptina pase al torrente circulatorio. Esta proteína madura de 146 aminoácidos y 16 kDa presenta una estructura terciaria similar a la estructura de las citoquinas clásicas de hélice larga, como la IL-2 (Madej T et al, 1995)

Actualmente se sabe que la leptina no sólo es producida por el tejido adiposo, sino también por el estómago (Bado A et al, 1998, Cinti S et al, 2000), la placenta (Hoggard N et al, 1997; Masuzaki H et al, 1997), el epitelio mamario (Smith-Kirwin et al, 1998) y, además, está presente en la leche materna (Casabiell X et al, 1997; Houseknecht KL et al, 1997). Los niveles circulantes de leptina en personas con normopeso oscilan en el rango de 1-15 ng/mL (Sinha MK et al, 1996), aunque, en general, el nivel circulante de leptina es proporcional al tejido adiposo (Maffei M et al, 1995; Considine RV et al, 1996).

La leptina presenta un ritmo circadiano relacionado, entre otros, con la pauta de ingesta, aumentando a lo largo del día en humanos (de hábitos diurnos) y reduciéndose en el caso de roedores (de hábitos nocturnos) (Licinio J et al, 1997). La secreción es pulsátil y está aumentada en exceso de alimentación y por insulina, glucocorticoides, endotoxinas y citoxinas, en cambio está disminuida en ayuno y por testosterona, hormona tiroidea y por la exposición a temperaturas frías (Coleman RA et al, 1999; Fried SK et al, 2000). Otro factor que determina los niveles de leptina es el sexo. Las mujeres presentan niveles de leptina más altos que los hombres, incluso después de ajustar los valores de acuerdo con el IMC, el porcentaje de grasa corporal, el grosor de los pliegues de la piel o la edad (Craft L et al, 2003).

El descubrimiento de la leptina dio paso al concepto del tejido adiposo como órgano capaz de producir y secretar sustancias con efecto endocrino, paracrino y autocrino, capaces de regular la diferenciación del adipocito y el balance energético del organismo. Además, hoy en día se sabe que la leptina no sólo está implicada en la regulación del balance energético, sino que participa también en otras muchas funciones fundamentales, como el sistema inmunitario, el sistema neuroendocrino, la reproducción y el desarrollo (Ahima RS et al, 2004). Al mismo tiempo, el conocimiento de sus diversos efectos cardiovasculares dio origen a explicaciones parciales sobre los factores que pueden asociar la obesidad con el proceso de aterosclerosis (Paragano AJ et al, 2006). Por tanto, la idea inicial de la leptina como una hormona antiobesidad ha cambiado hacia una perspectiva más compleja y se le ha definido como una hormona multifuncional.

1.2.3.1.1 Receptor de la leptina

El receptor de la leptina (Ob-R, también conocido como RLEP, LR, CD295 o HuB219) fue aislado por primera vez del plexo coroideo de ratón. Es una proteína de membrana homóloga a la familia de receptores de citoquinas clase 1; familia que incluye entre otras al receptor de la IL-2 e IL-6, el receptor del Interferón- γ , el receptor de la hormona del crecimiento y el del factor estimulante de colonias de

granulocitos (Ihle J, 1996; Cohen SL et al, 1997; Tartaglia LA, 1997; Auwerx J et al, 1998).

El gen OB-R codifica varias isoformas distintas del receptor a través de diferentes empalmes alternativos de las distintas regiones del gen; estas incluyen a los receptores Ob-Ra, Ob-Rb, Ob-Rc, Ob-Rd y Ob-Re (Tartaglia L et al, 1995; Lee GH et al, 1996). El receptor está formado por un área externa o dominio extracelular, que es idéntico en todas las isoformas, además, tiene un dominio transmembrana corto y un dominio citoplasmático efector. El tamaño de este dominio intracelular es variable, dando lugar a las distintas formas cortas y largas del receptor. Ob-Rb es la forma larga del receptor de la leptina, también conocido como Ob-RL, y tiene una larga región citoplasmática que contiene varios motivos necesarios para la transducción de señales (Tartaglia LA, 1997). El Ob-RL se encuentra en altas concentraciones en el cerebro (30-40% del total de Ob-R) y más concretamente en las zonas que regulan la alimentación, como en los núcleos arcuato, ventromedial y dorsomedial del hipotálamo (Tartaglia LA, 1997). En comparación con Ob-RL, las formas cortas del receptor Ob-RS (Ob-Ra, Rc, Rd, Re) están presentes en concentraciones relativamente bajas en el hipotálamo, pero están expresados por doquier en la microvasculatura y plexo coroideo del cerebro, y en los tejidos periféricos (Tartaglia L et al, 1995; Tartaglia LA, 1997; Chen H et al, 1996). En general, todas las isoformas del receptor se encuentra en bajas concentraciones (5-8% del total de Ob-R) en varios tejidos periféricos incluyendo el tejido adiposo, ovarios, testículos, placenta, médula suprarrenal, hígado, las células beta pancreáticas, pulmonares, yeyuno, las células mononucleares de sangre periférica, los condrocitos articulares, el corazón y en el músculo esquelético (Tartaglia LA, 1997; Cao GY et al, 1997; Briscoe CP et al, 2001; Figenschau Y et al, 2001; De Matteis R et al, 1998; Sánchez-Margalet V et al, 2001). Además, la isoforma Ob-Ra está presente en muchos tipos celulares y altamente expresada en el plexo coroideo, donde su función podría ser transportar la leptina a través de la barrera hematoencefálica (Tartaglia LA, 1995; Banks WA et al, 1996; Golden PL et al, 1997). La isoforma Ob-Re puede perder el dominio intracelular y circular como proteína unida a leptina (Sinha MK et al, 1996; Huseknecht KL et al, 1996). Esta forma de leptina, junto a otras proteínas gigantes, prolongaría la vida media de la misma (Huang L et al, 2001).

Al igual que el resto de receptores de citoquinas, el Ob-R carece de actividad tirosina-quinasa intrínseca dentro del dominio intracelular, por ello están ligados a Janus quinasas-2 (JAK2) (Banks et al, 2000). La JAK2 es la encargada de transmitir la señal en el interior a través de la fosforilación del transductor de la señal y activador de la transcripción proteica (STAT), asociado con el receptor Ob-R. Al fosforilarse STAT se activa e induce su dimerización, de esta manera se transloca al núcleo y activa la transcripción genética (Horvath CM, 2004). Tanto

las formas largas como las cortas del receptor de la leptina tienen la capacidad de activar a JAK2 de forma dependiente a la dosis de leptina (Bjørbaek C et al., 1997), aunque está claro que el Ob-RL es capaz de activar estas rutas con mayor fuerza que el resto de receptores de forma corta. La fosforilación del Ob-RL en el núcleo del hipotálamo se considera el paso crítico para la regulación de la ingesta y el gasto energético (Bates SH et al, 2003).

1.2.3.1.2 Mecanismos de acción de la leptina

La producción de leptina es dependiente del buen estado nutricional, de la maduración de los adipocitos y de la intensidad y regulación del metabolismo de los carbohidratos en estas células (Mueller WM et al, 1998; Wang J et al, 1998). La leptina decrece el peso corporal tanto por supresión del apetito como por incremento del consumo de energía (Campfield LA et al, 1995; Halaas JL et al, 1995; Pelleymounter MA et al, 1995; Stephens TW et al, 1995). Deficiencias de leptina resultan en obesidad mórbida tanto en animales como en humanos (Zhang Y et al, 1994; Montague CT et al, 1997; Strobel A et al, 1998).

Esta adipocitoquina es transportada a través de la barrera hematoencefálica, siendo este proceso de ingreso en el cerebro el determinante de su acción sobre la ingesta (Banks WA et al, 1996). La leptina activa las regiones cerebrales a través de su acción dentro del núcleo arqueado del hipotálamo (ARC), en él la leptina induce una disminución de la síntesis del neuropéptido Y (NPY) y el incremento de la expresión de la proopiomelanocortina (POMC) (Schwartz MW et al, 1998; Mizuno TM et al, 1998; Baskin DG et al, 2001). La POMC es procesada proteolíticamente para generar la hormona α estimulante de melanocitos (α -MSH) la cual activa los receptores 3 y 4 de la melanocortina (Roselli-Rehffuss L et al, 1993; Gantz I et al, 1993; Fan W et al, 1997; Huszar D et al, 1997; Chen AS et al, 2000). El NPY es uno de los orexígenos, que aumenta o estimula el apetito, más potentes y la α -MSH, producto de la escisión de la POMC, tiene efectos anorexígenos, es decir que inhibe el apetito.

Sin embargo, las concentraciones séricas de leptina se encuentran elevadas en las personas obesas, por ello se postula la hipótesis de que estos pacientes pueden ser resistentes a la acción de la leptina (Caro JF et al, 1996). Los sujetos obesos debido a esta resistencia tendrían como consecuencia un aumento del peso corporal y del apetito, a pesar de las altas concentraciones séricas de la misma, condición más frecuente en la obesidad humana (Maffei M et al, 1995).

Otra ruta de señalización activada por la leptina es de la fosfatidil inositol 3 quinasa (PI3K) (Niswender KD et al, 2001), en la que se induce la fosforilación de residuos de tirosina en el sustrato del receptor insulínico 2 (IRS2) mediante JAK2,

que a su vez fosforilan y activan PI3K. Adicionalmente, SH2B es una proteína citosólica que simultáneamente se une a JAK2 e IRS2, promoviendo la activación de la ruta PI3K (Duan C et al, 2004). La ruta PI3K es también activada por la unión de la insulina a su receptor, lo que supone un punto de confluencia entre la señalización de estas dos hormonas relacionadas estrechamente con la homeostasis energética (Xu AW et al, 2005). Además, la estimulación de la leptina para la activación de la ruta de la PI3K se ve alterada por la obesidad inducida por dieta (Metlakunta AS et al, 2008). La inhibición de esta ruta en el cerebro bloquea la habilidad de la leptina para reducir la ingesta de alimentos y el aumento de peso (Niswender KD et al, 2001; Zhao AZ et al, 2002). El factor de transcripción FOXO1 que es fosforilado e inhibido por Akt, parece ser un importante mediador de la ruta de la PI3K (Tang ED et al, 1999; Matsuzaki H et al, 2003; Kim MS et al, 2006; Kitamura T et al, 2006). La leptina inhibe tanto la actividad como la expresión de FOXO a través de la ruta de la PI3K (Kim MS et al, 2006).

Por otro lado, el efecto de la leptina sobre la oxidación de los ácidos grasos libres es mediado a través de la activación de la proteína-quinasa A (PKA). La hiperleptinemia induce el aumento de los ácidos grasos libres, incrementando el *stress* oxidativo en las células endoteliales vasculares. Este incremento de las ROS puede inducir la expresión de genes involucrados en varios procesos que conducen a la aterosclerosis, entre los cuales se encuentran el NF- κ B, la proteína activador 1 (AP-1) y la MCP-1 entre otras. El exceso de producción de MCP-1 inducido por la leptina, conduciría a la formación de bandas o estrías grasas, marcador temprano de la aterosclerosis (Bouloumie A et al, 1999; Yamagishi SI et al, 2001). También el exceso de leptina se ha asociado con un mayor riesgo de IAM, siendo esta asociación independiente de otros factores con los que se relaciona la hiperleptinemia, como es el IMC y la hiperinsulinemia (Söderberg S et al, 1999). Paralelamente, en los sujetos con ICC se produce hiperleptinemia, hecho que podría explicar la pérdida del balance hormonal característico del ICC (Leyva F et al, 1998).

Los mecanismos a través de los cuales la leptina esta involucrada en el desarrollo de estas complicaciones cardiovasculares no se han descrito exactamente hasta ahora, pero podría estar relacionado con el hecho de la resistencia selectiva a la misma. La resistencia a la regulación del apetito puede localizarse a nivel del SNC, mientras que las variaciones que conducen al riesgo cardiovascular pueden tener lugar a nivel de los tejidos periféricos, ya que allí no se produce variación en la respuesta. Además la resistencia a la leptina parece ser específica ya que algunas de sus acciones como la de la estimulación simpática no se ven afectadas (Mark AL et al, 2002; Rahmouni K et al, 2004)

1.2.3.2 Adiponectina

La adiponectina fue clonada y descrita durante los años 1995 y 1996 por cuatro grupos independientes utilizando técnicas diferentes. Por ello, podemos encontrar que esta proteína se le denomina con diferentes nombres en la bibliografía, siendo el más utilizado el de adiponectina. El primer grupo en publicar sus resultados fue el dirigido por Philip Scherer en el año 95, este grupo aisló el cADN de ratón utilizando la técnica de hibridación sustractiva a partir de ARN expresado durante la diferenciación a adipocito de los fibroblastos 3T3-L1 (Scherer PE et al, 1995). A la proteína que codificaba se le dio el nombre de Acrp30 (Adipocyte complement-related protein of 30KDa) debido a la homología del dominio globular del C-terminal con el del factor del complemento C1q. El extremo N-terminal de esta proteína estaba formado por un dominio colágeno rico en repeticiones Gly-X-Pro. Además, era una proteína que se expresaba específicamente en el tejido adiposo. En el siguiente trabajo, en el año 96, se describió la secuencia del cADN y la estructura de la adiponectina humana a partir de técnicas de secuenciación masiva de librerías de cADN (Maeda K et al, 1996). En este caso, la proteína se denominó apM1 (Adipose Most Abundant Gene Transcript 1) y se observó que compartía gran homología estructural y de secuencia con la proteína murina. Igual que en el caso anterior, era una proteína específica del tejido adiposo y se encontraba de forma abundante en sangre. En este mismo año se describió un gen de ratón específico del tejido adiposo y cuya expresión estaba disminuida en ratones y humanos obesos (Hu E et al, 1996). En este caso, la adiponectina fue llamada Adipo Q. También en 1996, la adiponectina fue purificada del plasma humano mediante técnicas de cromatografía de afinidad y posteriormente secuenciada. Se le denominó GBP28 y era completamente homóloga a la proteína apM1 publicada con anterioridad (Nakano Y et al, 1996).

El gen de la adiponectina ha sido mapeado en el cromosoma 3, en el locus 3q27 (Takahashi M et al, 2000). Ocupa aproximadamente 17 Kb y está formado por 3 exones y 2 intrones. La adiponectina es una proteína de 247 aminoácidos, con una masa molecular de 30 kDa y con 4 dominios: una secuencia amino terminal, donde se encuentra la secuencia señal, seguida de un dominio variable de 27 aminoácidos, un dominio colágeno formado por 22 tripletes glicina-x-tirosina y finalmente un extremo carboxi terminal de 137 aminoácidos, que dan lugar a un dominio globular. El dominio globular de la adiponectina muestra homología con otras proteínas, como son el colágeno tipo VIII y el X, el factor del complemento Cq1 y con una proteína encontrada en el suero de animales que hibernan durante los meses de verano, la hibernina Hib27 (Scherer PE et al, 1995). Sin embargo, su estructura cristalográfica se asemeja al TNF- α (Shapiro L et al, 1998). Además, la proteína codificada puede sufrir modificaciones postraduccionales o procesos

proteolíticos que influyen en su capacidad funcional y de unión (Wang Y et al, 2002).

Es una proteína que se sintetiza principalmente en el tejido adiposo blanco y es producida durante la diferenciación del adipocito. La adiponectina se encuentra presente en el plasma humano en un rango de concentración de 3-30 $\mu\text{g}/\text{mL}$, suponiendo aproximadamente un 0,01% del total de las proteínas plasmáticas (Arita Y et al, 2002), observándose concentraciones mayores en mujeres que en hombres (Hotta K et al, 2000; Yamamoto Y et al, 2002). Los monómeros de adiponectina pueden formar estructuras más complejas formadas por la unión de estos monómeros mediante puentes disulfuro. Así, pueden formar trímeros (LMW; moléculas de bajo peso molecular) o complejos de mayor orden, que incluyen los hexámeros (MMW; moléculas de medio peso molecular) y los octámeros (HMW; moléculas de elevado peso molecular). Los adipocitos pueden secretar las formas MMW y HMW de la adiponectina, las cuales son las formas predominantes en suero, mientras que los complejos más pequeños, LMW, se encuentran muy poco representados. Cada una de estas formas posee diferentes puntos de acción en diferentes tejidos (Tsao TS, 2003). Además, la forma completa de los multímeros de la adiponectina pueden ser liberados de un fragmento que contiene el dominio carboxi terminal globular, el cual muestra potentes efectos metabólicos, particularmente en el músculo esquelético (Ceddia RB et al, 2005, y Fang X et al, 2005), y recientemente se ha propuesto que este mismo extremo puede interactuar con otras proteínas dando lugar a una señalización intracelular (Innamorati G et al, 2006). También, se ha propuesto que la región amino terminal de la adiponectina puede actuar como un posible dominio fisiológicamente funcional que puede ser reconocido por receptores de diferentes tipos celulares (Ujiie H et al, 2006).

Por ello, aunque se ha avanzado mucho en el descubrimiento de la adiponectina todavía no están claros los mecanismos de control de su síntesis, no solo los que tienen lugar en el adipocito, sino también las modificaciones que sufre tras su traslación, requeridas para la formación de los oligómeros. Además, el gen de la adiponectina se encuentra ubicado en la región del cromosoma donde, precisamente, se ha identificado el locus susceptible para el síndrome metabólico y la resistencia a la insulina (Kissebah AH et al, 2000) y la DMT2 (Vionnet N et al, 2000). El conocimiento de todos estos pasos contribuirán a la comprensión del papel de esta hormona en la salud humana y en la patogénesis de las enfermedades metabólicas.

1.2.3.2.1 Receptores de la adiponectina

En 2003, fueron caracterizados dos receptores para la adiponectina, éstos se denominan receptor de adiponectina 1 (ADIPOR1) y receptor de adiponectina 2 (ADIPOR2). Están codificados por los genes ADIPOR1 y ADIPOR2, los cuales están localizados en el cromosoma 1p36.13-q41 y 12p13.31, respectivamente (Yamauchi T et al, 2003). Yamauchi y colaboradores analizaron primero el ADIPOR1. Posteriormente, el equipo de Yamauchi buscaron en bases de datos genes homólogos al del ADIPOR1 y encontraron uno que compartía un 67% de los aminoácidos que lo constituían, al que llamaron ADIPOR2. En la siguiente figura vemos la similitud entre ambos receptores (Figura 1.6):

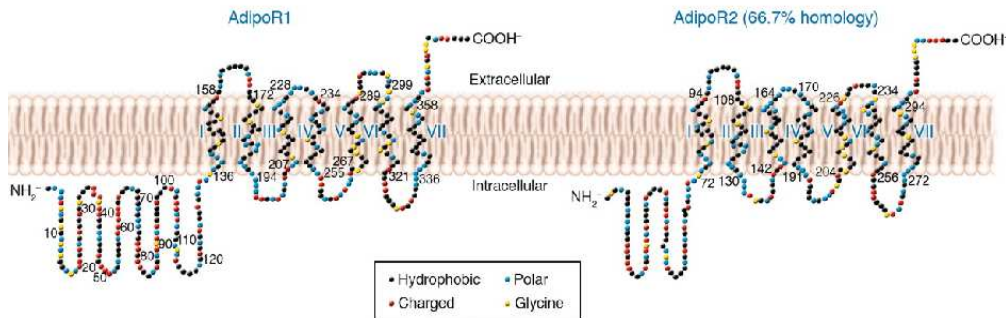


Figura 1.6. Estructura propuesta para los receptores de la adiponectina, ADIPOR1 y ADIPOR2, respectivamente (Kadowaki T et al, 2006)

ADIPOR1 se expresa en todas partes, siendo más abundante su expresión en el músculo esquelético, mientras que el ADIPOR2 se expresa principalmente en el hígado (Yamauchi T et al, 2003). También se ha descrito la expresión de ambos receptores en las células β pancreáticas, en cantidades similares al hígado y superiores al músculo (Kharroubi I et al, 2003). Estos trabajos sugieren la existencia de una interacción entre el músculo y la célula β a través de la adiponectina, pero la naturaleza molecular de este nexo de unión está todavía por clarificar.

Ambos receptores son proteínas integrales de membrana, con el extremo amino terminal en el interior y el extremo carboxi terminal en el exterior de la célula, lo cual es opuesto a la topología de todos los receptores acoplados a una proteína G (Yamauchi T et al, 2003). Parece ser que la forma globular de la adiponectina se une más eficientemente al ADIPOR1, mientras que la forma

completa se une principalmente al ADIPOR2, mediando el incremento de AMP quinasa, la actividad de los ligandos de PPAR- α , la oxidación de los ácidos grasos y la absorción de glucosa (Combs TP et al, 2003). Por otro lado, se observó que la T-caderina era capaz de unirse a la adiponectina en mioblastos C2C12. Sin embargo, la T-caderina no se expresa en los hepatocitos del hígado, siendo éste el órgano diana más importante de la adiponectina, proponiendo con ello que la unión a T-caderina afecta a la biodisponibilidad de la adiponectina (Hug C et al, 2004). También se ha mostrado que una proteína adaptadora llamada APPL1, interactúa con los receptores de la adiponectina en células de mamíferos por acción de la adiponectina. La sobreexpresión de APPL1 aumenta, mientras que la supresión de APPL1 disminuye, la señalización de la adiponectina, así como la cascada de acontecimientos posteriores mediados por la adiponectina. (Mao X et al, 2006).

Por otro lado, se ha mostrado que la adiponectina está presente en el líquido cefalorraquídeo de los roedores y de los seres humanos (Kubota N et al, 2002, Kubota N et al, 2006, Kos K et al, 2007), introduciéndose desde la circulación a dicho fluido (Kubota N et al, 2007). Además, los receptores de la adiponectina se han observado que se expresan de forma abundante en el hipotálamo (Kos K et al, 2007), en el centro del hambre y de la saciedad (Smith PM et al, 2008). Recientemente se puso de manifiesto que los receptores 1 y 2 de la adiponectina están presentes en las neuronas que expresan proopiomelanocortina (POMC) y neuropéptido Y (NPY) (Guillod-Maximin E et al, 2009), sugiriendo así el potencial papel de la adiponectina en la regulación de la ingesta.

1.2.3.2.2 Mecanismos de acción de la adiponectina

El mecanismo responsable del control de la síntesis de adiponectina no se ha determinado detalladamente hasta ahora, pero manipulaciones alimenticias y terapéuticas, como la mejora de la sensibilidad a la insulina, la pérdida del peso, la restricción calórica y el tratamiento con tiazolidinedionas (TZDs), pueden aumentar la expresión del gen de la adiponectina en el tejido adiposo y aumentar sus niveles en plasma (Milan G et al, 2002, Maeda N et al, 2001, Combs TP et al, 2003). En cambio, la expresión y secreción de adiponectina de biopsias humanas del tejido adiposo o de células adiposas cultivadas, son reducidas perceptiblemente por TNF- α e IL-6 (Fasshauer M et al, 2003).

Se ha propuesto que la adiponectina está involucrada en los efectos que se producen sobre el endotelio vascular. Puesto que la arteriosclerosis se considera un fenómeno inflamatorio endotelial, un aumento en la concentración plasmática de adiponectina podría retrasar la aparición de la enfermedad coronaria puesto que se produce una reducción de la IL-6 y del TNF- α , ambas citoquinas proinflamatorias

(Rothenbacher D et al, 2005). En este mismo sentido, hay estudios que indican que se produce un aumento de la síntesis de óxido nítrico (NO) endotelial a través de la activación de la NO sintetasa por medio de la acción de la adiponectina, cuando su concentración en circulación está disminuida por el proceso de disfunción endotelial (Searles CD, 2006).

Se ha establecido que la adiponectina juega un papel clave en el control de la homeostasis de la energía mediante la regulación de la glucosa y el metabolismo de los ácidos grasos en tejidos periféricos como el músculo y el hígado (Berg AH et al, 2002). De hecho, en el músculo esquelético la adiponectina aumenta la expresión de proteínas implicadas en el transporte y oxidación de los ácidos grasos, como el CD36 y la Acil Coenzima A oxidasa, respectivamente, y de moléculas encargadas de la disipación de energía a partir de ácidos grasos, como la UCP-2. Todo esto conduciría al aumento del consumo de ácidos grasos y a la disminución en el contenido de triglicéridos (Yamauchi T et al, 2001), al producirse esta disminución de triglicéridos en el músculo debido a la acción de la adiponectina podría contribuir a facilitar la transducción de la señal del receptor de la insulina. Estos efectos de la adiponectina están mediados por el receptor activado de proliferador de peroxisoma (PPAR- α), el cual es un factor de transcripción que regula la expresión del CD36, Acil CoA oxidasa y de UCP-2. Además, los efectos de la adiponectina también son mediados a través de la p38 proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK) (Yamauchi T et al, 2003). Yoon y colaboradores mostraron que la adiponectina aumenta la oxidación de los ácidos grasos en el músculo esquelético por medio de la activación secuencial de AMPK, p38 MAPK y PPAR- α (Yoon MJ et al, 2006).

Por otro lado, en el músculo esquelético también hay una expresión relativamente alta de APPL1. La sobreexpresión de APPL1 en miocitos en cultivo aumenta significativamente la fosforilación de AMPK, p38 MAPK, ACC y la oxidación de los ácidos grasos. Por el contrario, la supresión de APPL1 atenúa estos efectos, lo que indica el papel clave del APPL1 en la regulación de la adiponectina del metabolismo lipídico en el músculo esquelético (Mao X et al, 2006).

En el hígado, la adiponectina disminuye la gluconeogénesis al atenuar los niveles de expresión de fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK) y de glucosa-6-fosfatasa (G6PD), conduciendo a una reducción de los niveles de glucosa (Yamauchi T et al, 2002). La aguda disminución de la glucosa por efecto de la adiponectina está mediado por la activación de AMPK y del transductor de la actividad regulada de CREB, y solo la forma completa de la adiponectina activa la AMPK, produciendo el aumento de la fosforilación de la ACC y la oxidación de ácidos grasos en el hígado. La adiponectina activa también los PPAR- α ,

estimulando así la oxidación de las grasas y la disminución del contenido de triglicéridos en el hígado (Kadowaki T et al, 2005).

Por otro lado, es probable que la adiponectina contribuya a la diafonía entre los tejidos periféricos y el cerebro y, específicamente, en los procesos de detección de energía del cerebro. De hecho, la adiponectina desempeña funciones pleiotrópicas en varios tejidos periféricos a través de diferentes mecanismos y puede ser un mensajero clave para la homeostasis de la energía central. Ambos receptores de la adiponectina se encuentran en todo el sistema nervioso central, especialmente en las regiones del hipotálamo y el tronco cerebral, regiones importantes en el comportamiento de la alimentación (Fry M et al 2006, Kubota N et al, 2007, Wilkinson M et al, 2007). Estos datos refuerzan el potencial papel de la adiponectina y sus receptores en la regulación central de la ingesta y el gasto energético. En la siguiente figura se resumen algunos de los efectos principales de la adiponectina en los diferentes tejidos (Figura 1.7.).

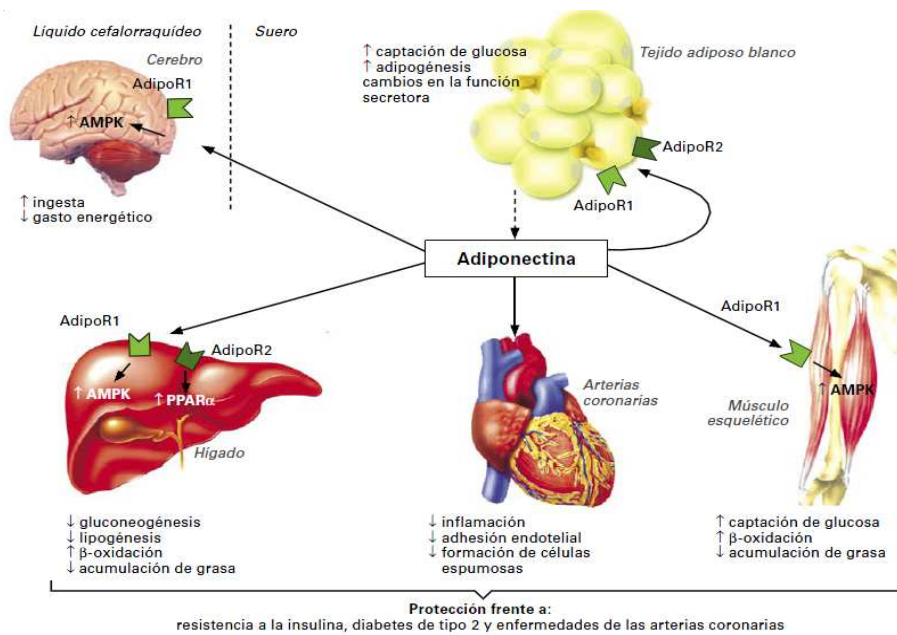


Figura 1.7. Representación esquemática de la acción de la adiponectina en el hígado, músculo esquelético, arterias coronarias y sobre el control hipotalámico de la ingesta y el gasto energético (Bonet ML et al, 2009)

En resumen, la adiponectina media la acción de la AMPK y el PPAR- α permitiendo la reducción en el hígado de la gluconeogénesis y el incremento de la captación de glucosa en el músculo, resultando en una reducción de los niveles de glucosa in vivo, y un aumento de la oxidación de los ácidos grasos en ambos tejidos. Por tanto, la adiponectina parece ser una importante hormona, la cual media la regulación del metabolismo de los lípidos y la acción de la insulina.

1.3 Regulación del balance energético corporal

La estabilidad en los depósitos de energía corporales sugiere la existencia de un sistema homeostático el cual, a través de una serie de mecanismos fisiológicos, se encarga de mantener el equilibrio entre la ingesta y el gasto energético (Schwartz MW et al, 2000). Una alteración en la capacidad reguladora de este sistema da lugar a una situación de obesidad o de pérdida de peso. Entre los mecanismos encargados de mantener la estabilidad del peso corporal se encuentran numerosas hormonas, receptores y regiones nerviosas, las cuales, mediante diversos circuitos neuronales, se encargan de conectar los centros del apetito con los de la saciedad, a través de señales tanto aferentes como eferentes (Badman MK et al, 2005). Estas regiones nerviosas involucradas en la regulación de la ingesta se encuentran principalmente localizadas en el hipotálamo y el tallo cerebral.

En el hipotálamo las zonas encargadas de esta regulación son el núcleo arcuato, paraventricular y dorsomedial y las áreas ventromedial y lateral (Solomon A et al, 2004). El núcleo arcuato es uno de los núcleos más importantes del sistema y se le asocia con una función integradora del balance energético. Contiene dos poblaciones neuronales con efectos opuestos en el control del apetito; por una lado las neuronas que expresan el NPY y la AgRP las cuales estimulan la ingesta, son orexigénicas, y por otro, las que expresan la POMC y el CART ambas anorexigénicas (Wynne K et al, 2005). En las neuronas con POMC se produce la MSH- α y se une al receptor 4 de la melanocortina (MC4R) en el núcleo paraventricular para suprimir la ingesta de alimentos (Schwartz MW et al, 2000). Ambas poblaciones proyectan hacia el núcleo paraventricular, y también se comunican con los núcleos dorsomedial, lateral y ventromedial. Además, en el núcleo arcuato existe una débil barrera hematoencefálica situada para una comunicación directa con señales periféricas. Por otro lado, el núcleo ventromedial ha sido reconocido como "el centro de saciedad", en él se expresa el BDNF suprimiendo la ingesta a través de la señalización con MC4R (Xu B et al, 2003), mientras que el área hipotalámica lateral se conoce como "el centro del apetito", ya que contiene hormonas orexigénicas (Wynne K et al, 2005).

Además, el tallo cerebral también se encarga del control de apetito y del peso corporal mediante la agregación de la información aferente procedente del nervio vago, el cual indica la situación nutricional del individuo (Broberger C, 2005). A través del nervio vago se transmiten señales nerviosas aferentes provenientes de mecanorreceptores, como el estiramiento gástrico, y quimiorreceptores, como la presencia de nutrientes, osmolalidad o pH (31), llegando hasta las partes media y dorsomedial del núcleo del tracto solitario (NTS). El NTS se proyecta hacia el tálamo el cual se comunica con la corteza sensorial visceral que media la percepción de plenitud y saciedad gastrointestinal (Ahima RS et al, 2008).

Por lo tanto, señales periféricas provenientes del estómago, el intestino, el hígado, el tejido adiposo e incluso factores sociales o emocionales, transmiten la información a través de las fibras aferentes vagales al tallo cerebral o directamente al hipotálamo para modificar el apetito (Suzuki K et al, 2010).

1.3.1 Regulación de la ingesta

El sistema encargado de la regulación de la ingesta esta formado a su vez por dos componentes; uno que actúa a corto plazo y otro que interviene a largo plazo controlados por mecanismos distintos aunque interrelacionados entre sí (Badman MK et al, 2005). El sistema de corto plazo es el encargado de transmitir señales que promueven el apetito o la finalización de la ingesta, son conocidas como “señales de saciedad”, y se encargan de limitar la cuantía de cada comida (Woods SC et al, 1998). Sin embargo, estas señales resultan insuficientes para explicar la estabilidad del peso corporal. Por ello existen otras señales emitidas en función de la energía consumida en periodos prolongados de tiempo y en proporción a las reservas de tejido adiposo, son los “señales de adiposidad” y se encargan, por tanto, de la regulación del peso corporal (Sánchez-Lasheras C et al, 2009).

1.3.1.1 Regulación a corto plazo

El principal factor que determina la proporción de alimento ingerido en una comida es la saciedad, contribuyendo a la finalización de la ingesta. La cantidad de alimento consumido en cada comida tiene que estar regulada para el mantenimiento de la homeostasis energética. El cese de la ingesta se produce debido a la acción coordinada de señales hormonales y neuronales que surgen en el tracto gastrointestinal, según las propiedades fisicoquímicas de los alimentos ingeridos (Cummins DE et al, 2007). Las señales de saciedad que se generan en el transcurso de una comida son procesadas en el núcleo del tracto solitario, donde son conducidas para producir la finalización de la ingesta (Yamamoto M et al,

2003). Entre las señales a corto plazo la mayoría son anorexigénicas salvo la ghrelina y el sistema endocanbinoide que promueven el apetito.

1.3.1.1.1 Señales emitidas por el tracto gastrointestinal

Diversas hormonas del tracto gastrointestinal están involucradas en la regulación de la ingesta de comida. La presencia de alimento en el estómago y el intestino induce la secreción de muchas de estas hormonas a través de estímulos químicos y mecánicos. Entre ellas destacan las siguientes:

- **Colecistoquinina (CCK):** fue la primera hormona intestinal descrita en la modulación de la ingesta de alimentos (Gibbs J et al, 1973). Es secretada por células endocrinas de la mucosa del intestino delgado proximal, sus niveles aumentan rápidamente estando presente en plasma unos pocos minutos (Liddle RA et al, 1985). CCK influye sobre la motilidad intestinal, la contracción de la vesícula biliar, la secreción pancreática, el vaciado gástrico y la secreción de ácido gástrico (Grider JR, 1994; Schwartz GJ et al, 1997; Chandra R et al, 2007; Raybould HE, 2007). Produce la inhibición del apetito a través del receptor CCK-1 a través de señales aferentes al nervio vago (Edwards GL et al, 1986; Lorenz DN et al, 1982; Moran TH et al, 1988; Moran TH et al, 1997).
- **Glucagón, péptido relacionado con el glucagón 1 y 2 (GLP-1 y GLP-2) y oxintomodulina:** son péptidos derivados del preproglucagón, el cual es escindido mediante convertasas para producir glucagón principalmente en el páncreas y GLP-1, GLP-2 y oxintomodulina en el SNY y el intestino (Simpson KA et al, 2009). La acción más conocida del glucagón es promover la síntesis hepática de glucosa estimulando la glucogenolisis y la glucogenogénesis. La GLP-1 es secretada al torrente circulatorio en proporción a las calorías consumidas, generando un efecto anorexigénico a través del tallo cerebral (Gutzwiller JP et al, 1999; Kaushik N et al, 2005). Por otro lado, se ha observado que GLP-2 no ejerce ningún efecto sobre el control de la ingesta (Drucker DJ, 1999; Schmidt PT et al, 2003), sin embargo, puede estimular el crecimiento de la mucosa intestinal (Drucker DJ, 1999). La oxintomodulina es liberada después de la ingesta y ejerce un efecto inhibitorio de la ingesta al atravesar la barrera hematoencefálica y estimular las neuronas del núcleo arcuato (Wynne K et al, 2006).
- **Péptido YY (PYY):** es una proteína de 36 aminoácidos producida en las células endocrinas intestinales ubicadas en la mucosa del ileon, y es secretada a la sangre después de las comidas. Existen dos derivados de este péptido; el PYY 1-36 que es la forma completa de la proteína, esta puede

sufrir la escisión de los residuos prolina y tirosina del extremo N-terminal dando lugar al PYY 3-36, siendo la forma más abundante en la circulación. Pertenece a la familia del PP y del NPY, y tiene una alta afinidad por los receptores Y2R del núcleo arcuato, produciendo una inhibición del apetito (Nonaka N et al, 2003), sugiriendo que el PYY es un importante regulador a corto plazo de la ingesta (Small CJ et al, 2004). La secreción de PYY también es proporcional al contenido calórico de la ingesta (Degen L et al, 2005; Le Roux CW et al, 2006). Además, se ha visto implicado en la motilidad gastrointestinal y es considerado el principal componente del “freno ileal”, retrasando el vaciado gástrico causando la sensación de saciedad (Pironi L et al, 1993; Lin HC et al, 1996).

- **Ghrelina:** es un producto específico de las células endocrinas del estómago, estimula la ingesta energética y es el factor orexigénico más potente conocido actualmente (Wiedmer P et al, 2007). Ha sido identificada como un ligando endógeno del receptor que estimula la secreción de la hormona del crecimiento (Kojima M et al, 1999). De manera opuesta a otros péptidos, se presentan niveles elevados de ghrelina en el ayuno y en periodos de restricción calórica, mientras que están disminuidos con el exceso de ingesta y en la obesidad, debido a una inhibición de la expresión de ghrelina en el tracto gastrointestinal (Muccioli G et al, 2002). La ghrelina actúa como hormona endocrina en el tracto gastrointestinal y en el cerebro interviniendo en la regulación de la ingesta y el balance energético (Tschöp M et al, 2000; Wren AM et al, 2001). Su efecto lo ejerce a través neuronas orexigénicas del núcleo arcuato y a través del nervio vago (Asakawa A et al, 2001).
- **Sistema endocanabinoide:** ejerce un efecto orexigénico al interactuar con el hipotálamo. Entre ellos la molécula más relevante es la oleiletanolamida (OEA), la cual es sintetizada en el intestino delgado, actuando por medio del nervio vago (Rodríguez de Fonseca F, 2004) e impidiendo el efecto de la CCK (Gaetani S et al, 2003). Los endocannabinoides actúan como moduladores de la conducta alimentaria a través de la activación del receptor canabinoide tipo 1 (CB1) (Williams AM et al, 1999; Di Marzo V et al, 2001; Cota D et al 2003(a)), el cual está localizado tanto en la periferia como en muchas áreas del cerebro envueltas en la regulación de la homeostasis energética (Breivogel CS et al, 1997; Tsou K et al, 1998). Paralelamente, se ha mostrado que el sistema endocanabinoide y la ghrelina interactúan para ejercer su acción. Específicamente, se ha observado que la ghrelina estimula al sistema endocanabinoide a nivel central (Kola B et al, 2008) y el bloqueo del receptor CB1 atenúa la acción orexigénica de la ghrelina (Tucci SA et al, 2004).

1.3.1.1.2 Señales emitidas por los nutrientes

El sistema nervioso además de su capacidad de respuesta a hormonas, también responde ante la presencia de nutrientes, los cuales generan señales hacia el SNC sobre el estado energético modulando la ingesta (Sánchez-Lasheras C et al, 2009), ya que según la proporción de nutrientes ingeridos predominan diferentes rutas metabólicas cuyos metabolitos actúan de manera diferente.

En una dieta rica en grasas ciertos péptidos orexigénicos son altamente regulados (Wortley KE et al, 2003; Chang GQ et al, 2004). Los sustratos lipídicos son degradados a ácidos grasos libres y glicerol disminuyendo la ingesta. En función del tipo de ácido graso se muestran diferencias en las señales de saciedad, ya que tienen mayor efecto saciante los ácidos grasos de cadena corta y los poliinsaturados (Alfred RC et al, 2003; Palou A et al, 2004(a)).

También, la presencia de lípidos y carbohidratos en el intestino estimula la secreción de PYY (Mendieta-Zeron H et al, 2007) involucrado en el retraso del vaciamiento gástrico y en la generación de la sensación de saciedad. Además, en la homeostasia de la glucosa interviene el sistema hipotalámico (Obici S et al, 2001), una situación de hipoglucemia aguda incrementa la expresión de NPY y de AgRP ambas orexigénicas y disminuye la expresión de POMC, envuelta en la limitación del apetito (Ritter S et al, 2006), y la activación de la AMPK a nivel del núcleo ventromedial interviniendo en la regulación de la glucosa (McCrimmon RJ et al, 2008).

Por otro lado, un exceso de proteínas en la dieta produce una disminución de la ingesta ya que inducen sensación de saciedad (Bensaid A et al, 2002), actuando en distintas zonas del SNC o a través de receptores en el hígado o la vena porta (Nijima A et al, 1995). La ingesta de proteínas incrementa la secreción de CCK y de PP reduciendo el apetito (Blundell JE et al, 2002; Mendieta-Zeron H et al, 2007). Al igual que las proteínas, la fibra también posee un elevado poder saciante al demorar el proceso de vaciamiento gástrico (Stubbs R, 1999).

1.3.1.2 Regulación a largo plazo

Para el mantenimiento del peso y de la composición corporal se establecen una serie de mecanismos que actúan a largo plazo, las llamadas “señales de adiposidad”, siendo proporcionales a los almacenes de depósitos grasos. Entre ellas las más importantes son las producidas por la insulina y la leptina, que interactúan entre ellas para el mantenimiento del equilibrio energético corporal (Wilding JP, 2002).

- **Insulina:** es sintetizada por las células β del páncreas, su concentración aumenta rápidamente con la ingesta de comida (D'Alessio DA et al, 2001). La insulina ejerce como regulador de la homeostasis de la glucosa y la energía (Stockhorst U et al, 2004). La insulina presenta un doble efecto sobre la regulación de la ingesta y el peso. Por un lado atraviesa la barrera hematoencefálica y actúa sobre neuronas del núcleo arcuato y del ventromedial disminuyendo el apetito y la ganancia de peso (Plum L et al, 2005). Pero, a nivel periférico disminuye los niveles de glucosa, lo que conduce al incremento del apetito (Fanelli CG et al, 2004). Además, la insulina aumenta la síntesis de lípidos y la disminución la producción glucógeno regulando así el metabolismo energético (Pocai A et al, 2005).
- **Leptina:** es principalmente sintetizada por el tejido adiposo, como ya se ha descrito anteriormente. Sus niveles no varían de manera significativa después de la ingesta de alimentos (Korbonits M et al, 1997). La leptina es transportada a través de la barrera hematoencefálica y ejerce su efecto anorexigénico a través del núcleo arcuato (Banks WA et al, 1996). Esta adipocitoquina produce la inhibición del NPY y del AgRP mientras que activa el POMC y el CART (Schwartz MW et al, 2000; Sahu A, 2003), reduciendo la ingesta (Schwartz MW et al, 2000) y aumentando el gasto energético (Palleymounter MA et al, 1995).

Por lo tanto, la regulación del balance energético se establece a través de señales nutricionales y hormonales producidas por distintos órganos del sistema gastrointestinal ejerciendo un control a corto plazo a través de las “señales de saciedad”. Estas señales están influenciadas por las “señales de adiposidad” que actúan a largo plazo y cuya presencia depende de la cantidad de grasa corporal. Ambas señales son transmitidas al hipotálamo y al tallo cerebral para establecer un equilibrio entre el apetito y la saciedad, y cuya integración contribuye a mantener estable el peso y la composición corporal (Figura 1.8.).

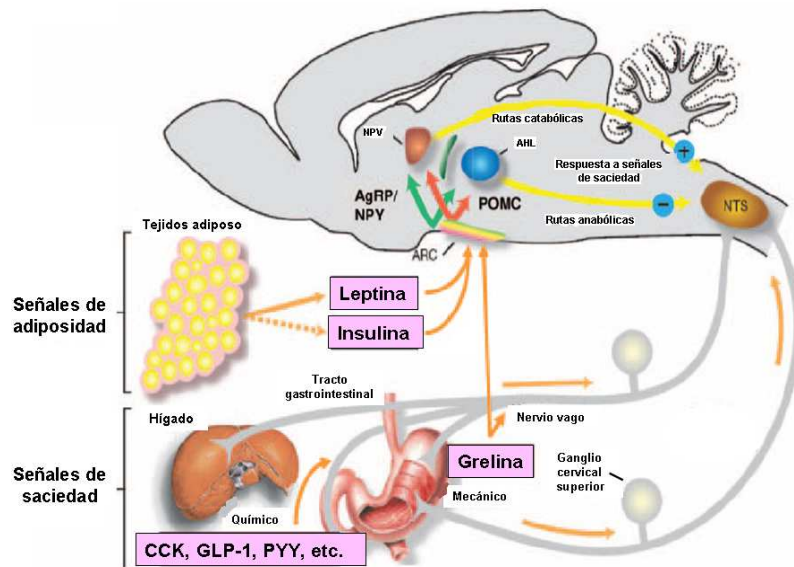


Figura 1.8. Representación esquemática de las diferentes señales que influyen en la regulación del apetito. CCK: colecistoquinina; GLP-1: péptido 1 relacionado con el glucagón; PYY: péptido YY; ARC: núcleo arcuato; AgRP: péptido Agouti relacionado; NPY: neuropéptido Y; POMC: proopiomelanocortina; NPV: núcleo paraventricular; AHL: área hipotalámica lateral; NTS: núcleo del tracto solitario (Woods SC et al, 2008)

1.3.2 Regulación del gasto energético

Las variaciones en el gasto energético suponen una de las dianas principales en el control de la obesidad. Diversas condiciones pueden alterar el metabolismo basal produciendo variaciones en el consumo energético. Los mecanismos involucrados en el control de la ingesta y el gasto energético son completamente diferentes, sin embargo, se encuentran ampliamente relacionados. Un individuo realiza un consumo energético a través de diferentes mecanismos que ayudan al mantenimiento del peso corporal (Obregón MJ, 2007). Los principales procesos que conducen al consumo energético en los individuos son la termogénesis en respuesta a diferentes señales y la actividad física.

- **Termogénesis obligatoria.** La termogénesis obligatoria supone el 60-70% del total del gasto energético diario. Es la energía que consume un individuo en estado de reposo, en ayunas y en condiciones de temperatura estable (Obregón MJ, 2007), necesaria para la realización de los procesos vitales del organismo, como son la respiración, el mantenimiento de la temperatura, la síntesis de

compuestos orgánicos, etc. Existe variación en el consumo energético entre diferentes individuos en iguales condiciones (Ravussin E et al, 1986), debidas a las variaciones que se producen en metabolismo del músculo en reposo (Zurlo F et al, 1990). Los hombres presentan mayor metabolismo basal que las mujeres, correlacionandose con la cantidad de masa magra del sujeto.

- **Termogénesis alimentaria.** La ingesta alimenticia conlleva una serie de procesos posteriores como la digestión, absorción, distribución y almacenamiento de los nutrientes que producen un gasto energético, conocido como el efecto térmico de la comida. Este proceso esta regulado por el sistema parasimpático. El gasto energético depende de la composición nutricional de los alimentos ingeridos, siendo superior con el consumo de proteínas e hidratos de carbono y con la adición de condimentos a los alimentos (Obregón MJ, 2007).
- **Termogénesis facultativa.** La termogénesis facultativa es un proceso mediante el cual se produce una disipación de energía en forma de calor en respuesta a variaciones en las condiciones ambientales como el estrés por frío y la sobre alimentación (Sánchez-Lasheras C et al, 2009). Esta modulada por el sistema nerviosos simpático el cual activa la termogénesis del tejido adiposo marrón en la exposición al frío y la ingesta de alimentos (Lowell BB et al, 2003).
- **Actividad física.** El gasto energético que conlleva la actividad física se produce debido a la contracción muscular. Este gasto de energía varía en función del estilo de vida del individuo, suponiendo un individuos sedentarios alrededor del 10% del gasto energético total llegando a aumentar considerablemente en deportistas (Obregón MJ, 2007). Además de la actividad física voluntaria, se ejerce una contracción muscular involuntaria que también ocasiona un gasto energético. Esta actividad muscular involuntaria se denomina NEAT (nonexercise activity termogénesis) (Levine JA et al, 1999) e incluye el mantenimiento de la postura, la mímica facial, la agitación y otros reflejos involuntarios que conllevan gasto energético.

1.4 Factores relacionados con el desarrollo de la obesidad

La obesidad es el resultado de un prolongado balance positivo de energía, que produce un exceso de masa grasa corporal. Es una enfermedad crónica, compleja, producto de la interacción de factores genéticos, ambientales y estilos de vida (Silventoinen K et al, 2000, Loos RJ et al, 2003). Por ello, las condiciones ambientales que se han desarrollado en los últimos años han propiciado el incremento progresivo de la obesidad, dada la carga genética que nos ha permitido sobrevivir a lo largo de la evolución. En este sentido, se ha de considerar que ha

pesar de la susceptibilidad genética a desarrollar esta patología la interacción entre genética y ambiente es el factor desencadenante para la expresión fenotípica de la obesidad.

1.4.1 Factores sociodemográficos

1.4.1.1 Edad y sexo

La incidencia de la obesidad en las diferentes etapas de la vida adulta difiere entre hombre y mujeres, incrementándose estas diferencias con el progreso de la edad. Al inicio de la edad adulta ambos sexos muestran porcentajes de obesidad similares, sin embargo, a partir de los 45 años un 16,9% de los hombres españoles presenta obesidad, mientras que en mujeres este porcentaje es superior (26,4%), esta situación se agudiza a partir de los 55 años (Salas-Salvadó J et al, 2007).

Respecto a la edad, el envejecimiento se asocia generalmente con el aumento de la adiposidad total (Guo SS et al., 1999; Gallagher D et al., 2000; Lei SF et al, 2006; Raguso CA et al, 2006), hasta la vejez extrema, cuando la masa grasa puede disminuir (Visser et al., 2003; Raguso et al., 2006). A partir de los 45 años la masa magra, principalmente el músculo, disminuye progresivamente y la masa grasa aumenta (Janssen et al., 2000). Por cada década de vida el metabolismo basal (cantidad diaria de energía que consume el organismo sin estar realizando ninguna actividad) desciende un 10%; este hecho afecta por igual a hombres y mujeres. El aumento en el riesgo de muerte con cada unidad de incremento en el IMC disminuye progresivamente con la edad pero sigue siendo considerable hasta que el grupo de edad de 75 años y más (Stevens J et al, 1998).

Respecto al sexo, es reconocido que las mujeres para un mismo valor de IMC presentan mayor cantidad de grasa que los hombres. Los hombres tienen mayor tendencia a una distribución de la grasas tipo androide, con mayor proporción de grasa en la parte abdominal, mientras que las mujeres el mayor acumulo de grasa lo suelen presentar en la zona gluteo-femoral (Bouchard C, 1997(a)). Las diferencias en la distribución del tejido adiposo se deben principalmente a factores hormonales, con un predominio de testosterona en el hombre y de estrógenos en la mujer (Bibbins-Domingo K et al, 2007). En las mujeres durante la menopausia se producen cambios en la distribución de la grasa corporal, incrementándose el acúmulo de grasa intraabdominal (Hernández-Morante JJ et al, 2008). También se ha correlacionado el exceso de peso con la paridad, produciéndose un incremento de la sobrecarga ponderal con el aumento del número de hijos (Smith DE et al, 1994; Williamson DF et al, 1994).

1.4.1.2 Nivel socioeconómico y cultural

El nivel socioeconómico y la actividad profesional se han visto relacionados con el desarrollo y el mantenimiento de la obesidad (Drewnowski A et al, 2004(a)). Sin embargo, la influencia del nivel socioeconómico es diferente en los países en vías de desarrollo y en los desarrollados. En general, en los países desarrollados el mayor índice de obesidad lo presentan los grupos socioeconómicos más deprimidos, en cambio, en los países en vías de desarrollo son los grupos de la posición social más alta los que se asocian con mayor índice de obesidad, y afecta especialmente a las mujeres en las primeras etapas del desarrollo económico (Monteiro CA et al, 2004). Por otro lado, se observa una mayor prevalencia de obesidad en los países desarrollados en comparación con los países en desarrollo dado que en los países más ricos, en general, tienen dietas más ricas en alimentos de alta energía, con una proporción menor de consumo de fibra, frutas y verduras (Martín AR et al, 2008).

Sin embargo, la educación puede ser protectora contra la obesidad, dado que el nivel de escolaridad indica tanto patrones culturales como el grado de conocimiento o de acceso a la información en salud. En la mayor parte de los estudios epidemiológicos sobre la obesidad se ha observado una relación inversa entre el nivel cultural y la prevalencia de obesidad, de manera que a menor nivel de instrucción la prevalencia de obesidad es más elevada (Aranceta-Bartrina J et al, 2005(a)). En España, estudios realizados por la SEEDO con encuestas nutricionales indican diferencias en la prevalencia de obesidad según el nivel educativo, siendo el subgrupo con el nivel educativo más bajo los que mostraban mayor proporción de individuos obesos para ambos sexos (Aranceta-Bartrina J et al, 2003). Además, la prevalencia de obesidad es más elevada en los chicos cuyos padres han completado un nivel de estudios bajo, especialmente si la madre tiene un nivel cultural bajo (Aranceta-Bartrina J et al, 2005(b)).

1.4.1.3 Distribución geográfica y etnia

La prevalencia de la obesidad también varía en función de la zona geográfica. En los países en desarrollo, la obesidad se observa más en zonas urbanas que en las zonas rurales (Lobstein T et al, 2004; Prentice AM et al, 2006). La variación en el IMC en función de la distribución geográfica ofrece nuevas ideas sobre los determinantes sociales que influyen en el desarrollo de la obesidad (Marmot M, 2000; Reidpath DD et al, 2002). Estas diferencias ponen de manifiesto que las acciones de salud pública y las estrategias de intervención para la prevención de la obesidad deben centrarse tanto en áreas geográficas como a nivel individual (MacIntyre S et al, 1993; Ellaway A et al, 1997)

En España la distribución geográfica de la obesidad por regiones y comunidades autónomas aumenta en dirección norte-sur, con prevalencias altas en la región noreste y sur-sureste. (Gutiérrez-Fisac JL et al, 1999; Aranceta-Bartrina J et al, 2003; Tur JA et al, 2005) Los mayores picos se presentan en Cantabria (16,9%), Asturias (14,1%), Extremadura (15%), Castilla La Mancha (14,8%), Andalucía (18,9%), Murcia (13,8%), Comunidad Valenciana (13,5%) y Canarias (13,4%) (Martínez JA et al, 2004).

La prevalencia de la obesidad también varía según la etnia. Por ello, existen diferencias étnicas en la interpretación de los índices de obesidad (Seidell JC et al, 2001; Zhus S et al, 2005; Pan SY et al, 2004; OMS, 2004).

En España en un estudio reciente realizado en Madrid sobre la prevalencia de la obesidad en inmigrantes mostró que el porcentaje de obesos fue mayor entre los inmigrantes que entre la población española, a excepción del grupo de occidentales. Según sexo, los inmigrantes varones de Europa del Este y Latinoamérica y las mujeres procedentes de África-Asia y Europa del Este fueron los más obesos. Esta alta prevalencia de obesidad entre los inmigrantes podría deberse a una exposición más intensa a factores obesogénicos, tanto antes de su llegada como durante su residencia en España (Marín-Guerrero AC et al, 2010).

1.4.2 Factores ambientales o del estilo de vida

1.4.2.1 Consumo y abandono del tabaco

Una creencia bastante universal sobre los efectos del tabaco es la que mantiene que fumar cigarrillos ayuda a controlar el peso corporal (Froom P et al, 1998; Clark MM et al, 2004). Diversos estudios muestran que los fumadores pesan menos que los no fumadores y que dejar de fumar produce un incremento del peso (Klesges RC et al, 1989; US Department of Health and Human Services, 1990). Además se ha constatado la relación entre el consumo de tabaco, la disminución en la ingesta y una reducción en el peso corporal.

Fumar también puede influir en las citoquinas, ya que causa un aumento en plasma de moléculas de adhesión intercelular-1 (ICAM) (Blann AD et al, 1997) y una disminución de los niveles de adiponectina (Iwashima Y et al, 2005; Matsuzawa Y, 2006), lo que induciría disfunción endotelial. Tanto el peróxido de hidrógeno y la nicotina suprimen la expresión de adiponectina en los adipositos (Iwashima Y et al, 2005). Además, fumar puede regular la concentración de adiponectina a través de la lipólisis. Por otro lado, fumar también puede aumentar

los niveles del $\text{TNF-}\alpha$, el cual podría disminuir los niveles de adiponectina e inducir resistencia a la insulina. Niveles bajos de adiponectina se encuentran en los fumadores crónicos, lo cual podría confirmar los hallazgos anteriores de que los fumadores crónicos presentan resistencia a la insulina (Facchini FS et al, 1992). El tabaquismo también puede aumentar el estrés oxidativo (producción de especies reactivas del oxígeno, ROS) que resulta de la obesidad debido al efecto de los radicales libres presentes en el humo así como de la respuesta inflamatoria que induce (Van der Vaart H et al, 2004). Esto puede ocurrir directamente o a través del efecto del tabaco sobre la IL-6 secretadas por los adipositos y el subsecuente efecto sobre la PCR. El consumo de tabaco se asocia a un perfil lipídico aterogénico con c-HDL bajo, y el cese en el consumo de tabaco se asocia a un incremento de la concentración de esta lipoproteína (Aparici M et al, 1991; Hernández-Lanchas C et al, 1992). En la siguiente figura se muestran los efectos sobre la salud que produce el hábito de fumar en una persona obesa (Figura 1.9.).

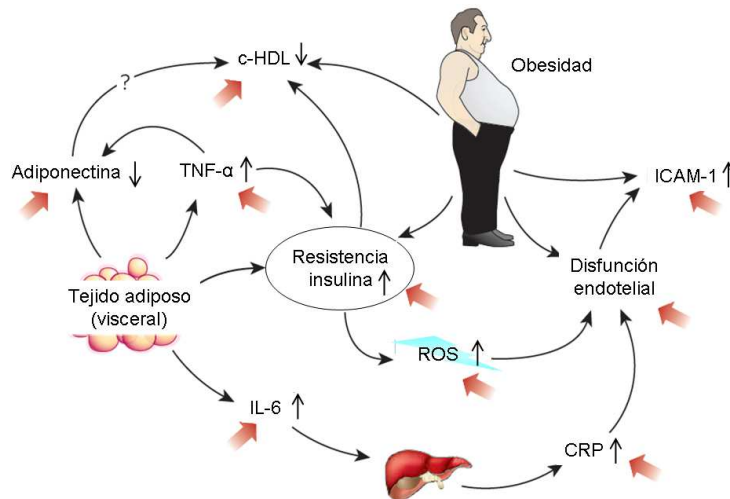


Figura 1.9. Representación esquemática de cómo fumar podría sumarse a varios mecanismos que vinculan la obesidad con la enfermedad cardiovascular. Ambos, obesidad abdominal y tabaco se asocian con resistencia a la insulina, estrés oxidativo y aumento de diferentes adipocitoquinas, todo lo cual conduce a la disfunción endotelial. Las flechas rojas indican el efecto de fumar. c-HDL: colesterol-HDL, $\text{TNF-}\alpha$: factor de necrosis tumoral α , IL-6: interleucina-6; ROS: especies reactivas del oxígeno, CRP: proteína C reactiva; ICAM-1: moléculas de adhesión intercelular-1. (Van Gaal LF et al, 2006).

El consumo de tabaco produce el 15% de las muertes en nuestro país, de las cuales hasta un 26,5% son prematuras (antes de los 65 años) (Borras JM et al, 2003). Hasta un 12% de las muertes atribuibles al tabaco se producen por

enfermedades cardiovasculares. La coincidencia de obesidad y consumo de tabaco pueden potenciar el riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares (Vidal A et al, 2010).

El paciente obeso puede recurrir al tabaco como medio de perder peso, y uno de los principales problemas a la hora de plantear el abandono del tabaco en estos pacientes es el miedo al incremento de peso (Vidal A et al, 2010). Dejar de fumar produce una ganancia media de peso de 2 kg a los 2 meses y de 4 kg a los 6 meses, que puede ser menor entre los pacientes que realizan ejercicio físico y una dieta hipocalórica (De Castro Mesa C et al, 2003). Dejar de fumar produce un descenso de la tasa metabólica debido a la supresión de la nicotina (Hughes JR et al, 1994), se ha estimado que este descenso puede ser entre el 12 y el 16% (Moffatt RJ et al, 1991). Además, la nicotina libera noradrenalina y serotonina, sustancias ambas que producen una supresión del apetito (Jo YH et al, 2005). También se ha indicado que tras dejar de fumar se incrementa la ingesta calórica (Moffatt RJ et al, 1991; Jo YH et al, 2005), especialmente el consumo de hidratos de carbonos simples, como son los dulces (Klesges RC et al, 1989). Otros factores a considerar son la recuperación del gusto y el olfato así como la ralentización del vaciado gástrico, como consecuencia de la supresión de nicotina, pueden contribuir al incremento del peso (Moffatt RJ et al, 1991). Todos estos aspectos explicarían la ganancia de peso que se produce al dejar de fumar.

El incremento de peso que ocurre tras el abandono del tabaco puede llegar a ser un obstáculo, especialmente en mujeres, así como un factor que induce al inicio, sobre todo en adolescentes (Williamson DF et al, 1991, Honjo K et al, 2003). Actualmente nuestra apariencia física es un factor muy importante en el desarrollo de las relaciones personales y profesionales, por ello el hecho de que al dejar de fumar se produzca un aumento de peso, aunque moderado y transitorio, puede llegar a ser una de las razones por la cuales resulte difícil el abandono del tabaco.

1.4.2.2 Actividad física

El gasto energético puede influir en el peso y en la composición corporal (Tremblay A et al, 1996; Westterp KR et al, 1997), a través de cambios en la tasa del metabolismo basal, en el efecto termogénico de los alimentos y en la demanda energética propia de la actividad física (Rising R et al, 1994; De Jonge L et al, 1997; Thielecke F et al, 1997). El gasto energético es proporcional al grado de actividad física y ejercicio.

Nuestro organismo consume energía tanto para el ejercicio voluntario como para las actividades involuntarias, así como para el mantenimiento del control

postural (Hills AP et al, 1998; Ibáñez J et al, 2002). La actividad física se refiere a la energía utilizada para el movimiento. Se trata, por tanto, de un gasto de energía adicional al que necesita el organismo para mantener las funciones vitales tales como respiración, digestión, circulación de la sangre, etc. El término ejercicio hace referencia a un tipo de actividad física planificada, a movimientos diseñados y estructurados específicamente para estar en forma y gozar de buena salud. Por aptitud física o forma física se entiende la capacidad de desempeñar una actividad física de intensidad ligera-moderada sin fatiga excesiva. Este concepto incluye diferentes variables de aptitud cardiovascular, respiratoria, de composición corporal, fortaleza y elasticidad muscular y flexibilidad (USDHHS, 1996).

La determinación correcta de la actividad física a través de un instrumento de medida apropiado y validado resulta complejo ya que el gasto energético realizado para cualquier actividad varía considerablemente entre individuos y poblaciones, además el consumo energético que conlleva el gasto calórico y el metabolismo para el mantenimiento de las funciones vitales son parámetros con una valoración complicada (Caspersen CJ, 1989). El cuestionario autodefinido de actividad física es práctico para la obtención de datos en muestras de tamaño muy grande, siendo de gran utilidad para el estudio y seguimiento de poblaciones (López-Fontana CM et al, 2003).

Tras la realización de ejercicio físico incrementa el consumo de oxígeno en función de la intensidad de la actividad física y del grado de entrenamiento en períodos que pueden ser desde unos minutos hasta 24 horas (Ibáñez J et al, 2002). Esta acción tras la realización de ejercicio induce la oxidación de sustratos metabólicos, produciendo un incremento de ácidos grasos libres procedentes de los triglicéridos almacenados en el tejido adiposo, como fuente de energía para el músculo (Fujioka K et al, 2000), se aumenta la sensibilidad a la insulina y parece disminuir la ingesta tanto energética como lipídica en la fase posterior al ejercicio (Macho-Azcárate T et al, 2002). Además, en diversos estudios se ha visto que la actividad física disminuye la concentración de leptina (Pérusse L et al, 1997; Haluzik M et al, 1998; Pasmán WJ et al, 1998).

Por tanto, el incremento de actividad física supone un aumento del gasto energético total (López-Fontana CM et al, 2003). Sin embargo, los individuos obesos suelen padecer problemas osteoarticulares y menor nivel de actividad, mostrando gran dificultad para la realización de ejercicio físico (Labayen I et al, 2002; Johnson RK et al, 2001). Los resultados disponibles sugieren que una situación de sedentarismo, evaluada a través de distintas estimaciones como horas sentado en tiempo de ocio, intensidad de la actividad física, etc., es un importante factor de riesgo de obesidad (Beer-Borst S et al, 2000; Martínez-González MA et al 2001; Varo JJ et al, 2003).

El ejercicio físico es un componente fundamental para evitar y combatir la obesidad, no sólo por el incremento del gasto energético, sino también por sus incuestionables efectos beneficiosos sobre el riesgo cardiovascular, por favorecer la autoestima y superar procesos frecuentemente asociados a estos pacientes como la depresión o ansiedad (Cioffi J, 2002; Thompson PD et al, 2003). El ejercicio aeróbico, con o sin pérdida ponderal, se asocia con una disminución de la grasa visceral y abdominal subcutánea, con una reducción de la tasa de mortalidad y morbilidad independiente del peso, y favorece el mantenimiento de la pérdida de peso a largo plazo (Ross R et al, 2000). Las personas que realizan una gran cantidad de ejercicio de manera regular y a largo plazo son las que más éxito tienen en bajar de peso y en mantenerlo (Tate DF et al, 2007).

Pero en la sociedad actual, la creciente urbanización ha incrementado el uso de transportes motorizados. Además, el desarrollo de nuevas tecnologías ha producido una disminución considerable en la realización de actividades manuales. De hecho, se estima que la reducción del gasto energético diario atribuible a todos estos factores en los últimos 50 años podría ser del orden de 250-500 kcal/día (Fox KR et al, 2007). En este sentido, estudios epidemiológicos han demostrado que, en adultos, el grado de obesidad se encuentra directamente relacionado con las horas que el individuo permanece sentado (Martínez-González MA et al, 1999). Por ello, una práctica de 300 minutos por semana, 60 minutos por día durante 5 días, de una actividad moderada, es una de las recomendaciones generales para la población dado que el ejercicio físico es uno de los hábitos con más influencia en el control de la obesidad (Jakicic JW et al, 2003; Katzmarzyk PT et al, 2003; Akbartabartoori M et al, 2008).

1.4.2.3 Dieta

La dieta juega un papel muy importante tanto en el desarrollo como en el control de la obesidad. Debido a la creciente prevalencia de la obesidad y de otras patologías relacionadas se puso de manifiesto los peligros de los excesos nutricionales. Tanto en los países industrializados como en los países en vías de desarrollo, en los que se observa el fenómeno de la transición alimentaria (Drewnowski A et al, 1997), la prevalencia de la obesidad está alcanzando cifras alarmantes. Según datos del estudio NHANES de Estados Unidos, entre los años 1971 y 2000, se produjo un incremento en la ingesta de calorías, en hombres se observó un incremento de 2,450 Kcal a 2,618 Kcal, mientras que las mujeres pasaron de consumir 1,542 Kcal a 1,877 Kcal (Wright J et al, 2004). Dato más impactante al conocer que un aumento de la ingesta energética en 500 kcal/día se corresponde con un incremento del IMC de 0,33 kg/m² (Trichopoulou A et al, 2000).

Dada esta situación, inicialmente en 1980, el Departamento de Agricultura de EEUU (USDA) y el Departamento de Salud y Servicios Humanos publicaron conjuntamente las Guías Alimentarias para los americanos. Posteriormente, 1992 se diseñó la pirámide nutricional con el fin de trasladar los objetivos nutricionales a una imagen con el fin de simplificar el mensaje. La forma de la pirámide indica las cantidades relativas de cada tipo de alimento que debe consumirse diariamente para una dieta saludable y equilibrada. Sin embargo, diversas premisas en las que se basa esta pirámide han sido ampliamente discutidas, de hecho, no se distingue entre los diferentes tipos de grasa y además se recomienda un consumo mínimo de éstas, se considera, también todos los carbohidratos iguales y se indica que se consuman en grandes cantidades, el origen de las proteínas es indiferente y no contiene una guía para la ingesta de alcohol y la realización de ejercicio físico. Todo ello, junto con las crecientes tasas de obesidad hicieron que el USDA introdujera en Abril de 2005 una nueva versión llamada “Mi piramide” (Figura 1.10.). En esta ocasión, las bandas, en vez de ser horizontales, descienden verticalmente desde la cúspide de la pirámide hasta la base, insistiendo en la necesidad de moderación, tiene en cuenta el tipo de grasa, incentiva el consumo de carnes magras frente a carnes rojas, recomienda el consumo de cereales integrales, además incorpora el concepto de que la dieta debe adecuarse a la necesidades individuales, de modo, que invita a los consumidores a seleccionar alimentos ajustados a sus necesidades calóricas y agrega una nueva categoría; el ejercicio regular (USDA, 2005).

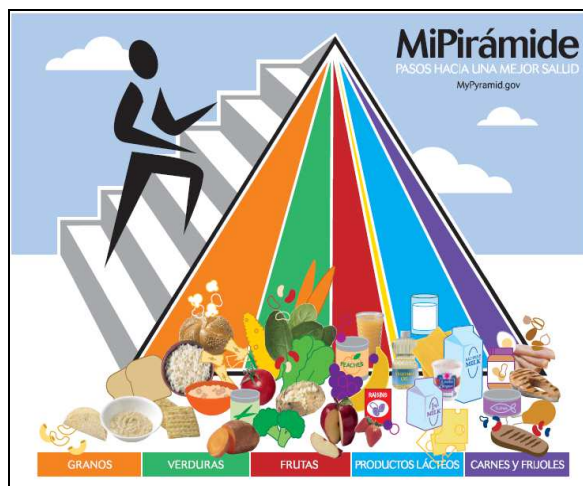


Figura 1.10. Pirámide nutricional propuesta por USDA en 2005

Esta pirámide se extendió a otros países usada como referencia de la alimentación saludable, e incluso se ha adaptado para algunos tipos de dieta. En España, la SENC elaboró una Guía de Alimentación Saludable (SENC, 2004) que

incluye una Pirámide de la Alimentación (Figura 1.11.) la cual se ha convertido en la principal referencia en materia de nutrición. Integra los alimentos propios de la dieta española característicos de una Dieta Mediterránea. El cumplimiento de esta pirámide, en la que no falta la recomendación de mantener una actividad física diaria, e incluso refleja el consumo responsable y opcional de bebidas fermentadas de baja graduación como uno de los hábitos más arraigados en nuestra cultura gastronómica, podría suponer una herramienta adecuada para el mantenimiento de la salud y la prevención de la enfermedad.

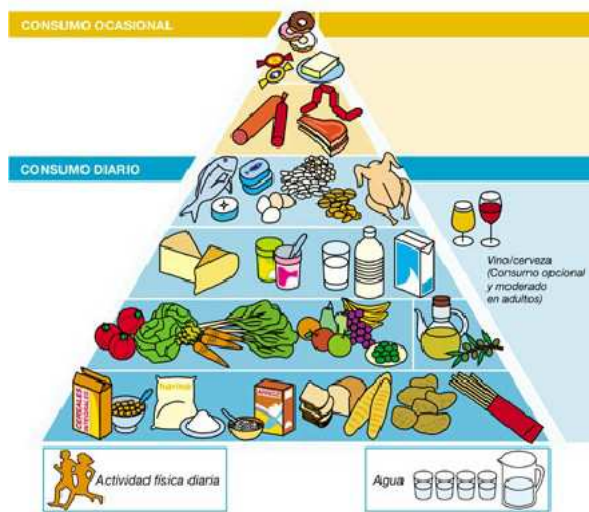


Figura 1.11. Pirámide de la Alimentación Saludable (SENC, 2004)

La SENC propone el consumo diario de frutas, verduras, hortalizas, leche y sus derivados y cereales, patatas y aceite de oliva, al igual que intercalar semanalmente pescados, carnes magras, aves, huevos legumbres, y frutos secos en las cantidades deseables hace que la dieta sea equilibrada. Por último, se aconseja moderar el consumo de carnes grasas, pastelería, bollería, azúcares y bebidas refrescantes. También recomienda la ingesta de dos litros diarios de agua y, como opción en adultos sanos, el consumo moderado de bebidas fermentadas de baja graduación como son el vino, la sidra o la cerveza. La dieta no sólo comprende los alimentos que ingerimos, sino que dieta implica “estilo de vida” por lo que se debe complementar con la práctica diaria de ejercicio físico moderado y ajustar la ingesta de alimentos de acuerdo al nivel de actividad habitual para mantener el peso corporal en los niveles deseables.

Sin embargo, a pesar de los esfuerzos de las distintas asociaciones para fomentar dietas saludables, la sociedad actual vive en una situación de abundancia que conduce a generar cambios en los patrones alimentarios difíciles de combatir con recomendaciones dietéticas. Entre estos patrones alimentarios que se han observado en los últimos años están:

- Aumento del tamaño de las porciones de alimentos (Rolls B et al, 2002; French SA et al, 2003).
- Mayor realización de comidas fuera de casa, las cuales se ha indicado que poseen menor proporción de fibra, hierro y calcio y en cambio, presentan mayor contenido de grasa saturada y sodio (St-Onge MP et al, 2003).
- Mayor tendencia al consumo de comidas rápidas (French SA et al, 2001; Bowman SA et al, 2004), y menor hábito de realizar comidas ricas en verduras, cereales y frutas y especialmente menor consumo de leche (Harnack L et al, 1999; Troiano RP et al, 2000; French SA et al, 2001; Nicklas TA et al, 2001).
- Aumento del consumo de alimentos fuera de las comidas asociado a una mayor ingesta de alimentos ricos en azúcares y grasas (Cusatis DC et al, 1996). Así como un mayor consumo de bebidas carbonatadas, llegando a triplicarse el consumo de estas bebidas entre los jóvenes en las últimas décadas (Troiano RP et al, 2000).
- Mayor uso de azúcares y grasas añadidos en los alimentos (Drewnowski A, 2003) aumentando con ello la palatabilidad de los mismos.

El aumento dramático de la obesidad en todo el mundo sigue siendo un reto y pone de relieve la necesidad de evaluar la efectividad y seguridad de diferentes dietas utilizadas ampliamente para perder peso (Kuczmarski RJ et al, 1994; Poirier P et al, 2006), entre las que podemos destacar las dietas bajas en carbohidratos, las bajas en grasas y la Dieta Mediterránea.

En relación con las dietas bajas en carbohidratos se ha observado que a corto plazo pueden dar resultados beneficiosos en cuanto a la pérdida de peso, además disminuyen la concentración de triglicéridos e incrementan los niveles de c-HDL, e incluso disminuyen la resistencia a la insulina, contribuyendo a la reducción de las comorbilidades relacionadas con la obesidad (Holt S, 2004). Sin embargo, los efectos a largo plazo de estas dietas no están claramente determinados (Boden G et al, 2005). Por otro lado, las dietas bajas en grasa con alto contenido en carbohidratos aunque producen un descenso de peso, pueden producir un aumento de los niveles de triglicéridos y disminuir los de c-HDL, llegando a ocasionar consecuencia sino se añaden ácidos grasos esenciales en la dieta. Además, debido a su baja palatabilidad son muy proclives al abandono. Para tratar estos aspectos de la dieta baja en grasa, se propone la reducción de la ingesta de carbohidratos y el

incremento de alimentos ricos en grasas moninsaturada o carbohidratos de bajo índice glicémico (St-Onge MP et al, 2004). La modificación de estos aspectos conduce a una dieta similar al estilo de la Dieta Mediterránea. Así, tras unas décadas en que las recomendaciones dietéticas estaban basadas en el seguimiento de una dieta baja en grasa, en los últimos años el concepto de Dieta Mediterránea, como alternativa más saludable a la dieta baja en grasas, se está imponiendo con fuerza en la investigación biomédica internacional. Además, se ha mostrado que la Dieta Mediterránea posee mayor palatabilidad y aceptación que una dieta baja en grasa, aspecto importante a la hora de su cumplimiento a largo plazo (McManus K et al, 2001).

Existen una creciente investigación en la relación entre la Dieta Mediterránea y la obesidad (Buckland G et al, 2008). Sin embargo, a pesar de que la evidencia científica apunta hacia el efecto de la Dieta Mediterránea en la prevención de la obesidad, existen en la literatura científica resultados contradictorios. Por lo que son necesarios estudios con unas características metodológicas comunes capaces de proporcionar evidencia concluyente sobre la protección de la Dieta Mediterránea frente a la ganancia ponderal.

1.4.2.3.1 Dieta Mediterránea

La dieta mediterránea es la forma de alimentación que, desde hace varios siglos, a caracterizado a las regiones bañadas por el mar Mediterráneo. Aunque no existe una definición totalmente aceptada de Dieta Mediterránea, se reconoce como el patrón de alimentación tradicional que caracteriza a los países de la cuenca del Mediterráneo hacia la mitad del siglo XX (Márquez-Sandoval F et al, 2008). Los rasgos más característicos de este patrón dietético son: 1) Alto consumo de verduras, legumbres, frutas, cereales integrales y frutos secos, 2) Alta ingesta de aceite de oliva utilizado tanto para cocinar como para aliñar los alimentos, 3) Baja ingesta de grasas saturadas, 4) Consumo moderado de pescado, 5) Moderada ingesta de productos lácteos (principalmente en forma de queso y yogurt), 6) Bajo consumo de carne y productos cárnicos procesados, 7) Consumo moderado de vino, 8) Un bajo consumo de cremas, mantequilla y margarina, 9) Un alto consumo de ajo, cebolla y especias. La Dieta Mediterránea forma parte de un estilo de vida que engloba tanto el uso de una variedad de ingredientes tradicionales como una elaboración de las comidas de forma característica. La combinación de sus elementos da como resultado una dieta que ha resultado ser saludable (Serra-Majem L et al, 2004). Aunque existen variaciones en el consumo de componentes de la tradicional Dieta Mediterránea entre los distintos países del Mediterráneo (Serra-Majem L, et al 2004), en función de los principales recursos alimenticios de cada país, todos se acercan a este patrón común (Buckland G et al, 2008).

La consideración de la Dieta Mediterránea como dieta saludable surgió a partir de estudios nutricionales realizados en Grecia, donde se detectó una incidencia de arteriosclerosis, enfermedades cardiovasculares y enfermedades degenerativas inferiores a la media y una mayor esperanza de vida. Basándose en estos antecedentes, de 1958 a 1964, Ancel Keys, profesor de la Universidad de Minnesota, realizó un extenso estudio epidemiológico denominado "Estudio de los siete países", para investigar los hábitos dietéticos de siete países entre los que figuraban cinco países no mediterráneos: Estados Unidos, Japón, Finlandia y Holanda, y tres mediterráneos: Yugoslavia, Italia y Grecia (Keys A et al, 1986). Tras 15 años de seguimiento, se observó que la esperanza de vida en los países del Mediterráneo era mayor y presentaban una menor incidencia de mortalidad coronaria, aspectos que ponían de manifiesto las características saludables del tipo de dieta que seguían estos participantes. Además, se observó que la principal característica diferencial de la Dieta Mediterránea era la relación entre ácidos grasos monoinsaturados y ácidos grasos saturados (AGM/AGS) ya que a mayor consumo de AGM y menor consumo de AGS, menor mortalidad cardiovascular. A través de este estudio, A.Keys definió por primera vez el concepto de *Dieta Mediterránea* como: “*La Dieta Mediterránea se caracteriza por un elevado consumo de pan, de legumbres, de arroz, de frutas y verduras. Es fundamental la utilización de aceite de oliva, así como típico un consumo moderado de vino en las comidas. Abundante en frutos secos y pescado, la Dieta Mediterránea es escasa en carnes rojas y grasas de la leche*”. Además, Keys reconoce la importancia del “*estilo de vida mediterráneo*” que se caracteriza por: personalidad más tranquila libre de estrés, uso frecuente de la siesta, alto grado de comunicación entre los habitantes de los pueblos y elevado apoyo social, tradiciones culinarias como comidas en casa y consumo habitual de alimentos poco procesados, frescos y de temporada, alto grado de ejercicio físico, y clima suave que favorece los paseos todo el año.

En enero de 1993, en la “International Conference on the Diets of the Mediterranean” que tuvo lugar en Cambridge se inició la elaboración de una serie de guías alimentarias que reflejaban la variedad de las tendencias tradicionales que históricamente se habían relacionado con una mejor calidad de vida. De esta manera, se definió en la literatura científica el concepto de *dieta mediterránea tradicional óptima* (Willett WC et al, 1995(a)). Los rasgos característicos de la dieta que seguían las poblaciones de la región mediterránea fueron plasmados en forma de pirámide, como alternativa a la pirámide de USDA. La Pirámide Mediterránea que se presentó en 1994 en San Francisco en la “Oldways International Conference on the Diets of the Mediterranean” se muestra en la siguiente figura (Figura 1.12.).

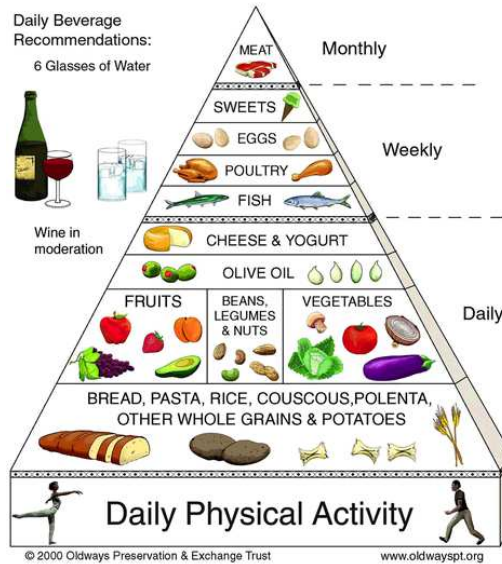


Figura 1.12. Pirámide de Dieta Mediterránea Tradicional Óptima (Willett W et al, 1995(a))

La pirámide de Dieta Mediterránea desglosa el consumo de alimentos ricos en proteínas que aparecen agrupados en el modelo de USDA. Se recomienda comer pollo, pescado y huevos varias veces a la semana, priorizando el consumo de pescado al de pollo, ya que el pescado, rico en ácidos grasos omega-3, protege contra el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Mientras que se recomienda un consumo reducido de carnes rojas, situadas en la punta de la pirámide, con un consumo de pocas veces al mes. En cambio, se recomienda un consumo diario de cereales y frutos secos y el uso de aceite de oliva como principal fuente para engrasar los alimentos, debido a su alto contenido en grasas insaturadas. Esta pirámide añade, además, el consumo moderado de vino y agua así como la práctica de ejercicio físico entre sus recomendaciones.

El tipo de alimentación se ha relacionado tanto con la prevención como con el tratamiento en el desarrollo de patologías altamente prevalentes en la actualidad (Eyre H et al, 2004). La Dieta Mediterránea se trata de una dieta basada en la alimentación equilibrada y versátil, junto con unos hábitos de vida y de cultura que contribuyen a potencial la salud, la longevidad y la calidad de vida (Serra-Majem L, 2001; Serra-Majem L et al, 2003(b); Trichopoulou A et al, 2003). Gran parte de los efectos beneficiosos asociados a la Dieta Mediterránea son atribuidos a su elevado contenido en AGM y diversas sustancias antioxidantes (Márquez-Sandoval F et al, 2008).

Entre los alimentos característicos que destacan en la Dieta Mediterránea se encuentran el aceite de oliva, el consumo moderado de vino y los frutos secos. Los efectos beneficiosos del aceite de oliva virgen se han asociado con su alto contenido en AGM (ácido oleico) y diferentes compuestos fenólicos con una potente acción antioxidante. Respecto al vino, diversos estudios han indicado que un consumo moderado podría presentar un efecto beneficioso para el sistema cardiovascular (Rodríguez-Artalejo F et al, 1998; Estruch R et al, 2000; Blanco-Colio LM et al, 2000; Di Castelnuovo A et al, 2002), los cuales se han pueden ser debido a su alto contenido en polifenoles (Márquez-Sandoval F et al, 2008). Los frutos secos son muy ricos en grasa insaturada (AGM en almendras y avellanas, y AGP en nueces y piñones), entre estas grasas destaca el ácido linoleico (AGP de la serie n-6). Además, las nueces y los piñones poseen en su composición ácido α -linolénico (AGP de la serie n-3), un ácido graso al que se le atribuye un importante efecto antiaterogénico (Kris-Etherton PM et al, 1999). Además, los frutos secos poseen también ácido fólico (contribuye a reducir la homocisteinemia), arginina (precursor del óxido nítrico), fibra, vitamina E y polifenoles antioxidantes, fitoesteroles y otros compuestos fitoquímicos todos ellos con propiedades beneficiosas frente al riesgo cardiovascular (Sabaté J et al, 2006; Salas-Salvadó J et al, 2006). Los cereales también forman parte de uno de los componentes básicos de la Dieta Mediterránea tradicional. De ellos proviene un aporte importante de carbohidratos, fibra dietética y proteína, además de poseer vitaminas del grupo B, vitamina E y un gran número de minerales principalmente hierro, zinc, magnesio y fósforo, contribuyendo en gran parte al aporte calórico total (Márquez-Sandoval F et al, 2008). Dentro de las legumbres se engloban las lentejas, garbanzo, judías, guisantes y habas. Este grupo también aporta un alto contenido en carbohidratos y proteínas vegetales, junto con cantidades considerables de ácido fólico, fibra y niacina. Además se ha visto que dado su alto contenido en fitosteroles e isoflavonas podría contribuir a reducir los niveles de colesterol y reducir el riesgo de ciertas enfermedades crónicas. Junto con estos alimentos, el pescado, la verdura y la fruta, así como las especias poseen componentes nutricionales que pueden prevenir el desarrollo de factores de riesgo cardiovascular mediante su acción en diversos mecanismos metabólicos (Márquez-Sandoval F et al, 2008).

Por otro lado, se incluyen alimentos pero que deben consumirse de manera excepcional o prudentemente. Entre ellas se encuentra el consumo de carnes las cuales son ricas en proteínas de alto valor biológico, de modo que, deben formar parte de una dieta sana y equilibrada, pero su consumo debe ser prudente debido a su alto contenido en AGS (Willett W et al, 1995(a), SENC, 2004). Se ha mostrado que los AGS aumentan los niveles de CT y c-LDL, la oxidación de las LDL, la tensión arterial (Lahoz C et al, 2000, Mensink RP et al, 2003). Aunque, la composición de grasas varía según el tipo de carne. Las carnes con menor aporte graso (entre un 13%-15%) y, por tanto, más recomendables son las de pollo, pavo y

conejo (Mata P et al, 1994; Plaza Pérez I et al, 2000). Las carnes rojas, como la de cerdo, cordero o ternera, contienen entre un 22-26% de grasa y los embutidos derivados del cerdo (chorizos, longanizas, morcilla, salchichón) por su elevado aporte graso y calórico deben consumirse de manera excepcional (Mata P et al, 1994). Además, también se debe tener un consumo ocasional de repostería, pastelería y bollería industrial debido a su alto contenido en azúcares simples y AGS (Willett W et al, 1995(a), SENC, 2004). En la pastelería y bollería industrial y, en otros alimentos como margarinas duras, productos fritos tipo aperitivo u otros alimentos precocinados, se han detectado cantidades considerables de grasas trans, producidas a partir de la hidrogenación parcial de los ácidos grasos (Carbajal A et al, 2000). Las grasas trans han mostrado múltiples efectos perjudiciales como el incremento de los niveles plasmáticos de c-LDL y TG y la reducción del c-HDL (Katan MB et al, 1995; Mensink RP et al, 2003) y promueven la resistencia a la insulina (Bray GA et al, 2002) y el riesgo de desarrollar DMT2 (Salmerón J et al, 2001). Además, estos productos junto con las bebidas carbonatadas y/o azucaradas contienen carbohidratos simples o azúcares que pueden contribuir al desarrollo de sobrepeso y obesidad y al aumento del riesgo cardiovascular cuando se incrementa su consumo (Flight I et al, 2006).

Este tipo de dieta ha recibido especial atención debido al aumento de la evidencia científica que demuestra sus efectos beneficiosos al reducir la mortalidad general y especialmente la de eventos cardiovasculares. El *Lyon Diet Heart Study* (de Lorgèril M et al, 1994; de Lorgèril M et al, 2006) fue el primer estudio clínico que demostró los efectos beneficiosos de la dieta mediterránea al reducir la enfermedad cardíaca. Posteriormente, diversos estudios han corroborado los resultados de este estudio previo manifestando los efectos beneficiosos de la Dieta Mediterránea en la prevención de enfermedades cardiovasculares y otras enfermedades crónicas (Tunstall-Pedoe H, 1999, Singh RB et al, 2002, Trichopoulou A et al, 2003, Mancini M et al, 2004, Knoop KT et al, 2004, Panagiotakos DB et al, 2005(a); Trichopoulou A et al, 2005(b), Vicent-Baudry S et al, 2005, Mitrou PN et al, 2007, Fung TT et al, 2009). No obstante, estos efectos beneficiosos deben atribuirse a la Dieta Mediterránea Tradicional puesto que, la globalización, el desarrollo económico, etc. han afectado el patrón de dieta en la cuenca del Mediterráneo y se han modificado ciertos indicadores de salud a los que estaba asociada. La constatación de dichos cambios condujo a analizar la situación en la que se halla la dieta mediterránea y las necesidades de su redefinición (Serra-Majem L et al, 2004).

Por otro lado, ante el incremento de la prevalencia del sobrepeso y la obesidad y sus comorbilidades que amenazan la salud en el mundo entero, es importante tratar de concluir si la Dieta Mediterránea podría ser utilizada para prevenir o tratar la obesidad (Malik VS et al, 2007).

Existen diversos mecanismos fisiológicos que podrían explicar por qué los componentes clave de la Dieta Mediterránea podrían proteger contra el aumento de peso. La Dieta Mediterránea es rica en alimentos de origen vegetal que proporcionan una gran cantidad de fibra dietética. La fibra dietética se ha mostrado que incrementa la sensación de saciación, que nos conduce a la finalización de la ingesta, y de saciedad, mediante la inhibición del hambre, a través de mecanismos como la masticación prolongada, el incremento de la distensión gástrica y el aumento de liberación de colecistoquinina (Schroder H, 2007). La densidad energética de la dieta posee un papel importante en la ganancia de peso, un alimento con alta densidad energética tiene un menor efecto sobre el control del apetito y en consecuencia conlleva a un mayor consumo. La Dieta Mediterránea posee una baja densidad energética (Schroder H, 2007) y una baja carga glucémica (Willett WC et al, 2002), en comparación con muchos otros modelos dietéticos. Estas características, junto con su alto contenido en agua producen un incremento de la saciedad y un menor consumo de calorías, lo que contribuye a prevenir el incremento de peso. Sin embargo, el contenido relativamente alto de grasas en la Dieta Mediterránea, más del 30% de la energía, ha levantado cierta preocupación dado el efecto que puede tener sobre el incremento de peso (Ferro-Luzzi A et al, 2002). En cambio, existe cierta evidencia de que la principal causa de obesidad no son las dietas ricas en grasas (McManus K et al, 2001; Willett WC et al, 2002; Esposito K et al, 2003(a)) y que el consumo de grasas monoinsaturadas, como el ácido oleico, en lugar de grasas saturadas puede conducir a la pérdida de peso (Piers LS et al, 2003), probablemente promovido por un incremento de la oxidación lipídica y del gasto energético diario comparado con otras grasas (Buckland G et al, 2008). Además, respecto al consumo de aceite de oliva virgen diversos estudios han indicado los posibles efectos beneficiosos que posee sobre la presión arterial, la hemostasia, la activación endotelial, la inflamación o la termogénesis, efectos atribuidos tanto a los AGM que posee como a los compuestos fenólicos y otras sustancias antioxidantes (Larsen LF et al, 1999; Tsimikas S et al, 1999; Ferrara LA et al, 2000; Rodríguez VM et al, 2002). Respecto a los frutos secos, también han suscitado cierta preocupación en la ganancia de peso, sin embargo estudios preliminares de corta duración han mostrado que la incorporación a la dieta de una cantidad de hasta 50 g diarios de frutos secos no produce un aumento de peso, probablemente debido tanto al efecto saciante que poseen como por inducir una discreta malabsorción de grasas (García-Lorda P et al, 2003).

Sin embargo, la evidencia epidemiológica que valora la asociación entre la adherencia a la dieta mediterránea y el sobrepeso o la obesidad es limitada y contradictoria. En este sentido, Buckland y colaboradores realizaron una revisión sistemática para analizar los diferentes resultados obtenidos en los estudios epidemiológicos que han investigado la relación entre la Dieta Mediterránea y el

sobrepeso y la obesidad (Buckland G et al, 2008), mostrando resultados contradictorios entre los diversos estudios. Así, el estudio de cohorte de de Méndez (Méndez MA et al, 2006) proporcionó evidencias de un efecto protector de la Dieta Mediterránea contra la incidencia de obesidad. Después de tener en cuenta las ingestas de energía del participante, así como la posible infravaloración de la ingesta, los individuos con sobrepeso con una alta adherencia a la dieta mediterránea tenían un 27% (en mujeres) y 29% (en hombres) menos de probabilidad de convertirse en obesos. Además, estudios transversales encontraron que una mayor adherencia a la Dieta Mediterránea se asociaba negativamente con el sobrepeso u obesidad (Schroder H et al, 2004; Shubair MM et al, 2005; Panagiotakos DB et al, 2006(a); Panagiotakos DB et al, 2007(a)). En el estudio *ATTICA* de Panagiotakos (Panagiotakos DB et al, 2006(a)), los individuos con una mayor adherencia a una Dieta Mediterránea tenían un 51% menos de probabilidad de tener sobrepeso u obesidad. Sin embargo, en el estudio de Trichopoulou, que analizó la gran cohorte EPIC de Grecia no había ninguna asociación entre la adherencia a la Dieta Mediterránea y el peso (Trichopoulou A et al, 2005(a)). Por otro lado, en diversos estudios de intervención se encontró que la adherencia a una Dieta Mediterránea disminuía significativamente el peso o el IMC (McManus K et al, 2001; Singh RB et al, 2002; Toobert DJ et al, 2003; Goulet J et al, 2003; Bautista-Castaño I et al, 2004; Esposito K et al, 2003(a); Esposito K et al, 2004; Vincent-Baudry S et al, 2005; Andreoli A et al, 2008). En cambio, otros estudios mostraron que las diferencias en el peso después de seguir una Dieta Mediterránea, o entre una Dieta Mediterránea y la dieta de control no eran estadísticamente significativas (Fernández de la Puebla RA et al, 2003; Estruch R et al, 2006; Michalsen A et al, 2006). Paralelamente, otros estudios obtuvieron cambios poco importantes en el peso después de seguir una Dieta Mediterránea (de Longenil M et al, 1994; Zambon D et al, 2000; Pérez-Jiménez F et al, 2001; Carruba G et al, 2006). Además, en estudios cuya muestra consistió en individuos con sobrepeso u obesidad (McManus K et al, 2001; Esposito K et al, 2003(a); Bautista-Castaño I et al, 2004; Andreoli A et al, 2008), todos encontraron que una Dieta Mediterránea fue efectiva en la pérdida de peso, y también reportaron las reducciones de peso más pronunciadas. El mayor promedio de pérdida de peso fue de 14 kg, en un pequeño grupo de pacientes italianos obesos, tras 2 años de seguimiento con Dieta Mediterránea hipocalórica y con un programa de estilo de vida saludable que incluía el ejercicio (Esposito K et al, 2003(a)). Una pérdida de peso similar, media de 11,8 kg, se observó en un grupo de 1.018 pacientes españoles con sobrepeso y obesidad, después de completar una intervención durante 5,7 meses (Bautista-Castaño I et al, 2004).

Por ello, a pesar de los crecientes resultados de los efectos beneficiosos de la Dieta Mediterránea en la prevención de la obesidad, así como en el desarrollo de las comorbilidades asociadas a la misma, la evidencia epidemiológica muestra

resultados contradictorios en la relación entre la Dieta Mediterránea y el sobrepeso o la obesidad. Por ello, son necesarios estudios bajo una definición universal que por su metodología aporten evidencia científica para corroborar los efectos beneficiosos de la Dieta Mediterránea así como evaluar su eficacia a largo plazo en la prevención del sobrepeso y la obesidad.

Actualmente, se está llevando a cabo en España un estudio de intervención denominado PREDIMED. PREDIMED es el acrónimo de PREvención con DIeta MEDiterránea y responde a un ambicioso proyecto aleatorizado, multicéntrico, de grupos paralelos, financiado por el Instituto de Investigación Carlos III (ISCHIII) (referencia G03/140). En este estudio se ha realizado el reclutamiento de participantes exentos de ECV y se les ha asignado un grupo de intervención dietética; recomendaciones de Dieta Mediterránea suplementada con aceite de oliva virgen y otra suplementada con frutos secos para compararlas con el efecto de una dieta baja en grasas. A estos tres grupos de intervención se les está haciendo el seguimiento para estudiar los efectos sobre el riesgo de complicaciones cardiovasculares mayores. Así, a través de este estudio se pretende evaluar la influencia del grado de adherencia a la DM y el desarrollo de fenotipos intermedios, entre los cuales se encuentra la obesidad, y finales de la ECV. El presente trabajo se basa en un estudio transversal de los datos obtenidos a nivel basal a partir de este proyecto en el nodo de Valencia.

1.4.3 Factores genéticos

El incremento del peso en un individuo puede entenderse como el resultado de la interacción entre su dotación genética y las influencias ambientales. En estos momentos, hay más de 600 genes, marcadores y regiones cromosómicas que se han asociado o vinculado con la obesidad humana, y en cada actualización se agregan más a esta lista de candidatos (Pérusse L et al, 2005), con presencia en el ser humano de posibles *loci* relacionados con un fenotipo obeso en todos los cromosomas excepto en el Y. Los principales *loci* relacionados con la obesidad se encuentran en los cromosomas 4, 10, 20. Estudios de agregación familiar y de gemelos han mostrado que el factor genético contribuye entre un 40 y un 70% en la variación interindividual en la obesidad común (Maes HH et al, 1997). La era molecular ha permitido un vertiginoso avance en la comprensión de los mecanismos que intervienen en la genética de la obesidad (Martí A et al, 2000). Hoy día se conocen variantes genéticas que pueden causar distintos tipos de obesidad. Existen causas de obesidad monogénica, es decir, que una mutación en un único gen puede ser la causa de la obesidad del individuo (Macho T et al, 2000), este tipo de mutaciones podría ser la causa de un 2-4% de los casos de obesidad

humana (Martí A et al , 2003) Sin embargo, en la mayoría de los casos la etiología de la obesidad es de origen poligénico o multifactorial (Macho T et al, 2000).

El descubrimiento de las formas monogénicas de la obesidad, la mayoría de las cuales cursan con una obesidad severa de manifestación temprana, están relacionadas variaciones en genes involucrados en la regulación del apetito, entre los cuales se incluyen la leptina y su receptor, la prohormona convertasa-1, la POMC y el MC4R (Montague CT et al , 1997; Jackson RS et al, 1997; Clement K et al, 1998; Vaisse C et al, 1998; Yeo GS et al, 1998; Krude H et al 1998). Las variantes de estos genes pueden causar aproximadamente el 5% de la obesidad mórbida en los humanos.

Por otra parte, existen numerosos síndromes producidos por formas monogénicas o anomalías cromosómicas, incluso ligadas al cromosoma X, que cursan con un fenotipo obeso (Rankinen T et al, 2006). Dentro de las formas mejor caracterizadas, se encuentran: los síndromes de Prader Willi, Bardet- Biedl, osteodistrofia hereditaria de Albright, síndrome de Adler, síndrome de X frágil, síndrome de Borjeson-Forsman-Lehman, síndrome de Cohen, entre otros.

Sin embargo, debido a que estas formas de obesidad solo explican una pequeña parte de la contribución genética para el desarrollo de la obesidad, estudios de asociación, los cuales buscan la relación entre variaciones genéticas con un determinado fenotipo (Rosmond R, 2003), y estudios de ligamiento, donde se intenta identificar regiones cromosómicas que contienen genes relacionados con un fenotipo mediante barridos del genoma completo o estudios de marcadores que flanquean genes candidatos en familias (Rankinen T et al, 2002), han permitido la obtención de resultados que indican que en la obesidad pueden intervenir varios genes, los cuales en combinación con los factores ambientales de los individuos dan lugar a la aparición de la obesidad (Bouchard C, 1997(b); Pérusse L et al, 2000; Bell CG et al, 2005; Frayling TM et al, 2007). Por tanto, la obesidad, en la mayoría de los casos, es una enfermedad poligénica en la que diferentes variaciones genéticas junto con la interacción con factores ambientales dan lugar al incremento de peso.

El número de genes o marcadores que se han visto directamente e indirectamente vinculados con la obesidad humana se ha ido multiplicando rápidamente en los últimos tiempos. Así, los genes implicados en la regulación del peso corporal actúan a través de diferentes mecanismos; entre ellos tenemos los genes que codifican para proteínas implicadas en la regulación del apetito, las que regulan el consumo de energía tanto en estado de reposo, durante la realización de actividad física o para el proceso de termogénesis, los péptidos

que intervienen en el metabolismo de los nutrientes y aquellos cuya función se ha visto relacionada con procesos de diferenciación de los adipositos (Martínez JA et al, 1996; Martínez JA, 2000; Palou A et al, 2000; Van Rossum CT et al, 2002; Loktionov A, 2003; Snyder EE et al, 2004) (Figura 1.13.)

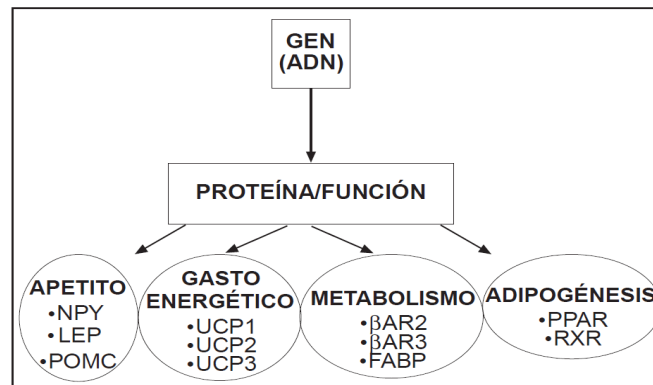


Figura 1.13. Algunos de los genes involucrados en la regulación del peso corporal en función del proceso en el que se han visto relacionados (Martí A et al, 2004)

Los recientes progresos en la genética de la obesidad han proporcionado nuevos conocimientos sobre los mecanismos fisiopatológicos y vías de desarrollo de la obesidad. Desde el punto de vista genético, es indispensable seguir realizando investigaciones que permitan la caracterización de los genes involucrados en la obesidad y la comprensión de los mecanismos moleculares implicados en su patogénia.

1.4.4 Otros factores relacionados con obesidad

Otros factores que se asocian con un aumento del sobrepeso o la obesidad están relacionadas con enfermedades endocrinas que incluyen lesiones hipotalámicas, deficiencias en la GH y el síndrome de Cushing, entre otras. Lesiones en el hipotálamo contribuyen a la obesidad por hiperfagia y al incremento de la actividad del sistema nervioso parasimpático y disminución del sistema nervioso simpático (Bray GA, 1998). El síndrome de Cushing se caracteriza por un aumento plasmático de los niveles de cortisol. El aumento de cortisol y la deficiencia en GH se caracterizan por una disminución del consumo de energía conduciendo a un aumento de la adiposidad (Pijl H et al, 2001; Franco C et al, 2005; Miller KK et al, 2005; Pasarica M et al, 2007; Therrien F et al, 2007).

También, el hipotiroidismo contribuye modestamente a la obesidad al disminuir la tasa metabólica (Bray GA et al, 2000).

Paralelamente, diversos trastornos psicológicos pueden influir en el hábito alimentario que contribuyen al desarrollo del sobrepeso y la obesidad. El síndrome del “comer nocturno” caracterizado por un consumo de al menos el 25% de la energía (en ocasiones incluso más del 50%) durante la noche, en individuos obesos puede llegar a alcanzar una prevalencia del 7,6 al 30% (Stunkard A et al, 1996). También, la depresión puede producir un aumento de más del 5 % del peso corporal en un mes y un aumento del apetito casi cada día (Andreason NC et al, 1995). Por otro lado, ciertos medicamentos como esteroides y algunos antidepresivos pueden estimular el apetito, retención de agua o retardar la tasa metabólica (NIH, 2008). Otro síndrome conocido, el síndrome de apnea del sueño, caracterizado por episodios recurrentes de colapso, total o parcial, de la vía aérea superior durante el sueño (Wolf P et al, 2003), promoviendo alteraciones metabólicas que conducen al aumento de adiposidad (Chrousos GP et al, 1998; Rosmond R et al, 1998).

1.5 Obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular

La epidemiología cardiovascular se inició en los años treinta debido a los cambios observados en las causas de mortalidad. Un estudio realizado por Wilhelm Raab en 1932, describió la relación que existía entre la dieta y la enfermedad coronaria (EC) en distintas zonas (Raab W, 1932). Posteriormente, alrededor de los años cincuenta se iniciaron diversos estudios epidemiológicos para tratar de dilucidar las causas de la enfermedad cardiovascular (Doyle JT et al, 1957; Chapman JM et al, 1957; Dawber TR et al, 1957; The Pooling Project Research Group, 1978; Keys A et al, 1986). Entre ellos, el National Heart Institute inició el estudio Framingham, un estudio prospectivo de investigación en salud cuyo objetivo era identificar las características comunes que contribuyen a la evolución de la enfermedad cardiovascular. El estudio Framingham desempeñó un papel vital para la definición de los factores de riesgo que contribuyen a la aparición de la ECV, indicando que múltiples factores interrelacionados contribuyen al desarrollo de la ECV (Kannel WB et al, 1961). El concepto factor de riesgo no implica causalidad, sino un conjunto de circunstancias biológicas que permiten identificar a las personas con más probabilidad de padecer un ECV (Hoeg JM, 1997). Los investigadores del estudio Framingham identificaron el colesterol y la presión arterial elevados, el tabaquismo y la diabetes como predictores de riesgo cardiovascular (Kagan A et al, 1963; Keys A et al, 1966), más tarde se observó como factores inflamatorios, como la proteína C reactiva, entre otros, se han agregado a esta serie de factores predictores de la ECV (Ridker PM et al, 1997).

El estudio Framingham fue el primero en determinar que la obesidad aumentaba la probabilidad de padecer un ECV (Kannel WB et al, 1967); pero fue la American Heart Association en 1998 la que renoció por primera vez a la obesidad como factor independiente de ECV (Eckel RH et al, 1998). Sin embargo, en la literatura científica podemos encontrar datos contradictorios (Luengo-Fernández E et al, 2005) sobre si la obesidad es un factor independiente de ECV o si este riesgo se debe a su presencia en otros factores de riesgo. El exceso de peso se ha asociado con un incremento de la incidencia de enfermedades tales como la DMT2 (Goran MI et al, 1994, Chan JM et al, 1994), la HTA (Mokdad AH et al, 2003) y dislipemias (Mokdad AH et al, 2003). En ambos sexos, el sobrepeso y la obesidad se han asociado con un aumento del riesgo de enfermedad coronaria e insuficiencia cardiaca (Manson JE et al, 1990; Pi-Sunyer FX, 1993; Ashton WD et al, 2001; Field AE et al, 2001; Kannel WB et al, 2002). Además en individuos obesos se produce un incremento de adipocitoquinas y otros tipos de mediadores químicos que conducen a situaciones adversas en el sistema cardiovascular al crear un estado proinflamatorio y protrombótico así como causar daño endotelial e hipertrofia vascular (Lundgren CH et al, 1996; Stepan CM et al, 2001).

1.5.1 Diabetes

La diabetes es una enfermedad multifactorial que resulta de la interacción entre factores genéticos y ambientales (Pociot F et al, 2002; Gloyn AL, 2003). La DMT2 es la forma más común de la diabetes (un 90% de la población con diabetes) (International Diabetes Federation, 2003), se produce como consecuencia de dos procesos metabólicos; por un lado se crea un estado de resistencia a la insulina provocando una deficiente acción de la insulina sobre la glucosa y por otro, una disfunción secretora de las células beta pancreáticas de tendencia progresiva, crónica e irreversible (Palma-Gámiz JL, 2007), dando lugar a un estado de hiperglucemia crónica. La diabetes puede ser precedida por un largo período de resistencia a la insulina, durante el cual se mantienen los niveles de glucosa cerca de la normalidad al compensar con hiperinsulinemia (Kahan SE, 2003). En individuos genéticamente predispuestos la combinación entre ingesta excesiva de calorías y relativa escasa actividad física, conducen previsiblemente a una situación de obesidad, que puede inducir un estado de resistencia a la acción de la insulina (Kahan SE, 2003).

En la actualidad la diabetes presenta una gran incidencia llegando a alcanzar también proporciones epidémicas. La prevalencia mundial de diabetes entre adultos (20-79 años) es de un 6,4%, afectando a 285 millones de adultos en 2010, pero se prevee que aumentará a un 7,7% con 439 millones de adultos en 2030 (Shaw JE et al, 2010). Entre 2010 y 2030 habrá un aumento del 69% en el número de adultos

con diabetes en países en desarrollo y un aumento del 20% en los países desarrollados (Shaw JE et al, 2010). En España diversos estudios epidemiológicos han puesto de manifiesto que la diabetes presenta una prevalencia entre intermedia y alta en comparación con otros países (Godoy A et al, 1994; Godoy A, 2002; Godoy A et al, 2002; Ruiz-Ramos M et al, 2006). Se puede estimar que en la actualidad entre 10-15% de nuestra población adulta tiene DMT2 (Godoy A, 2002; Valdés S et al, 2007), la prevalencia es mayor en varones (12%) que en mujeres (8%) (Godoy A 2002), aunque es más preocupante que probablemente la mitad de estos individuos desconozcan que padecen la enfermedad (Godoy A, 2002; Valdés S et al, 2007).

En este sentido, el aumento de la prevalencia de la obesidad en la población puede comportar un aumento de la prevalencia de la diabetes (Eckel RH et al, 2006), de hecho, la obesidad y la DMT2 a menudo se presentan juntas, y la mayoría de diabéticos tipo 2 son o han sido obesos (Stumvoll M et al, 2005; Halpern A et al, 2005). Junto con la susceptibilidad genética, la obesidad es el factor de riesgo más importante para la DMT2 (Scheen AJ, 1996; DeFronzo RA, 1997). Por ello, surgió el término “*diabesidad*” para indicar la estrecha relación entre ambas patologías (Shafrir E, 1996; Astrup A et al, 2000), destacando el exceso de peso como la principal causa de DMT2 (Astrup A et al, 2000). El riesgo de desarrollar DMT2 aumenta alrededor de un 20% por cada aumento de 1 kg/m² de IMC (Hartemink N et al, 2006). Comparado con individuos normopesos, el riesgo no aumenta hasta un IMC superior a 27,2 kg/m². Para un IMC entre 27,2 e inferior 29,4 el riesgo aumenta alrededor de un 100%, y para individuos cuyo IMC es igual o superior a 29,4 el riesgo incrementa hasta un 300% (Hartemink N et al, 2006; Meisinger C et al, 2006). Por tanto, es reconocido desde hace tiempo la estrecha relación entre la obesidad y el posterior desarrollo de DMT2, sin embargo, el mecanismo exacto no se ha determinado. Se ha mostrado que en individuos obesos, el tejido adiposo segrega menores concentraciones de adiponectina, a la vez que se aumenta la concentración de otras adipocitoquinas, como TNF- α , IL-6 y leptina que inducen a que el propio tejido adiposo se vuelva resistente a la acción de la insulina (Pittas AG et al, 2004). Por otro lado, la leptina al tener un efecto restrictivo sobre la secreción normal de insulina por el páncreas, se ha propuesto que la resistencia a la leptina en individuos obesos puede incrementar la hiperinsulinemia observada en éstos (Hajer GR et al, 2008). Por último, la adiponectina no tiene ningún efecto sobre la secreción normal de insulina, pero disminuye los efectos proapoptóticos de las adipocitoquinas y ácidos grasos libres en las células pancreáticas (Zhao YF et al, 2006).

Por tanto, hay suficiente evidencia que indica que la obesidad es un factor importante a considerar para prevenir o controlar la DMT2. En individuos con DMT2 la pérdida de peso puede mejorar los niveles de hiperglucemia en ayunas, la

hemoglobina glicosilada (HbA1c), la dislipemia, la hipertensión y disminuir la necesidad de tomar antidiabéticos orales (Maggio CA et al, 2003; Buse JB et al, 2007). Por ello, ante el binomio obesidad y DMT2 el reto está en conseguir la motivación de los individuos para transformar adecuadamente sus hábitos alimenticios y fomentar la actividad física, de manera que, junto con el resto de medidas terapéuticas, den lugar a una disminución de las complicaciones metabólicas que contribuyen al desarrollo de la diabetes.

1.5.2 Hipertensión

En la HTA se producen cambios humorales y alteración hemodinámica que llegan a afectar a la morfología y a la función de la pared arterial (Martell-Claros N et al, 2007). Para la determinación de HTA en adultos el valor de presión arterial ha ido disminuyendo. En la actualidad, según el informe de Clasificación del Joint National Committee VI (Joint National Committee, 1997) y la OMS (OMS, 1999) definen como HTA los valores de presión arterial sistólica de 140 mmHg, y valores de presión arterial diastólica de 90 mmHg, siendo estos valores de referencia para pacientes que no estén tomando medicación. La presión arterial es el producto del gasto cardíaco y la resistencia vascular sistémica, el gasto cardíaco aumenta en pacientes obesos debido al aumento del flujo sanguíneo al incrementar el tejido adiposo (Summers LK et al, 1996). El riesgo de HTA es hasta cinco veces superior en personas obesas que en personas con normopeso (Wolf HK et al, 1997), la variabilidad en la respuesta refleja la influencia de la susceptibilidad genética y el hábito alimentario.

La prevalencia de la HTA en los países desarrollados llega a ser bastante considerable, llegando a afectar a casi el 40% de los adultos (Wolf-Maier k et al, 2003; Kearney PM et al, 2005). Se prevee que para el 2025, la incidencia de individuos con HTA habrá aumentado a un 24% en países desarrollados y llegará a alcanzar un 80% en los países en vías de desarrollo (Kearney PM et al, 2005). En España la HTA también constituye un importante problema de salud pública (Banegas JR et al, 2002). Afecta al 35% de la población adulta, llegando a un 40% en edades medias, y al 68% en los mayores de 60 años (Banegas JR et al, 2009). Además de la elevada incidencia de la HTA, existe el problema del desconocimiento de la enfermedad por parte del paciente y, en ocasiones, de la falta de un tratamiento adecuado. En este sentido, un estudio poblacional mostró que dos tercios de los pacientes mayores de 60 años son hipertensos, que el 65% no conoce su estado, que el 45% de los hipertensos diagnosticados no recibe tratamiento y que solo el 16% de los pacientes que reciben tratamiento adecuado (Banegas JR et al, 2002). Estudios más recientes han mostrado resultados similares

(Bertomeu V et al, 2007) o algo mejores en el control de las cifras de la presión arterial (Llisterri JL et al, 2004; González-Juanatey JR et al, 2006).

La hipertensión asociada con la obesidad se caracteriza por un aumento del volumen vascular, mientras que la resistencia periférica se mantiene o se eleva ligeramente (Redón J, 2001). Según resultados del estudio Framingham la obesidad explica el 78% de la HTA en hombres y el 65% en las mujeres (Kannel *et al.*, 1993), y un exceso de peso puede contribuir entre el 65-75% del riesgo a padecer HTA (Wilson PWF et al, 2002). Un aumento de peso de 10 kg se asocia con un incremento de 3 mmHg en la presión arterial sistólica y 2,3 mmHg en la presión arterial diastólica (Poirier P et al, 2006). Sin embargo, esta asociación de obesidad e HTA parece variar según la edad, el sexo y la raza (González-Albarrán O et al, 1999), y este aumento de la presión arterial es mayor cuando la obesidad tiene una distribución abdominal (Björntorp P, 1990; Muller DC et al, 1993).

Existen varios mecanismos que pueden estar involucrados en el desarrollo de la HTA en individuos obesos. En individuos obesos se produce una disminución de NO el cual es un potente vasodilatador de las arterias (Raj L, 2006), a la vez que se produce un aumento de ciertas adipocitoquinas (Rodríguez-Rodríguez E et al, 2009). Entre ellas, la leptina esta relacionada con el desarrollo de la hipertensión arterial al estimular la producción de NO en células endoteliales y en los vasos sanguíneos, e influye en la natriuresis y en la activación a nivel renal del sistema nervioso simpático lo que podría inducir a la retención de sodio, vasoconstricción sistémica y elevación de la presión arterial (Bravo PE et al, 2006). Por otro lado, los ácidos grasos libres podrían promover la hipertensión por medio de la estimulación adrenérgica, aumento del estrés oxidativo, disfunción endotelial, o incluso por la estimulación del crecimiento celular vascular (Sarafidis PA et al, 2007). También en el estudio realizado por Li y colaboradores observaron una correlación negativa entre la concentración de adiponectina y la presión arterial sistólica dependiente de la obesidad (Li HY et al, 2008).

En los últimos años se ha producido un avance en la comprensión de los mecanismos de la hipertensión relacionada con la obesidad, mostrando que es evidente que la obesidad se asocia con anomalías que pueden explicar el desarrollo o mantenimiento de presión arterial alta. Sin embargo, aún no existe evidencia suficiente para indicar que antihipertensivo es mejor que otro en la obesidad, lo que indica la necesidad de ensayos clínicos rigurosos (Rahmouni k et al, 2005), que puedan explicar por qué la HTA se desarrolla en la mayoría pero no en todos los sujetos obesos.

1.5.3 Dislipemia

La dislipemia se define como el conjunto de patologías producidas por alteraciones en los niveles de lípidos plasmáticos, implicando por ello un riesgo para la salud. De acuerdo con los criterios establecidos por el National Cholesterol Education Program (NCEP) Adult Treatment Panel-III (ATP III) podemos encontrarnos ante una elevación de colesterol total o de su fracción c-LDL (valores ≥ 130 mg/dl), de triglicéridos (valores ≥ 150 mg/dl) y con un descenso de la fracción c-HDL (valores < 40 mg/dl en hombres y < 50 mg/dl en mujeres) (National Cholesterol Education Program, 2002). En la obesidad se producen importantes cambios en el metabolismo de las lipoproteínas, independientemente del origen étnico (Despres JP, 1994; Ferrara A et al, 1997; Owen CG et al, 2003). El perfil lipídico más común observado en el individuo obeso se caracteriza por un incremento de los niveles de triglicéridos, y de c-LDL, así como una disminución de la concentración de c-HDL (Pérez A et al, 2007). Por el contrario, la pérdida de peso se asocia con un perfil de lipoproteínas más saludables en ambos sexos (Pérez A et al, 2007).

La incidencia de la dislipemia está incrementando en muchos países en desarrollo debido, como ocurre con otros factores de RCV, al proceso de industrialización y cambios en los patrones de dieta y de estilo de vida (Yamada M et al, 1997; Hodge AM et al, 1997(a)). En España un 25% de los pacientes están diagnosticados de dislipemia, siendo el 95% de hipercolesterolemia, con variaciones según la distribución geográfica (Vegazo O et al, 2006), pero de igual manera que ocurre con el diagnóstico de otros factores de RCV, aproximadamente la mitad de los individuos adultos desconoce su situación de dislipemia (Vegazo O et al, 2006; Banegas JR et al, 2006). Además, aunque el tratamiento farmacológico para la dislipemia es relativamente alto, el control es bajo dado que solo aproximadamente el 35% están controlados adecuadamente (Banegas JR et al, 2006; Rodríguez-Roca G et al, 2006).

La obesidad es un factor determinante en la dislipemia (Bays H et al, 2005) ya que opera a través de varias influencias metabólicas que incluyen la reducción de la sensibilidad a la insulina y cambios en el metabolismo de los ácidos grasos. El exceso de tejido adiposo conduce a variaciones en los niveles de ácidos grasos libres, citoquinas y adipocitoquinas que pueden promover el aumento de la síntesis de triglicéridos hepáticos, produciendo un incremento de la secreción hepática de VLDL. La sobreproducción de VLDL a nivel hepático deriva en un aumento de c-LDL y una disminución de c-HDL (Lewis GF et al, 2002). El flujo de ácidos grasos libres al hígado se asocia, a su vez, con una mayor producción de glucosa, triglicéridos, VLDL, c-LDL y una disminución de c-HDL. Debido a que los niveles elevados de ácidos grasos también inhiben la captación de glucosa por el músculo

esquelético, contribuyen al deterioro de la sensibilidad a la insulina (Berneis KK et al, 2002; Bays H et al, 2005).

Por otra parte, las terapias no farmacológicas que modulan el perfil lipídico sin el riesgo de producir efectos secundarios son muy ventajosas. El tercer informe del National Cholesterol Education Program (NCEP) Adult Treatment Panel-III (ATP III) recomienda terapias de tratamiento con recomendaciones del estilo de vida en lugar de fármacos para pacientes con un riesgo intermedio de evento cardiovascular (National Cholesterol Education Program, 2001). Las características esenciales del enfoque del ATP III son una disminución de la ingesta total de grasa a un 25-35% de la energía diaria, reducir el consumo de grasas saturadas al 7% de la energía diaria así como consumir ciertos suplementos nutricionales que mejoran la reducción de lípidos (National Cholesterol Education Program, 2001). De acuerdo con estas pautas dietéticas, la realización de actividad física moderada es también un adyuvante para el tratamiento de la dislipemia.

1.5.4 Estrés oxidativo

El estrés oxidativo se produce por un desequilibrio entre la producción de radicales libres y las defensas antioxidantes del organismo cuya función es la detoxificación de dichos radicales (Vincent HK et al, 2006). Los radicales libres forman parte de las especies reactivas del oxígeno (ROS) las cuales son una serie de moléculas de alta reactividad, entre las que se encuentran el óxido nítrico (NO), el superóxido (O_2^-), el hidróperóxido (H_2O_2), el radical hidroxilo (OH) y el peroxinitrilo ($ONOO^-$) (Halliwell B et al, 2004). En el organismo las ROS se encuentran en equilibrio con los sistemas antioxidantes celulares y son necesarias para un adecuado mantenimiento de las funciones celulares (Martínez JA et al, 2009). El desequilibrio en estas especies reactivas, producido por determinadas patologías (Halliwell B et al, 2001; Butterfield DA, 2002), conduce a la producción en exceso de radicales libres, los cuales debido a su elevada reactividad llegan a ocasionar daños en distintos niveles celulares llegando incluso a destrucción oxidativa o muerte celular (Yu BP et al, 2006). El estrés oxidativo se ha propuesto como un potencial mecanismo patogénico que vincula la obesidad y la resistencia a la insulina con la disfunción endotelial (Ceriello A, et al 2004).

En la actualidad diversos estudios epidemiológicos han encontrado asociación entre la obesidad y el sobrepeso en humanos con el aumento del estrés oxidativo (Keaney JF et al, 2003; Myara I et al, 2003; Urakawa H et al, 2003; Furukawa S et al, 2004; Couillard C et al, 2005; Suematsu M et al, 2005; Ferreti G et al, 2005; Bougoulia M et al, 2006; Weinbrenner T et al, 2006; Fujita K et al, 2006; Van Guilder GP et al, 2006; Rector RS et al, 2007; Uzun H et al, 2007;

Stefanovic A et al, 2008). Paralelamente otras investigaciones han observado una correlación positiva entre la obesidad y la baja ingesta de antioxidantes naturales (Panagiotakos DB et al, 2006(a), Sanchez-Villegas A et al, 2006). De igual manera, la obesidad y el sobrepeso se han relacionado con bajos niveles plasmáticos de antioxidantes (Ozata M et al, 2002; Suzuki K et al, 2006; Arnaud J et al, 2006; de Souza Valente da Silva L et al, 2007; Aasheim ET et al, 2008). Por otro lado, también se ha observado una modificación en la actividad de las principales enzimas antioxidantes con el aumento del tejido adiposo (Olusi SO, 2002; Furukawa S et al, 2004; Lazarevic G et al, 2006).

Aunque los mecanismos por los cuales se produce un aumento de ROS no están claros, se ha sugerido que cuando la ingesta calórica supera el gasto energético se produce un aumento en la actividad del ciclo de los ácidos tricarboxílicos, el cual genera un exceso de NADH a nivel mitocondrial, dando lugar a un incremento en la producción de ROS (Maddux B et al, 2001), las cuales conducen a una situación de estrés oxidativo (Maechler P et al, 1999). Además, las ROS inducen la activación del factor de transcripción NF- κ B y la proteína activadora 1 (AP-1) (Higdon JV et al, 2003), los cuales participan en la expresión de moléculas de adhesión, ICAM, VCAM, selectina E y otras citocinas. También el aumento de ROS en el tejido adiposo se ha observado que produce un aumento en la secreción de TNF- α , PAI-1 y una disminución de adiponectina (Furukawa S et al, 2004). Paralelamente, el incremento de concentración de leptina también se ha asociado con un incremento del estrés oxidativo y la disfunción endotelial (Knudson JD et al, 2005).

Por otro lado, la idea de que la obesidad esta asociada a un estado de estrés oxidativo, incluso en ausencia de otros factores de RCV, aumenta la importancia de desarrollar estrategias de prevención y tratamiento de la obesidad. Pero dado que en los últimos años las modificaciones en los hábitos de alimentación y de actividad física han tenido relativamente poco éxito en la disminución de la prevalencia de la obesidad, los individuos obesos pueden tratar de combatir el estrés oxidativo con suplementos antioxidantes (Higdon JV et al, 2003).

1.5.5 Inflamación

La inflamación es una respuesta fisiológica del organismo a estímulos nocivos, ya sean de origen físico, químico o biológico. La respuesta dada, por lo general, se lleva a cabo para el restablecimiento de la homeostasis del organismo. Esta respuesta se produce por la acción coordinada de diversos tipos celulares y mediadores, cuya intervención depende de la naturaleza del estímulo inicial y de la respuesta que éste genera. La respuesta inflamatoria aguda consiste en el

reclutamiento de componentes del plasma y leucocitos al lugar de la injuria, se inicia por macrófagos y mastocitos que dan lugar a la producción de diferentes tipos de mediadores inflamatorios (quimionas, citoquinas, aminas vasoactivas, eicosanoides y productos de las cascadas proteolíticas) (Qatanani M et al, 2007). Sin embargo, si la neutralización y eliminación del estímulo nocivo persiste o si se produce un fallo en la eliminación de las células inflamatorias, el proceso persiste dando lugar a un estado de inflamación crónica (Lawrence T et al, 2007). Actualmente la evidencia científica indica que la inflamación puede estar involucrada en la etiología de diversas enfermedades de gran impacto en la salud pública, tales como la DMT2, la HTA, las dislipemias, la resistencia a la insulina y en enfermedades cardíacas (Yudkin JS, 2003; Fantuzzi G, 2005; Berg AH et al 2005; Lau DCW et al 2005). Paralelamente, la obesidad se ha asociado con una respuesta inflamatoria crónica, caracterizada por la producción anormal de adipocitoquinas y la activación de algunas vías de señalización proinflamatorias, dando lugar a la inducción de varios marcadores biológicos de inflamación (Hotamisligil GS et al, 1993, Samad F et al, 1996, Samad F et al, 1997; Fried Sk et al, 1998; Bastard JP et al, 2002; Sartipy P et al, 2003).

En la actualidad, los mecanismos que explican la conexión entre inflamación y obesidad permanecen sin establecer con precisión (Bastard JP et al, 2006). Sin embargo, numerosos estudios han demostrado que en individuos obesos, además de producirse un incremento en la expresión de citoquinas inflamatorias, se aumenta la infiltración de macrófagos al tejido adiposo (Apovian CM et al, 2008; Vitseva OI et al, 2008; Huber J et al, 2008). Este aumento de la infiltración de macrófagos podría representar la causa y/o la consecuencia del estado de inflamación asociado con la obesidad (Wellen KE et al, 2003; Wellen KE et al, 2005). Se ha propuesto que la leptina puede promover la diapédesis de macrófagos del flujo de sangre al tejido adiposo blanco (Curat CA et al, 2004), a través del aumento de la expresión de moléculas de adhesión en células endoteliales. Además, los adipocitos también pueden sintetizar una quimioquina, la proteína quimiotáctica de monocitos-1 (MCP-1), el cual es un factor de reclutamiento de monocitos circulantes que es sobreexpresado en obesidad (Christiansen T et al, 2005). Los macrófagos que se infiltran en el tejido adiposo parecen ser los responsables de inducir la producción de TNF- α e IL-6 (Weisberg SP et al, 2003). El TNF- α es una citoquina mediadora de la respuesta inmune e inflamatoria (Xydakis AM et al, 2004) y la IL-6 se ha propuesto como una citoquina proinflamatoria (Engström G et al, 2003), además, estimula la producción hepática de PCR y fibrinógeno (Vgontzas A et al, 1998). La PCR es una de las principales proteínas hepáticas producidas en respuesta a la inflamación (Dvoráková-Lorenzová A et al, 2006), induce la síntesis de otras citoquinas, de moléculas de adhesión celular (VCAM) y de adhesión intercelular (ICAM) y proporciona un vínculo entre inflamación y aterosclerosis (Gabay C et al, 1999). Paralelamente, a la adiponectina se le han atribuido propiedades

antiaterogénicas al inhibir la expresión de moléculas de adhesión (VCAM-1, ICAM-1 y E-selectinas) al impedir la activación del factor NFK β (Ouchi N et al, 1999).

La idea de que la obesidad es un estado crónico de estrés oxidativo y de inflamación, incluso en ausencia de otros factores de RCV, aumenta la importancia de desarrollar estrategias eficaces de prevención y tratamiento de ambas situaciones. Entre las alternativas terapéuticas para tratar de mejorar el perfil proinflamatorio se ha propuesto el uso de la glicina. Se han realizado experimentos *in vitro* e *in vivo* en humanos que muestran que el tratamiento con glicina puede disminuir la expresión de citoquinas proinflamatorias como la resistina, el TNF- α y la IL-6, y un aumento de la expresión de adiponectina (Alarcón-Aguilar FJ et al, 2008; García-Macedo R et al, 2008).

1.6 Complicaciones clínicas asociadas con la obesidad

La obesidad en el adulto constituye un importante factor de riesgo dada su implicación en el desarrollo de enfermedades crónicas (Guh DP et al, 2009). Determinados riesgos para la salud aumentan su incidencia de manera paralela al aumento de peso. En términos de salud pública, la mayor carga de enfermedad surge de la morbilidad relacionada con la obesidad dado que, además de asociarse con un perfil metabólico alterado que conlleva a la resistencia a la insulina, DMT2 y HTA, como se ha indicado anteriormente, también se asocia con el síndrome metabólico, enfermedades del corazón y cerebrovascular, enfermedades del hígado y la vesícula, trastornos ginecológicos, enfermedades respiratorias, artrosis y dolor de espalda, trastornos psicológicos y diversos tipos de cáncer entre las más destacadas (Readinger RN et al, 1972; Pi-Sunyer FX, 1993; Franks S, 1995; Must A et al, 1999; Schoen RE et al, 1999; Carroll KK, 1998; Alberti KG et al, 1998; Pagano G et al, 2002; Bianchini F et al, 2002; Simard B et al, 2004; Chen J et al, 2004; Bodnar LM et al, 2005; Barden A, 2006), puesto que la obesidad afecta a casi todos los órganos del cuerpo (Jebb S, 2004). En la siguiente figura se indican las principales complicaciones clínicas asociadas con la obesidad. (Figura 1.14.)

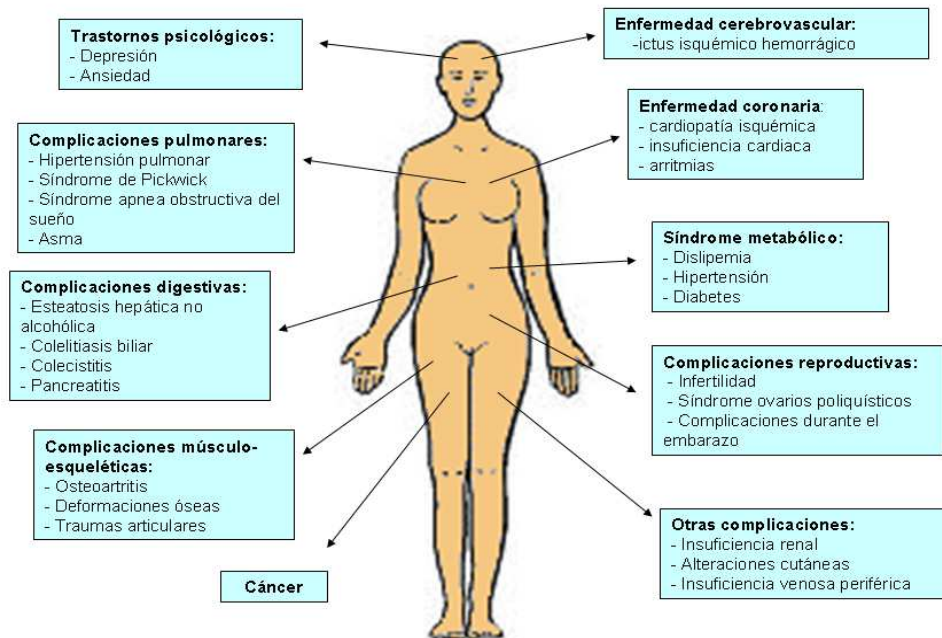


Figura 1.14. Representación de las principales complicaciones clínicas asociadas con la obesidad (Modificado de Jebb S, 2004)

Por tanto, la obesidad se asocia con un mayor riesgo de morbilidad y mortalidad y por ello con una reducción en la esperanza de vida (Drenick EJ et al, 1980; Wilson PW et al, 2002; Eckel Rhet al, 2002; Fontaine KR et al, 2003; Peeters A et al, 2003; Hu FB et al, 2004(a); Olshansky SJ et al, 2005). Se ha demostrado que a los 40 años la obesidad puede producir una disminución de la esperanza de vida de 7 años (Peeters A et al, 2003), sin embargo, el aumento de riesgo de muerte con cada aumento de una unidad en el IMC disminuye progresivamente con la edad, pero sigue siendo considerable esta reducción hasta alrededor de los 75 años (Stevens J et al, 1998). También se ha observado que en varones de 20 años de raza caucásica presentar un IMC mayor de 45 kg/m² supondría una reducción de 13 años en la esperanza de vida, y en mujeres con las mismas características de 8 años (Fontaine KR et al, 2003). Paralelamente, se ha observado que en mujeres no fumadoras de 40 años la esperanza de vida puede disminuir hasta 7,1 años y en hombres fumadores hasta 5,8 años a causa de la obesidad (Peeters A et al, 2003). Una serie de estudios han sugerido que existe una relación en forma de “U” o de curva en forma de “J” entre el IMC y la mortalidad, donde el incremento de la curva comienza con un valor de IMC de 25 kg/m² (Troyano RP et al, 1996; Durazo-Arvizu R et al, 1997; Engeland A et al, 2003),

dado que los riesgos asociados a la obesidad aumentan con la misma progresión que el aumento de peso. La principal causa de mortalidad en individuos obesos, en comparación con individuos de peso normal, por lo general es debida a enfermedades cardiovasculares (Dorn JM et al, 1997).

En España la mortalidad atribuible al exceso de peso es un importante problema de salud pública; se estima que en la población española el 42,3% de los eventos coronarios es atribuible al sobrepeso, incluso tras ajustar por potenciales factores de confusión (Medrano MJ et al, 2007). En la Unión Europea aproximadamente una de cada 13 muertes anuales y en España una de cada 12 muertes anuales posiblemente estén relacionadas con el exceso de peso (Morales-Salinas A et al, 2010).

En el tratamiento de la obesidad generalmente se considera el grado de sobrepeso, el resto de factores de riesgo y las enfermedades concurrentes en la identificación del tratamiento más adecuado para el individuo (National Institutes of Health, 1998). La evidencia científica sugiere que, aun sin alcanzar el peso ideal, una reducción moderada de peso puede ser beneficiosa al reducir el impacto de otros factores de riesgo de mortalidad, tales como la presión arterial o la resistencia a la insulina. A continuación, se explican algunas de las comorbilidades de mayor incidencia en la sociedad relacionadas con la obesidad.

1.7 Epidemiología genética de la obesidad

La epidemiología genética de la obesidad se encarga de discriminar rasgos del fenotipo que puedan atribuirse a variaciones genéticas en poblaciones humanas (Snyder EE et al, 2004). Se encarga de evaluar el efecto de los factores genéticos y de su interacción con factores ambientales en el desarrollo de las enfermedades humanas (Khoury MJ et al, 2004). Un cambio en el código genético, por sutil que sea, puede tener una trascendencia fisiológica que predisponga al desarrollo de la enfermedad (Collins F, 1999).

Un cambio en la secuencia del ADN que sea heredable constituye una mutación, ésta puede producirse de manera puntual en un sólo nucleótido (SNP o *single nucleotide polymorphism*) o pueden producirse por repetición (CNV o *copy number variation*), inversión, inserción, delección o translocación de segmentos genómicos. Estas variaciones pueden aparecer en regiones codificantes o no codificantes de genoma, como son intrones o regiones promotoras, y son bialélicas al presentar dos variedades del mismo gen, el alelo natural o silvestre (*wild type*) y el alelo mutante. El término mutación se refiere a los cambios que alteran gravemente la función de la proteína o enzima codificada y basta un gen para

provocar una enfermedad (enfermedad monogénica o mendeliana), como es el caso de la hipercolesterolemia familiar. Son raras y siguen las leyes de la herencia mendeliana, dominante o recesiva. En cambio, se denominan polimorfismos si las variaciones son comunes (por definición ocurren en más del 1% de la población) y la afectación funcional es modesta o mínima, e incluso puede que no tengan ninguna consecuencia funcional. Sin embargo, la suma de varios polimorfismos desfavorables puede facilitar la aparición de una enfermedad (Navarro-López F et al, 2002).

A menudo se estudian de manera simultánea distintos polimorfismos del mismo gen o de la región candidata al gen objeto de estudio. Esto es debido a que en ocasiones el polimorfismo realmente responsable de influir o modificar el riesgo de la enfermedad puede ser desconocido, por ello se analizan varios polimorfismos para intentar identificarlo. Entre diferentes polimorfismos localizados en el mismo cromosoma y relativamente próximos entre sí suele observarse cierto grado de correlación o asociación estadística denominada desequilibrio de ligamiento (*linkage disequilibrium*) (Costas J, 2005, Iniesta R et al, 2005). Ello es debido a que en el proceso de meiosis que genera los gametos, los cromosomas que se transmitirán serán copias exactas de las del progenitor, a excepción de los entrecruzamientos que generan recombinación. Es decir, a la descendencia los cromosomas transmitidos están formados por una composición de fragmentos largos que son una copia exacta de los del progenitor, pero combinando partes del cromosoma paterno y del materno. La frecuencia de entrecruzamientos por cromosoma es pequeña, de 1 a 4, y depende de su tamaño. La probabilidad de que entre 2 loci cercanos se dé una recombinación es baja y, por ello, se observa el desequilibrio de ligamiento, que tiende a disminuir en sucesivas generaciones hasta llegar al equilibrio (independencia estadística) (Iniesta R et al, 2005).

El hecho del desequilibrio de ligamiento es muy útil, pues permite localizar polimorfismos relacionados con la enfermedad. Si aparece una mutación que genera un polimorfismo responsable de la enfermedad, es posible que otros polimorfismos cercanos también estén asociados con ella. De hecho, como lo que se transmite de padres y madres a sus hijos son cromosomas, suele ser interesante identificar el conjunto de alelos que se transmiten conjuntamente en cada cromosoma, de manera que sea más fácil así identificar el polimorfismo causal. A este conjunto de alelos que se transmiten conjuntamente se le denomina haplotipo (Costas J, 2005, Iniesta R et al, 2005).

Por otro lado, en el año 2003 se publicó la finalización del Proyecto Genoma Humano (Collins FS et al, 2003), en el cual se determinó la secuencia de más del 90% de los 3200 millones de nucleótidos en el genoma humano y se desarrolló el mapa de los aproximadamente 40000 genes que lo forman, estimándose que unos

1400 genes son causantes de enfermedades monogénicas (Jiménez-Sánchez G et al, 2001). También se demostró que los seres humanos comparten el 99% de la secuencia genética, y sólo el 0,1% presenta una variabilidad individual, que conduce a la individualidad de los sujetos. Pero además, hay que considerar el medio ambiente y los factores del estilo de vida que serán determinantes al interactuar con las variantes genéticas en el desencadenamiento de una enfermedad.

Los métodos de la epidemiología genética para identificar genes involucrados en el desarrollo de la enfermedad pueden dividirse en dos grandes tipos de enfoque según el abordaje del estudio. Por un lado, se realiza el análisis de genes candidatos basados en la búsqueda de un marcador alélico que se encuentre asociado con la presencia de la enfermedad (Clement K, 2002 et al; Rankinen T et al, 2002). Por otro lado, los estudios de ligamiento se basan en comparar patrones de variación entre genotipos y el fenotipo de estudio mediante el estudio de marcadores genéticos espaciados a lo largo de la totalidad del genoma (Blaguero J, 2004). Al encontrar una zona relacionada con la presencia del fenotipo de estudio se le denomina *loci* de rasgos cuantitativos (QTL). En la actualidad se realizan estudios de asociación del genoma completo (*Genome-wide association studies*, GWAS), sin restricciones en el genoma, proporcionando un enfoque no sesgado que permite ubicar variantes genéticas de riesgo frecuentes en áreas cromosómicas (Wang Wy et al, 2005; Hirshhorn JN et al, 2005).

Actualmente, el número de genes relacionados con la obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular asociados a la misma es cada vez mayor, así como de polimorfismos en los mismos, resultando complejo realizar una selección de las variables a analizar. Por ello, se ha realizado una rigurosa selección de las variantes a estudiar, fundamentada en un conocimiento exhaustivo de la literatura previa. Esta selección se ha centrado fundamentalmente en genes relacionados con la adiposidad, la ingesta energética, la relación con DMT2 y el metabolismo lipídico. En la elección de variantes genéticas concretas se ha atendido a su funcionalidad y prevalencia. Así, se propone el estudio de los genes ADIPOQ, ADIPOR1, LEP, RLEP, GHRL, GHSR, PYY, MC4R, CNR1, BDNF, NPY2R, KCNJ11, ABCC8, ENPP1, TSPAN8, CD36, MLXIPL, MCM6 y NR1H3.

Seguidamente se realiza una breve descripción de cada uno de los genes propuestos y de las variantes genéticas a analizar.

1.7.1 Genes de adipocitoquinas y sus receptores

- **Gen de la adiponectina (ADIPOQ).** El gen de la adiponectina está ubicado en el cromosoma 3q27, esta región, como ya se ha indicado en apartados anteriores, se ha identificado como un locus susceptible de DMT2 (Hegele RA et al, 1999; Vionnet N et al, 2000; Mori Y et al, 2002), síndrome metabólico (Kissebah AH et al, 2000; Francke S et al, 2001), aumento de LDL (Rainwater DL et al, 1999) y enfermedad coronaria (Chiodini BD et al, 2003). El gen ADIPOQ incluye tres exones. Se han descrito diferentes SNP a lo largo de todo el gen, entre ellos destacamos los siguientes: rs17300539 (-11391, G>A), rs1501299 (+276, G>T), rs2241766 (+45, T>G) y rs17366743 (Y111H, T>C). Diversos estudios han descrito una asociación entre una o más de estas variantes alélicas y los niveles de adiponectina (Menzaghi C et al, 2004; Fumeron F et al, 2004; Vasseur F et al, 2005; Tankó LB et al, 2005; Qi L et al, 2005(a); Pollin TI et al, 2005; Lee YY et al, 2005; Jang Y et al, 2005; Filippi E et al, 2005; Schwarz PE et al, 2006; Mousavinasab F et al, 2006; Mackevics V et al, 2006). Recientemente, en un estudio de GWA, llevado a cabo en cohortes europeas, han identificado el rs17366568 (G>A), situado en el intrón 1, como el más significativamente asociado con adiponectinemia (Heid IM et al, 2010). Además, las asociaciones entre estos polimorfismos y características metabólicas como el IMC, resistencia a la insulina y DMT2 muestran resultados contradictorios y diferentes asociaciones en distintas muestras en la literatura actual (Vasseur F et al, 2006; Yang WS et al, 2006; Gable DR et al, 2006; Gable DR et al, 2007). La falta de hallazgos consistentes hace hincapié en la necesidad de una caracterización integral de la variación genética del gen ADIPOQ.
- **Gen del receptor 1 de la adiponectina (ADIPOR1).** Se han descrito dos receptores para la adiponectina ADIPOR1 Y ADIPOR2, se encuentran situados en los cromosomas 1q32.1 y 12p13.33, respectivamente, formados por 8 exones cada uno (Yamauchi T et al, 2003). El ADIPOR1 se expresa de manera ubicua aunque presenta altos niveles de expresión en el músculo esquelético, y es receptor de la forma globular de la adiponectina. Además, su presencia se ve aumentada con la pérdida de peso (Rasmussen MS et al, 2006; Kim MJ et al, 2006). Los receptores de la adiponectina inducen la oxidación de los ácidos grasos y la captación de glucosa mediante la activación de la AMP quinasa y PPAR- α (Yamauchi T et al, 2003; Kadowaki T et al, 2005). Distintos polimorfismos han sido descritos en este gen, entre ellos el rs6666089 (-8503) situado en la región del promotor se ha asociado con sensibilidad a la insulina e hígado graso en población alemana (Stefana N et al, 2005), sin embargo, en otro estudio este polimorfismo se asocia con baja sensibilidad a la insulina solo

en sujetos obesos, lo que sugiere que la asociación es posiblemente modulada por adiposidad (Kantartzis K et al ,2006(b)).

- **Gen de la leptina (LEP).** El gen de la leptina ha sido localizado en el cromosoma 7, en la región 7q31.3 (Isee N et al, 1995). Se han investigado variantes genéticas potencialmente relacionadas con la fisiopatología de la obesidad, la diabetes y sus complicaciones asociadas (Otero M et al, 2005). El polimorfismo rs7799039 (-2548) del gen de la leptina, situados en la región del promotor, produce un cambio de una G por una A. Este cambio se ha asociado con variaciones en la concentración de leptina y con obesidad, aunque los resultados entre estudios son controvertidos (Mammès O et al, 1998; Mammès O et al 2000; Le Stunff C et al, 2000; Hoffstedt J et al, 2002).
- **Gen del receptor de la leptina (RLEP).** El receptor de la leptina presenta varias isoformas, entre ellas la forma larga del receptor (OB-Rb) se cree que es esencial en el efecto de la leptina a través del hipotálamo (Isee Net al, 1995; Frühbeck G, 2006). En el gen, localizado en la región 1p31, se han detectado distintos polimorfismos en distintos exones (Mammès O, 2001). La mutación rs1137101 (Q223R) en el exón 6 ha mostrado una mayor consistencia en su asociación con la obesidad en distintos estudios poblacionales. Este polimorfismo se ha asociado con IMC, masa grasa, niveles de leptina y presión arterial (Gotoda T et al, 1997). Más recientemente, se ha relacionado con una tolerancia a la glucosa alterada, DMT2 (Salopuro T et al, 2005) y resistencia a la insulina (Chiu KC et al, 2004).

1.7.2 Genes relacionados con la ingesta energética

- **Gen de la ghrelina (GHRL).** El gen que codifica esta hormona está localizado en la región 3p26-p25, y codifica una proteína de 28 aminoácidos. Ghrelina y obestatina están codificadas por el mismos gen pero diferentes procesos postraducionales generan dos péptidos con funciones opuestas, ya que la obestatina se propuso originalmente para contrarrestar los efectos de la ghrelina sobre la ingesta alimentaria (Zhang JV et al, 2005). Diversos SNPs del gen de la ghrelina se han asociado con fenotipos relacionados con la obesidad (Hinney A et al, 2002; Ukkola O et al, 2002; Miraglia DG et al, 2004; Steinle NI et al, 2005), pero no todos los estudios han mostrado resultados positivos (Hinney A et al, 2002; Wang HJ et al, 2004). Entre ellos, el rs4684677 localizado en el exón 4 produce un cambio de aminoácido, de glutamina a leucina. Este variación en el gen se ha relacionado con obesidad en una cohorte de familias obesas francesas, pero esta asociación no fue replicada en un estudio de cohorte alemana con obesidad extrema (Gueorguiev M et al, 2009).

- **Gen del receptor de la ghrelina (GHSR).** El receptor de la ghrelina junto con su ligando suponen un mecanismo hormonal estimulante del apetito en la regulación de la ingesta y la homeostasis energética, desempeñando así un papel crítico en la patogénesis de la obesidad y complicaciones asociadas a la misma (Tschöp M et al, 2000; Tschöp M et al, 2001; Cummings DE et al, 2002; Shuto Y et al, 2002; Holst B et al, 2003; Marzullo P et al, 2004; Baessler A et al, 2005). Tanto la ghrelina como su receptor se encuentran ampliamente distribuidos en tejidos centrales y periféricos, incluidos tejidos cardiovasculares (Muccioli G et al, 1998; Bodart V et al, 1999; Papotti M et al, 2000; Nagaya N et al, 2001; Gnanapavan S et al, 2002). Estos resultados sugieren que la ghrelina podría tener efectos directos sobre la regulación cardiovascular y la lesión aterosclerótica mediada por su receptor. En este sentido, una haplotipo del gen GHSR se ha asociado con el riesgo de infarto de miocardio (Baessler A et al, 2007). Además, diversos estudios han investigado la asociación entre diferentes SNP en el GHSR y aspectos relacionados con la obesidad (Ukkola O et al, 2001; Ukkola O et al, 2002; Hinney A et al, 2002; Baessler A et al., 2005; Baessler A et al., 2007). Entre ellos, la variante rs572169, una mutación silenciosa situada en el exón 1, es una de las que ha mostrado relación con obesidad (Baessler A et al., 2005).
- **Gen del péptido YY (PYY).** El péptido YY es una proteína de 36 aminoácidos secretada por las células L de trato gastrointestinal, es conocida como implicación en la regulación del apetito y del gasto energético (Batterham RL et al, 2002; Batterham RL et al, 2003; Doucet E et al, 2008). El producto de este gen puede ser modificado dando a dos isoformas presentes en la circulación PYY₁₋₃₆ y PYY₃₋₃₆, siendo la forma reducida la involucrada en la regulación del apetito. Diferentes estudios indican que el gen PYY contribuye a la susceptibilidad para la obesidad (Cai G et al, 2008), la masa grasa abdominal (Pérusse L et al, 2001) y DMT2 (Torekov SS et al, 2005). La comprensión de los mecanismos por el cual variaciones genéticas alteran los niveles de PYY podrían ayudar a descubrir nuevas vías en el tratamiento de la obesidad. Entre las variantes estudiadas el polimorfismo rs1058046 (Thr72 Arg) ha adquirido gran relevancia. El alelo Arg72 se ha relacionado con intolerancia a la glucosa, DMT2 y mayor IMC en población danesa (Torekov SS et al, 2005), sin embargo, en otros estudios no han encontrado asociación entre este polimorfismo y el IMC o la presión arterial (Lavebratt C et al, 2006; Santoro N et al, 2008).

- **Gen del receptor 4 de la melanocortina (MC4R).** Este gen está ubicado en el cromosoma 18q22 y está implicado en la regulación del apetito y el gasto energético (Tao YX et al, 2005). Se considera un importante gen en la patogénesis de la obesidad puesto que mutaciones raras en el gen se han asociado con la obesidad monogénica en humanos (Vaisse C et al, 2000; Farooqi IS et al, 2000; Clement K et al, 2007). A través de estudios de GWA se ha identificado nuevas variantes del gen MC4R, entre ellas se ha mostrado un potencial efecto del polimorfismo rs17782313 sobre la expresión del gen, resultando en cambios de la conducta alimentaria (Stutzmann F et al, 2009). Esta idea está apoyada por los resultados de Qi y colaboradores que observaron que este polimorfismo se asocia con un mayor consumo de energía total y grasa de la dieta (Qi L et al, 2008).
- **Gen del receptor del sistema cannabinoide (CNR1).** El sistema endocannabinoide está implicado en el control de la ingesta de alimentos, el metabolismo lipídico y la homeostasis de la glucosa (Cota D et al, 2003(b)). Los endocannabinoides derivan de precursores lipídicos y se sintetizan a demanda. Existen dos receptores para este sistema; CB1 y CB2, el CB1 se expresa en diversas áreas cerebrales y tejidos periféricos. El gen que codifica el receptor cannabinoide 1 (CB1) se denomina CNR1, está localizado en el cromosoma 6q14-15. Los endocannabinoides a través del receptor CB1 regulan el balance energético y la composición de la grasa corporal. Alteraciones en la actividad del sistema endocannabinoide se prevé que contribuye a la patogénesis de la obesidad y a los riesgos cardiometabólicos asociados (Engeli S et al, 2005; Blüher M et al, 2006; Cote M et al, 2007; Di Marzo V, 2008; Di Marzo V et al, 2009). Por ello, se han encontrado relación entre polimorfismos en CNR1 y la obesidad en adultos de diversas poblaciones (Gazzerro P et al, 2007; Peeters A et al, 2007; Russo P et al, 2007; Müller TD et al, 2007). Entre otros, el rs806381 se ha asociado con mayor IMC en individuos obesos en poblaciones suizas y danesas, además se ha identificado el rs6454674 fuertemente relacionado con IMC (Benzinou M et al, 2008).
- **Gen del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF).** El factor neurotrófico del cerebro desempeña un papel esencial en el desarrollo y diferenciación de las neuronas. También se ha demostrado su papel en la regulación del peso y en el desarrollo de trastornos del comportamiento (ansiedad, hiperactividad y comportamientos agresivos). La participación del BDNF en el desarrollo de trastornos en la alimentación y obesidad se ha constatado en varios estudios (Ribases M et al, 2004; El-Gharbawy AH et al, 2006; Gray J et al, 2006). El gen del BDNF en humanos se encuentra localizado en el cromosoma 11p14.1. Recientemente se ha identificado el polimorfismo rs925946, situado a 9240 pb del gen BDNF, mostrando asociación con el IMC (Bauer F et al, 2009).

- **Gen del receptor del neuropéptido Y2 (NPY2R).** El NPY juega un papel fundamental en la homeostasis de la energía estimulando el apetito (Bell CG et al, 2005). El efecto del NPY está mediado a través de la acción sobre sus receptores (NPY1R, NPY2R, NPY5R), encargados de transmitir el estímulo generador del apetito del NPY (Inui A, 1999; Sainsbury A et al, 2002). Estos receptores se encuentran en el núcleo arcuato y paraventricular del hipotálamo. Las variaciones en los genes que codifican para estos receptores pueden influir en la ingesta de energía, provocando una susceptibilidad a la obesidad y al desarrollo de DMT2 (Elbers CC et al, 2007). En el gen del NPY2R se han identificado 4 polimorfismos (rs2342675, rs6857715, rs1047214, rs2880415) con una marginal asociación con la obesidad (Ma L et al, 2005). Recientemente, en un estudio de GWA, se ha identificado el polimorfismo rs2880411, el cual ha mostrado asociación con el IMC y la circunferencia de la cintura (Fox CS et al, 2007(a)).

1.7.3 Genes relacionados con la diabetes

- **Genes de la subunidad del canal de potasio dependiente de ATP (KCNJ11 y ABCC8).** Los canales de potasio dependientes de ATP son un complejo heterooctámero que comprende 4 subunidades del canal rectificador interno de potasio (Kir6.2), codificado por KCNJ11, acopladas a 4 subunidades del receptor de sulfonilureas (SUR1), codificado por el gen ABCC8 (Aguilar-Bryan L et al, 1999). Ambos genes residen adyacentes uno al lado del otro en el cromosoma 11. El cambio de aminoácido de glutamato a lisina en el codón 23 del gen KCNJ11 (E23K; rs5219) está relacionado con diabetes gestacional y DMT2 (Hani EH et al, 1998; Schwanstecher C et al, 2002; Gloyn AL et al, 2003; Nielsen EM et al, 2003; Shaat N et al, 2005; Florez JC et al, 2007; Sakamoto Y et al, 2007; Doi Y et al, 2007). El alelo K23 esta asociado con mayor riesgo de DMT2 (Nielsen EM et al, 2003; Sakamoto Y et al, 2007). El alelo de riesgo *in vitro* de este SNP afecta a las propiedades del canal de potasio, induciendo una espontánea hiperactividad de las células β pancreáticas mediante el aumento del umbral de concentración de ATP para la liberación de insulina (Schwanstecher C et al, 2002; Riedel MJ et al, 2005). Este polimorfismo rs5219 (E23K) presenta un fuerte desequilibrio de ligamiento con una serie de polimorfismos incluido el rs757110 (S1369A) situado en el gen ABCC8, indicando la posibilidad de que otras variantes pueden contribuir a la asociación con DMT2 (Florez JC et al, 2004; Koster JC et al, 2005).

- **Gen del ecto-nucleótido pirofosfatasa/fosfodiesterasa 1 (ENPP1).** El gen ENPP1 codifica una glicoproteína de membrana de clase 2 que regula la señalización de la insulina en las células inhibiendo la actividad del receptor tirosin-quinasa de la insulina (Maddux B et al, 2000). Dentro de la región codificante del ENPP1, el polimorfismo rs1044498 (K121Q) se ha asociado en algunos estudios con resistencia a la insulina y anormalidades relacionadas (Pizzuti A et al, 1999; Abate N et al, 2005; Bacci S et al, 2005; Meyre D et al, 2005; Bochenski J et al, 2006; Meyre D et al, 2007). La variante 121Q (alelo de riesgo) se une al receptor de insulina tirosina quinasa, con mayor afinidad que su alelo salvaje 121K, disminuyendo la función del receptor de la insulina (Costanzo B et al, 2001). En un estudio multicéntrico, la variante 121Q se asoció con mayor riesgo de desarrollar DMT2 e IAM, comparado con el alelo 121K (Bacci S et al, 2005). Este mismo alelo en un metanálisis reciente, también se ha asociado con mayor riesgo de DMT2, el cual fue modulado por el IMC (McAteer JB et al, 2008).
- **Gen de la tetraspanina (TSPAN8).** Este gen codifica para una glicoproteína de la superficie celular conocida por formar complejos con las integrinas en la regulación de la motilidad celular en líneas celulares de cáncer (Gesierich S et al, 2005). Se ha demostrado que la unión de la integrina-6 a la laminina afecta negativamente a las células pancreáticas (Kilkenny DM et al, 2008), por tanto, es posible que variaciones en TSPAN8 influyan en la función de las células pancreáticas (Graup N et al, 2008). En la región cercana a este gen se ha identificado el polimorfismo rs7961581. En un reciente metanálisis se ha mostrado la asociación entre esta variante con DMT2 (Zeggini E et al, 2008).

1.7.4 Genes relacionados con metabolismo lipídico

- **Gen de la translocasa de ácidos grasos (CD36).** El CD36 es una glicoproteína integral de membrana con una variedad de funciones en el transporte de lípidos, regulación inmunitaria, hemostasia, transducción de la señal, adhesión, angiogénesis y aterosclerosis (Greenwalt DE et al, 1992; Silverstein RL et al, 2000; Nicholson AC et al, 2004). La proteína facilita el transporte a través de la membrana de ácidos grasos de cadena larga en el músculo y el tejido adiposo. En humanos, el gen CD36 está localizado en el cromosoma 7q11.2, y está codificado por 15 exones. Variaciones en el CD36 esta asociado con DMT2, síndrome metabólico y aumento de las concentraciones en suero de triglicéridos y ácidos grasos (Ma X et al, 2004; Corpeleijn E et al, 2006; Love-Gregory L et al, 2008). Se han examinado diferentes marcadores polimórficos que abarcan todo el gen CD36, encontrándose relación entre los polimorfismos 5 polimorfismos y los niveles

de ácidos grasos, entre ellos destaca el situado en la región del promotor rs1761667 (-31118 G>A) (Ma X et al, 2004). En este mismo estudio se identificó una nueva variante el rs2151916 (-22674 T>C) también asociada con el incremento de ácidos grasos circulantes (Ma X et al, 2004).

- **Gen del factor de transcripción MLXIPL (MLXIPL).** MLXIPL es un factor de transcripción con un papel fundamental en la utilización de la glucosa y el almacenamiento de energía (Uyeda K et al, 2006; Ma L et al, 2006). El flujo de glucosa en los hepatocitos conduce a la traslocación del MLXIPL al núcleo, allí dimeriza con MLX e incrementa la transcripción de genes implicados en la glucólisis, la lipogénesis, síntesis de triglicéridos y secreción de LDL. El gen del MLXIPL se encuentra ubicado en el cromosoma 7q11. Entre las diferentes variantes estudiadas en el gen MLXIPL, la asociación más importante se ha observado con el polimorfismo rs3812316 (Gln241His), ya que el alelo C se asocia con una mayor concentración en los niveles de triglicéridos, sugiriendo una alteración en la función del MLXIPL (Kooner JS et al, 2008). Aunque todavía se requieren estudios para poder identificar la variante causal, el hallazgo de la asociación entre este polimorfismo del MLXIPL con los niveles de triglicéridos son muy indicativos (Kooner JS et al, 2008). También se ha identificado el polimorfismo rs17145738, situado en una región intergénica cercana al gen MLXIPL y del gen TBL2, con niveles alterados de triglicéridos (Wang J et al, 2008) y con c-HDL (Kathiresan S et al, 2008).
- **Gen de la proteína 6 de mantenimiento de minicromosomas (MCM6).** El gen MCM6 se encuentra situado a -13910 pb del gen de la lactasa (Corella D et al, 2010). Diversos estudios han demostrado que el polimorfismo rs4988235 situado en el intrón 13 del gen MCM6 se relaciona con cambios en la expresión del gen de la lactasa (Enattah NS et al, 2002; Olds LC et al, 2003; Lewinsky RH et al, 2005), asociando este polimorfismo con la persistencia a la lactasa (Enattah NS et al, 2002). Recientemente, se ha asociado este mismo polimorfismo con el incremento de IMC entre los portadores el alelo responsable de la persistencia a la lactasa (Kettunen J et al, 2010, Corella D et al, 2010). Otros estudios han investigado polimorfismos situados en las proximidades del gen de la lactasa para analizar estas mismas asociaciones (Poulter M et al, 2003). En el presente trabajo se seleccionó el polimorfismo rs3754686 del gen MCM6 para estudiar su posible influencia en la obesidad y otros factores relacionados.
- **Gen del receptor nuclear subfamilia 1, grupo H, miembro 3 (NR1H3).** El gen NR1H3 pertenece a una subfamilia de genes que codifican para los receptores X del hígado (LXRs). El NR1H3 codifica para el tipo α (LXR- α), mientras que el NR1H2 codifica para el tipo β (LXR- β) (Janowski BA et al, 1996). El LXR-

α se encuentra altamente expresado en los tejidos metabólicamente activos como el hígado, el tejido adiposo, el intestino y los macrófagos, mientras que el LXR- β se encuentra de manera ubicua (Kalaany NY et al, 2006). Ambos, LXR- α y LXR- β , modulan la transcripción de genes que influyen en el metabolismo de los lípidos y la glucosa (Steffensen KR et al, 2004). El gen NR1H3 se encuentra localizado en el cromosoma 11p11.2 (Zhao C et al, 2010). Un reciente estudio de GWA ha detectado una asociación entre el polimorfismo rs7120118 situado en el gen NR1H3 con los niveles de c-HDL, sin detectarse todavía esta asociación en otros estudios independientes (Kang HM et al, 2010).

1.8 Interacciones gen*gen

El número de genes identificados que están implicados en la regulación del peso corporal, mediante el control del apetito, el gasto energético y la adiposidad está en creciente aumento. Sin embargo, a pesar de que se han descrito múltiples variaciones en un solo gen asociadas con la obesidad, en la mayoría de los casos el riesgo de obesidad, así como de otros factores de riesgo cardiovascular, no está determinado por un único genotipo específico, sino que requiere la presencia en un individuo de una combinación precisa de varios alelos de genes distintos, al tratarse de patologías relacionadas con un origen poligénico. Además, la presencia de una combinación de determinados alelos puede producir que se establezcan interacciones gen*gen que influyan en la aparición o no de la enfermedad (Navarro-López F et al, 2002).

El efecto de la interacción depende de genotipos específicos presentes en distintos genes o regiones génicas. Las interacciones gen*gen en la herencia poligénica pueden ser simplemente aditivas o mucho más complicadas. De este modo, los genotipos pueden ejercer una amplificación sinérgica de la susceptibilidad en múltiples *loci*, o el efecto de un genotipo sobre un *locus* puede ser amortiguado por genotipos en otros *loci*. Por ello, se ha sugerido que una fracción importante de la biología subyacente de la obesidad, como de otros factores de riesgo cardiovascular, sigue siendo desconocida, por lo que se requieren estudios que esclarezcan las redes específicas de las proteínas involucradas en las interacciones gen*gen (Warden CH et al, 2004). Sin embargo, la dificultad en la detección de interacciones gen-gen es un problema común en estudios epidemiológicos (Yang W et al, 2007).

En la actualidad, diversos estudios confirman la existencia de ciertas interacciones génicas relacionadas con la obesidad. Entre ellos, se ha observado una significativa interacción gen-gen entre polimorfismos situados en el promotor

de ADIPOQ (-3971 A/G) y en ADIPOR1 (-3882 T/C), donde los individuos que portaban el alelo G para el polimorfismo de gen ADIPOQ y, su vez, eran homocigotos CC para el SNP de ADIPOR1 presentaban mayor cociente respiratorio y mayor adiposidad, tanto general como abdominal, que los individuos que presentaban otra combinación de genotipos en ambos polimorfismos (Loos RJ, et al, 2007).

Otra interacción gen*gen se ha observado entre el gen de la ghrelina y su receptor. Se ha identificado que un haplotipo concreto en el gen del receptor de la ghrelina asociado con un incremento del riesgo de IAM puede disminuir su efecto al coincidir con otro haplotipo característico del gen de la ghrelina. Estos datos sugieren la interacción de ambos haplotipos en la susceptibilidad de IAM (Baessler A et al, 2007).

Además, entre regiones cromosómicas se han detectado interacciones susceptibles para el desarrollo de la obesidad, como las regiones cromosómicas 2p25-p24 y 13q13-21, la región 20q y el centrómero del cromosoma 10, y el gen del TBC1D1, una proteína con un dominio que puede actuar como activador de GTPasa, con la región 4q34-q35 (Dong C et al, 2003; Dong CH et al, 2005; Stone S et al, 2006).

A pesar de la conocida contribución de estas interacciones en las bases biológicas de la obesidad, se necesitan más estudios que identifiquen la interacción entre genes relacionados tanto con esta patología como con el desarrollo de otros factores de riesgo cardiovascular, así como los mecanismos específicos que se ocasionan. Sin embargo, en la mayoría de los sujetos con obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular se establece una red compleja de interacciones, ya no sólo entre genes, sino también con distintas conductas y patrones ambientales que influyen modulando la acción de genes involucrados en el desarrollo de las mismas.

1.9 Interacciones gen*ambiente

El rápido incremento de la prevalencia de la obesidad en las últimas décadas no puede atribuirse solamente a modificaciones en el genoma, por lo que los cambios producidos en nuestro entorno, con la consecuente adquisición de nuevos estilos de vida han tenido un claro impacto en el desarrollo de esta patología. Existe una relación sinérgica entre los genes y el ambiente. Nuestra carga genética ha evolucionado tras soportar periodos de resistencia energética, sin embargo, el ambiente obesogénico latente en la mayoría de los países industrializados, caracterizado por un exceso de ingesta de calorías y pobre gasto energético, ejerce

un papel desencadenante en el aumento de la prevalencia de la obesidad. La interacción gen*ambiente indica la respuesta fenotípica de un individuo con un genotipo concreto influido por un entorno ambiental determinado (Talmud PJ et al, 2004). Por ello, la obesidad es considerada como un fenotipo complejo, que surge como resultados de interacciones entre múltiples genes, así como por la influencia de factores conductuales y ambientales (Dancott CM et al, 2003) (Figura 1.15.).

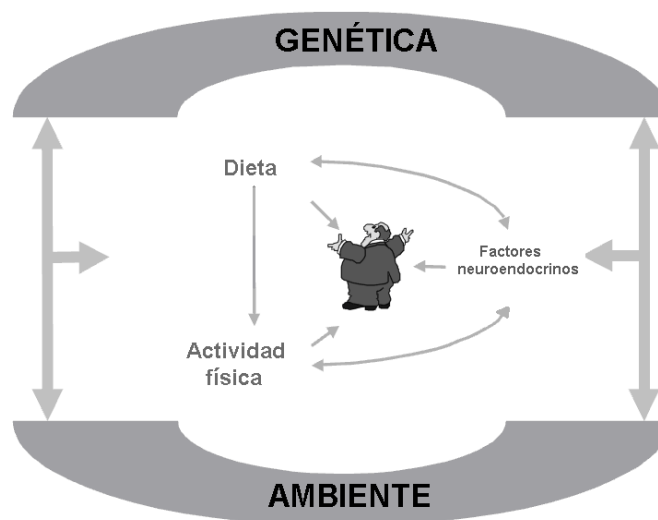


Figura 1.15. Representación esquemática de la interacción gen*ambiente en la obesidad (Martí A et al, 2004)

Los estudios genéticos sobre interacciones de un SNP o un haplotipo con los factores ambientales, principalmente en el papel de las características dietéticas y la actividad física, constituyen un nuevo reto para establecer la investigación de la etiopatogenia de la obesidad (Martí A et al, 2004), así como de otros factores de riesgo cardiovascular.

Por ello, el desarrollo de investigaciones que evalúen la implicación de factores genéticos y estilos de vida en el desarrollo de la obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular, así como las interacciones que se producen entre ambos, adquieren suma relevancia para la adquisición de medidas preventivas en el desarrollo de la epidemiología global de la obesidad (Ravussin E et al, 2000; Comuzzie AG, 2002; Shuldiner AR et al, 2003).

1.9.1 Interacción gen*actividad física

La realización de actividad física es un factor determinante en el metabolismo energético debido al gasto que se produce en la contracción muscular. Sin embargo, una conducta sedentaria puede alterar la expresión del genotipo ahorrador, seleccionado durante la evolución del genoma humano, ligados a un estilo de vida con una alta actividad física necesaria para la supervivencia (Yang W et al, 2007). Por ello, la inactividad física ha dado lugar a una discordancia en las interacciones entre el genotipo evolucionado y el ambiente actual, culminando con el desarrollo de enfermedades crónicas, entre ellas la obesidad (Chakravarthy MV et al, 2004).

El estudio de las interacciones entre genes y actividad física ha generado gran interés en la investigación de diversas patologías (Ordovas JM, 2009(b)). En el estudio realizado por Stefan y colaboradores mostraron que los individuos homocigotos GG para el polimorfismo -8503 del gen ADIPOR1 tras aumentar la actividad física e intervención dietética presentaban menor contenido de lípidos hepáticos respecto de los sujetos portadores de alelo A (Stefan N et al, 2005).

En esta línea, en un reciente estudio de intervención con actividad física en el que se analizó el efecto de los polimorfismos rs7799039 del gen LEP y el rs1137101 del gen RLEP, detectaron un descenso en el IMC tras 5 y 8 semanas de entrenamiento en los 3 genotipos del rs7799039 del gen LEP, donde los individuos con el genotipo GG mostraron mayor susceptibilidad en la disminución del IMC. Sin embargo, respecto al polimorfismo rs1137101 del gen RLEP no detectaron diferencias según el genotipo (Huuskonen A et al, 2010).

Paralelamente, los resultados del Finish Diabetes Prevention Study mostraron que el polimorfismo Leu72Met en el gen GHRL modula el efecto de la actividad física en los valores antropométricos, ya que los portadores del alelo Met72 disminuyen más de peso y el perímetro de la cintura al realizar moderado o alto nivel de actividad física, mientras que los homocigotos Leu72 no responden a los cambios en el nivel de actividad física. En el mismo estudio, la concentración de c-HDL aumento en sujetos homocigotos AA para el polimorfismo -501 A/C (rs26802) al incrementar el nivel de actividad física, pero este efecto no se observó entre los portadores del alelo C (Kilpeläinen TO et al, 2008).

Paralelamente, para el gen ABCC8 se ha indicado que los homocigotos GG para el polimorfismo rs3758947 con menor nivel de actividad física presentan mayor riesgo de DMT2 comparado con los que realizan mayor actividad, mientras que esta modulación no se observó en los individuos portadores del alelo A (Kilpeläinen TO et al, 2007).

Aunque la investigación en la relación entre la genética molecular y la actividad física así como la integración de estos resultados en los beneficios de la salud se encuentran en estadio temprano, ya se han reconocido alelos de distintos genes que desempeñan un papel importante en el beneficio del ejercicio regular (Rankinen T et al, 2008). Por ello, es importante el desarrollo de estudios genéticos que evalúen la diferencia individual en respuesta a la actividad física.

1.9.2 Interacción gen*tabaquismo

El tabaquismo afecta a gran variedad de aspectos relacionados con el estrés del adipocito, entre los que se encuentran el estrés oxidativo, disfunción endotelial e inflamación (Noma K et al, 2005), así como la resistencia a la insulina y la intolerancia a la glucosa (Facchini FS et al, 1992).

Los genes estudiados en las interacciones génicas con tabaco codifican para proteínas implicadas en gran variedad de vías metabólicas que están relacionadas con el metabolismo de sustancias tóxicas, las involucradas en parámetros lipídicos que se sabe que son alterados por el tabaco y otras que intervienen en actividades metabólicas menos ligadas al tabaquismo (Lee CR et al, 2006; Saijo Y et al, 2007; Jang Y et al, 2007; Stephens JW et al, 2008). Además, el avance en los estudios de GWA han permitido la identificación de regiones cromosómicas de interés en la interacción con tabaquismo (North KE et al, 2007), dentro de las cuales no se han reconocido todavía los genes candidatos (Ordovas JM, 2009(b)).

Los investigadores del estudio San Antonio Family Heart mostraron una interacción entre una región específica QTL ubicada en el cromosoma 8 y el tabaquismo, demostrando un efecto diferencial de este locus sobre la expresión de leptina en fumadores y en no fumadores (Martin LJ et al, 2002). Posteriormente, se observó la misma interacción en población caucásica, lo que sugiere que un gen o conjunto de genes situados en una región QTL ubicada en el cromosoma 8 influye en la variación de los niveles de leptina modulado según el hábito tabáquico (Martin LJ et al, 2003).

En esta línea, en el estudio realizado por Mattevi VS et al (2002) en población brasileña de descendencia europea detectaron que la asociación entre el polimorfismo rs1137101 (Q223R) del gen RLEP y el IMC se mostraba de manera más influyente en individuos no fumadores que en el total de la muestra estudiada.

Por ello, la identificación de interacciones gen*tabaco pueden colaborar en el conocimiento de mecanismos fisiológicos relevantes, sin embargo los estudios de investigación con tabaquismo se ven limitados dado que la recomendación de salud

pública de dejar de fumar debe hacerse a todas las personas, independientemente del genotipo que presente y del resultado que pueda mostrar la interacción con tabaco (Ordovas JM, 2009(b)).

1.9.3 Interacción gen*dieta

El riesgo de incremento excesivo de peso puede ser prevenido mediante una intervención dietética temprana (Yang W et al, 2007). Sin embargo, se ha demostrado que existen diferencias entre individuos en la respuesta fenotípica a la intervención dietética (Pérusse L et al, 2000). Algunas personas parecen ser relativamente insensibles a la intervención dietética, mientras que otros son altamente sensibles (Beynen AC et al, 1987; Hopkins PN, 1992). Esta variabilidad en la respuesta al tratamiento dietético pone de manifiesto el componente genético en la modulación de la respuesta fenotípica. Esta interacción gen*dieta se produce cuando al modificar la cantidad o composición de los alimentos ingeridos podemos regular el riesgo de enfermedad conferido por una mayor susceptibilidad genética (Ordovás JM et al, 2004). Por tanto, la susceptibilidad genética está influida por el tipo de dieta del individuo, así los individuos con una variación genética concreta pueden presentar un fenotipo sano o enfermo dependiendo de la dieta consumida.

El estudio de la interacción entre genes y nutrientes conduce al desarrollo de nuevas estrategias para la investigación de la etiología de la obesidad y otras enfermedades. Así, para el abordaje de esta área de conocimiento surgió una nueva disciplina, la genómica nutricional, en la cual se realiza el estudio conjunto de la nutrición y el genoma (Corella D et al, 2005; Gallou-Kabani C et al, 2007). Dentro de esta nueva disciplina surgió inicialmente el concepto de nutrigenética denominado por Brenan RO en 1975 (Brenan RO, 1975), posteriormente, en 1999, DellaPenna utilizó el término nutrigenómica (DellaPenna D, 1999), bajo este término describe la disciplina dedicada a la intersección entre el área de la bioquímica de las plantas, la genómica y la nutrición para poder mejorar la salud humana (Ordovas JM, 2009(a)). Aunque ambos conceptos están íntimamente relacionados, tienen un enfoque diferente para entender la relación entre genes y dieta (Figura 1.16.).

La **Nutrigemónica**, más general, se centra en el estudio de los mecanismos moleculares y celulares que explican la distinta respuesta fenotípica a la dieta de cada individuo en función de las variaciones en el genoma (genotipo). Así, estudia la interacción entre nutrientes y la expresión génica, la caracterización de nuevas proteínas, sus funciones fisiológicas, así como de sus interacciones con las diferentes concentraciones de nutrientes y de las respuestas específicas a nivel celular y sistémico. La Nutrigenómica incluye la Metabolómica y Biología de

Sistemas, la Proteómica, la Genómica comparada, y la Transcriptómica. También, esta ciencia combina distintas tecnologías de la biología molecular, genómica funcional, bioinformática, epidemiología, bioquímica y de la nutrición (Palou A et al, 2004(b)).

La **Nutrigenética**, más específica, estudia la distinta respuesta de los individuos a la dieta en función del genotipo (Ordovas JM et al, 2004(a)). Incluye la identificación y caracterización de variantes genéticas que se relacionen con una respuesta diferente a los componentes de la dieta o a la terapia nutricional para los fenotipos de interés (Ordovas JM et al, 2004(b)). Su objetivo es generar recomendaciones específicas sobre la mejor composición de la dieta tras la identificación de variantes genéticas para el óptimo beneficio de cada individuo. Se ha denominado también como “nutrición personalizada” o “dieta a la carta”.

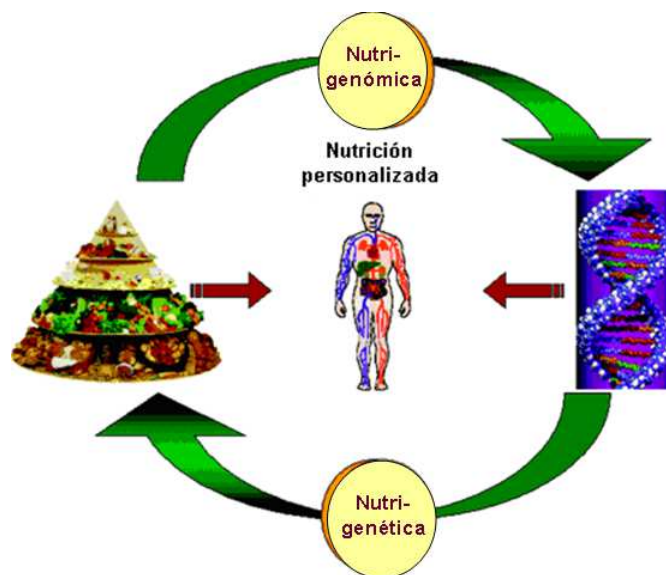


Figura 1.16. Representación del objetivo de estudio de la nutrigenética y la nutrigenómica (Mutch DM et al, 2005).

Por lo tanto, ambas disciplinas tienen como objetivo desentrañar las interacciones gen*dieta, sin embargo, el enfoque y los objetivos inmediatos son distintos (Mutch DM et al, 2005). En la obesidad humana la investigación de las interacciones gen*dieta requiere tanto de estudios de intervención como de estudios epidemiológicos observacionales. En el caso de la modulación genética de los efectos de la Dieta Mediterránea, actualmente, la mayoría de estudios tiene un

tamaño muestral pequeño (Ordovas JM et al, 2007), sin embargo, se están desarrollando estudios de intervención que proporcionarán información clave a este respecto (Buttriss J et al, 2005, Vincent-Baudry S et al, 2005, Estruch R et al, 2006). La mayor parte de las investigaciones de intervención se han centrado en genes candidatos ya conocidos, sin embargo, todavía en la literatura científica no se han publicado resultados de interacciones con los nuevos *loci* identificados en los estudios de GWA (Ordovas JM, 2009(a)).

Entre los distintos estudios de interacciones gen*dieta descritos en genes relacionados con la obesidad podemos destacar los descritos en el gen de la adiponectina. Se ha observado que el consumo de ácidos grasos monoinsaturados modula la asociación entre el polimorfismo rs17300539 (-11391) G>A con el IMC y el riesgo de obesidad, ya que los individuos que portaban el alelo A y un consumo elevado de ácidos grasos monoinsaturados ($\geq 13\%$ de la ingesta energética) tuvieron menor IMC (Warodomwichit D et al, 2009). En este mismo gen, se ha observado que los individuos homocigotos GG para el polimorfismo rs1501299 (G>T) cuando tienen una dieta baja en fibra muestran significativamente mayores concentraciones de adiponectina comparado con los portadores del alelo T (Ntalla I et al, 2009). En un estudio de intervención con dieta baja en calorías se observó, en este mismo polimorfismo rs1501299, que en individuos homocigotos GG se producía una disminución del índice de resistencia a la insulina y un incremento de la concentración de adiponectina, que no fue observado en los portadores del alelo T (Shin MJ et al, 2006). Más recientemente, en un estudio con población española indican que el genotipo GG del polimorfismo rs2241766 (T>G) y el genotipo TT del rs1501299 (G>T) están asociados con una ganancia de peso tras un seguimiento de 3 años con intervención dietética, pero este efecto parece revertir en el grupo con seguimiento de una dieta tipo mediterránea (Razquin C et al, 2010).

El efecto de polimorfismos descritos en el gen de la leptina también se han observado que pueden estar modulados por la dieta. En este sentido, el estudio de Mammès y colaboradores mostró que el polimorfismo rs7799039 (-2549) G>A, situado en la región promotora del gen LEP, se asocia con las formas más comunes de la obesidad, a su vez, indicó que los portadores de alelo A presentan mayores concentraciones de leptina y menor pérdida de peso siguiendo una dieta baja en grasa (Mammès O et al, 1998).

También se han descrito interacciones con polimorfismos en el gen RLEP. En el caso de la variante Ser343Ser T/C, los portadores del alelo C perdieron más peso en respuesta a una dieta baja en calorías (Mammès O et al, 2001). En otro estudio de las variantes Lys656Asn, los homocigotos para el alelo Lys experimentan una reducción significativa de peso, IMC, masa grasa, circunferencia de la cintura,

presión arterial sistólica y niveles de leptina en comparación con los portadores del alelo Asn tras tres meses de seguimiento de una dieta hipocalórica y un programa de ejercicios (de Luis Roman D et al, 2006).

En el gen GHSR se ha demostrado que el polimorfismo rs9819506 situado en la región del promotor también muestra interacción con la dieta, ya que los individuos portadores del genotipo CC presentan mayor pérdida de peso tras un seguimiento de 3 años con intervención dietética y ejercicio (Mager U et al, 2008).

También se ha observado una interacción gen*dieta con el receptor 1 del sistema cannabinoide, ya que los individuos portadores del alelo A del polimorfismo rs1049353 (G1359A) tras el seguimiento de una dieta baja en calorías perdieron más peso y mostraron una mayor reducción de los niveles de c-LDL que los individuos con el genotipo salvaje (Aberle J et al, 2008).

Los efectos del polimorfismo rs1044498 (K121Q) del gen ENPP1 ha sido analizado en diversos estudios de intervención. Por un lado, en el estudio *Diabetes Prevention Program* al inicio observaron que los individuos QQ presentaban mayor nivel de glucosa y hemoglobina glucosilada, aunque tras un año de intervención con dieta y actividad física, detectaron un menor riesgo a desarrollar diabetes según el genotipo del polimorfismo K121Q (Moore AF et al, 2009). Por otro lado, en el estudio realizado por Müssig F et al (2010) no detectaron diferencias según el genotipo del polimorfismo K121Q con parámetros relacionados con la obesidad o la DMT2. Sin embargo, tras 9 meses con seguimiento de una dieta reducida en grasas saturadas y un incremento de actividad física aeróbica los homocigotos Q presentaron un deterioro en la sensibilidad a la insulina, mientras que los KK incrementaron su sensibilidad.

La proteína CD36 se ha descrito como un receptor putativo de las grasas, involucrado en la percepción del sabor graso propuesto como la modalidad del sexto sabor (Laugerette F et al, 2005), por tanto, variaciones en este gen puede explicar las diferencias en la percepción del sabor graso (Ma X et al, 2004), y por ello determinar las preferencias en el consumo de alimentos. En un estudio de intervención con una dieta baja en calorías se ha observado que tras 6 meses del final de la intervención, los portadores del alelo C para el polimorfismo rs2151916 (-22674 T/C) mostraban menores niveles de CH total, c-LDL y mayores concentraciones de c-HDL (Goyenechea E et al, 2008). También se ha observado una interacción gen*dieta entre una dieta enriquecida con un suplemento de aceite de pescado y el polimorfismo rs1761667 (-31118 G>A), ya que solo los homocigotos GG muestran descenso de los niveles de triglicéridos (Madden J et al, 2008).

El estudio de interacciones gen*dieta contribuye al diseño de estrategias de intervención dietética optimizadas a nivel individual para mejorar la calidad de vida y evitar el desarrollo de enfermedades. El objetivo es llegar al desarrollo de dietas personalizadas basadas en la información genética de cada individuo y la información de otros factores, como el sexo y la obesidad (Ordovas JM, 2008), permitiendo la adaptación de la nutrición o el estilo de vida desde un enfoque personalizado. Sin embargo, todavía no se dispone hoy en día del suficiente nivel de evidencia científica para que los resultados de estos estudios tengan aplicación en la práctica clínica, pero se contempla su aplicación a largo plazo en prevención primaria. Además, en los estudios iniciales se han centrado en variaciones genéticas de un solo nucleótido (SNP), en los últimos años nuevos tipos de variaciones en el ADN, como variaciones en el número de copias son cada vez de mayor interés (Rodríguez-Revenge L et al, 2007).

El impacto de la obesidad y enfermedades relacionadas en la salud pública de la sociedad actual ha propiciado el desarrollo de una intensa investigación vinculada al conocimiento de la etiología de esta patología. Los recientes estudios de GWA han identificado nuevas variantes génicas relacionadas con la obesidad y las enfermedades relacionadas. Sin embargo, es necesario un estudio posterior para dilucidar las interacciones gen-ambiente que modulan los efectos generados por una variación génica en el resultado fenotípico final de un individuo en un determinado entorno. Por ello, es necesario seguir avanzando en el estudio genético de la obesidad y de los factores relacionados con la misma para el conocimiento de nuevas dianas de intervención terapéutica.

2

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1 Hipótesis

La hipótesis conceptual general es la siguiente:

La obesidad, importante problema sanitario que se asocia también a un mayor riesgo de sufrir un evento cardiovascular, es una enfermedad multifactorial en la que son importantes las variaciones en los niveles circulantes de adipocitoquinas y de marcadores de inflamación. Estos factores proinflamatorios son producidos, o sus niveles regulados, por el tejido adiposo, que actúa como un órgano secretor y endocrino de gran complejidad. El patrón de producción de estas adipocitoquinas cambia con la obesidad, disminuyendo las que ejercen efectos protectores, como la adiponectina, y aumentando aquéllas con acciones proinflamatorias. En estas condiciones se favorece el desarrollo del proceso aterosclerótico, que determina la aparición de la enfermedad cardiovascular. En este proceso están implicados diversos factores genéticos y ambientales que interactúan y están potenciados en una población de elevado riesgo cardiovascular. Entre los factores genéticos serán relevantes las variaciones en genes candidatos, y entre los factores ambientales, el tabaquismo, la actividad física y la dieta también influirán en la concentración de estas adipocitoquinas y otros parámetros bioquímicos relacionados.

Esta hipótesis general se aborda a través de los siguientes objetivos concretos:

2.2 Objetivos concretos

1. Estudiar la asociación entre variables sociodemográficas (sexo, edad, nivel de estudios), consumo de tabaco, actividad física y dieta y la obesidad y parámetros relacionados (otras variables antropométricas, concentraciones plasmáticas de lípidos, glucemia) en población mediterránea de elevado riesgo cardiovascular.

2. Conocer la concentración plasmática de adipocitoquinas asociadas con la obesidad y de AGNE en esta población mediterránea y estudiar su asociación con obesidad y factores de riesgo cardiovascular clásicos (concentraciones plasmáticas de lípidos, presión arterial, glucemia, hipertensión, diabetes y dislipemias).
3. Estudiar cómo los factores ambientales tales como el consumo de tabaco, la actividad física y la dieta influyen sobre la concentración plasmática de las adipocitoquinas y de AGNE en esta población mediterránea.
4. Analizar posibles factores genéticos que puedan modular las concentraciones plasmáticas de adipocitoquinas y de AGNE. Entre estos factores genéticos hemos seleccionado los siguientes: polimorfismos situados en genes de adipocitoquinas y sus receptores: el rs17300539, rs17366568, rs1501299, rs2241766 y rs17366743 del gen ADIPOQ, rs6666089 del gen ADIPOR1, rs7799039 del gen LEP y rs1137101 del gen RLEP, polimorfismos en genes relacionados con la ingesta energética: rs4684677 del gen GHRL, rs572169 del gen GHSR, rs1058046 del gen PYY, rs17782313 del gen MC4R, rs806381 y rs6454674 del gen CNR1, rs925946 del gen BDNF y rs2880411 del gen NPY2R, polimorfismos en genes relacionados con la DMT2: rs5219 del gen KCNJ11, rs757110 del gen ABCC8, rs1044498 del gen ENPP1 y rs7961581 del gen TSPAN8/LGR5, y polimorfismos en genes relacionados con el metabolismo lipídico: rs1761667 y rs2151916 del gen CD36, rs3812316 y rs17145738 del gen MLXIPL o región adyacente, rs3754686 del gen MCM6 y rs7120118 del gen NR1H3, así como el estudio del desequilibrio de ligamiento entre polimorfismos ubicados en el mismo gen o en regiones adyacentes y los posibles haplotipos. También pretendemos estudiar con más detalle la secuencia del gen de la adiponectina (ADIPOQ) para buscar nuevos polimorfismos no descritos en las bases de datos y ver si éstos influyen en la determinación de los parámetros analizados.
5. Estudiar la asociación de estos polimorfismos con la concentración de adipocitoquinas y de AGNE, así como su asociación con fenotipos relacionados con la obesidad (peso, IMC y perímetro de la cintura) y con otros factores de riesgo cardiovascular (concentración plasmática de lípidos, glucosa y presión arterial).
6. Estimar el riesgo de obesidad, diabetes, hipercolesterolemia e hipertensión (OR) relacionado con la presencia de cada una de las variantes de susceptibilidad genética.

-
7. Estimar las interacciones gen*gen y las interacciones gen*ambiente entre los polimorfismos y los factores ambientales analizados en la modulación de la asociación con la concentración de adipocitoquinas, AGNE y otros parámetros antropométricos, bioquímicos y clínicos.

3.1 Introducción

El estudio realizado en esta tesis es fruto de un trabajo multidisciplinar para la obtención de las conclusiones generales. Para llevar a cabo esta tesis, la doctoranda ha tenido la oportunidad de participar en todas y cada una de las tareas que forman parte del protocolo de la investigación genómica. A lo largo de seis años se realizó el reclutamiento de voluntarios en diversos centros de salud de la Comunidad Valenciana, se recopiló la información y se realizaron las mediciones necesarias para poder llevar a cabo este estudio. Además, la doctoranda se ha familiarizado con las técnicas de laboratorio incluyendo, desde la extracción de ADN, hasta el análisis de los polimorfismos estudiados mediante distintas técnicas. Además, ha tenido que crear una base de datos para el tratamiento y análisis estadístico de datos, así como trabajar en la realización y presentación de los resultados y redacción de los manuscritos o comunicaciones a congresos que se han realizado con la información que se ha ido obteniendo durante este período de investigación.

En el presente trabajo se realiza un estudio transversal a partir de los participantes del estudio PREDIMED, ensayo multicéntrico de intervención dietética en pacientes de alto riesgo cardiovascular pero libres de eventos cardiovasculares al inicio, reclutados en el nodo de Valencia con el objeto de investigar los efectos de factores ambientales y genéticos sobre los niveles de adipocitoquinas y marcadores de inflamación y sobre el riesgo de obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular. En esta sección se describe en primer lugar el diseño, las características de los participantes y la recopilación de variables ambientales a través de cuestionarios y datos antropométricos. Posteriormente, se indica el material utilizado, los aparatos y los reactivos de laboratorio necesarios para la obtención y determinación de parámetros bioquímicos y genéticos. A continuación se describen los procesos empleados en la extracción y amplificación de ADN, así como del análisis de polimorfismos mediante la técnica de la PCR y el análisis por fluorescencia, y la metodología para la detección de polimorfismos. Finalmente, se abordan los métodos estadísticos esenciales para el análisis de los datos obtenidos en el estudio.

3.2 Estudio PREDIMED

El estudio PREDIMED es un ensayo prospectivo, aleatorizado, multicéntrico, simple ciego y controlado de intervención para proporcionar el máximo nivel de evidencia científica sobre los efectos beneficiosos de una dieta tipo mediterránea en la prevención primaria de enfermedad cardiovascular llevado a cabo en varias comunidades autónomas (Estruch R., et al., 2006). Esta red recibió financiación por el Instituto de Salud Carlos III en el año 2003 (referencia G03/140). El grupo EPIGEM, cuyos integrantes desarrollan labor docente e investigadora en la Facultad de Medicina de Valencia, participa en dicha red desde el denominado nodo de Valencia.

En este estudio se han reclutado pacientes con alto riesgo de sufrir complicaciones vasculares, pero sin evento cardiovascular, a través de centros de atención primaria de 8 Comunidades Autónomas. A estos sujetos reclutados se les ha asignado aleatoriamente a tres grupos; dos de ellos son grupos con una intervención nutricional con Dieta Mediterránea, una suplementada con aceite de oliva virgen extra (AOVE) y otra suplementada con frutos secos (FS), y un tercer grupo (grupo control) recibe intervención de educación nutricional con una dieta tradicional baja en grasa según las recomendaciones de la *American Heart Association* (AHA) (Krauss RM et al, 2000). A todos ellos se les debe seguir durante un periodo de 3 a 5 años para detectar la aparición de complicaciones cardiovasculares mayores y menores. De todos los participantes, tras obtener el consentimiento informado, se recopilan variables demográficas, de dieta y de estilo de vida mediante una serie de cuestionarios estandarizados y se realiza una exploración física, con determinación de la presión arterial y determinación de datos antropométricos (peso, altura, y cintura y cadera, y recogida de muestras biológicas tanto en la visita basal como en las de seguimiento.

Con el objetivo de optimizar protocolos y procesos, validación de instrumentos y herramientas, puesta a punto de técnicas y selección de análisis estadísticos apropiados se realizó un estudio piloto con los primeros 100 participantes de cada nodo a los que se les hizo un seguimiento de 3 meses, para la elaboración de un sistema de gestión que ayudase al buen funcionamiento del proyecto. El estudio piloto comenzó en Junio de 2003 y finalizó en Marzo de 2004. Tras los resultados obtenidos (Estruch R et al, 2006) se prosiguió y completó el reclutamiento hasta Diciembre de 2008.

Aunque el estudio PREDIMED es un estudio prospectivo, en este trabajo se realiza un estudio transversal de las características basales de los participantes reclutados en el nodo de Valencia. En este nodo se han incluido definitivamente 1050 participantes en el estudio.

3.2.1 Selección de participantes

3.2.1.1 Criterios de inclusión

Se incluyen en el estudio todos aquellos hombres entre 55 y 80 años y mujeres entre 60 y 80 años, sin enfermedad cardiovascular documentada (cardiopatía isquémica, angina de pecho o infarto de miocardio reciente o antiguo, accidente vascular cerebral o vasculopatía periférica) y que presenten además:

- **Diabetes Mellitus tipo 2:** Paciente tratado con insulina o hipoglucemiantes orales; glicemia basal > 126 mg/dl, o glicemia casual > 200 mg/dl con síntomas de diabetes o un Test de Tolerancia Oral a la Glucosa con glicemias > 200 mg/dl en dos determinaciones.

o reúnan tres o más de los siguientes factores:

- **Tabaquismo:** Fumadores de más de 1 cigarrillo al día. A efectos de criterio de inclusión en este estudio se consideran como fumadores aquellas personas que hayan dejado de fumar en el último año.
- **Hipertensión arterial:** sujetos con presiones arteriales superiores o iguales a 140/90 mm Hg sin tratamiento o aquéllos que siguen tratamiento hipotensor independientemente de sus cifras tensionales.
- **Hipercolesterolemia:** sujetos con cifras de LDL-colesterol superior a 160 mg/dl sin tratamiento o aquellos que siguen un tratamiento hipolipemiente independientemente de sus cifras de LDL-colesterol.
- **Cifras de c-HDL:** inferiores a 40 mg/dl en hombres o 50 mg/dl en mujeres, con o sin tratamiento hipolipemiente. En caso de c-HDL superior a 60 mg/dl, se resta uno al número total de factores de riesgo vascular
- **Sobrepeso u Obesidad:** Índice de Masa Corporal superior a 25 kg/m².
- **Historia familiar de cardiopatía isquémica precoz:** familiares de primer orden varones menores de 55 años o mujeres menores de 65 años)

Asimismo, el participante debe firmar voluntariamente el impreso de consentimiento informado después de que se le haya explicado la naturaleza del estudio, antes del inicio de cualquier procedimiento relacionado con el mismo.

3.2.1.2 Criterios de exclusión

Se excluyen todos aquellos sujetos que no cumplan con los requisitos del protocolo o que presenten alguno de los siguientes criterios:

- Dificultad para cambiar los hábitos alimentarios
- Baja probabilidad de realizar cambios dietéticos, según el modelo de estados de cambio de Prochaska et al (1983).
- Imposibilidad de seguir una dieta mediterránea controlada (incluidos los motivos religiosos) o de poder masticar o tragar los alimentos (por ejemplo, dificultad para consumir frutos secos)
- Pacientes institucionalizados, que no realicen una vida autónoma o no puedan mantenerse en pie.
- Pacientes sin residencia fija en los últimos años o con imposibilidad de poder atender a los controles semestrales.
- Antecedentes de hipersensibilidad o reacciones alérgicas a algún componente del aceite de oliva o de las nueces.
- Enfermedad médica grave que limite su capacidad de participación en un estudio de intervención dietética (por ejemplo, enfermedades gastrointestinales con intolerancia a las grasas, neurológicas, psiquiátricas, endocrinas descompensadas, tumorales) o que se suponga una esperanza de vida inferior a 1 año. Los pacientes con patología inflamatoria aguda (por ejemplo, neumonía) pueden participar en el estudio transcurrido 3 meses a la curación de su enfermedad.
- Pacientes con un índice de masa corporal superior a 35 kg/m².
- Enfermos inmunodeprimidos o con infección por el VIH.
- Enfermos alcohólicos crónicos o adictos a drogas.
- Pacientes que han recibido fármacos en fase de investigación durante el último año.
- Analfabetismo

Este estudio ha sido aprobado por los Comités de Ética de los Centros participantes y se ha redactado de acuerdo con la Declaración de Helsinki. Concretamente en el caso de Valencia se ha obtenido la aprobación del Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valencia.

3.2.1.3 Retirada del estudio

Todos los participantes tienen derecho a retirarse del estudio en cualquier momento sin que ello les suponga perjuicio alguno. Los investigadores pueden retirar a un sujeto del estudio si considera que es necesario por cualquier motivo, como reacciones adversas o incumplimiento del protocolo.

3.2.2 Reclutamiento de participantes

El reclutamiento de participantes se realiza en Centros de Atención Primaria. Los facultativos de dichos centros, durante la realización de la consulta médica presentan el proyecto PREDIMED a posibles participantes que cumplan con los factores de inclusión establecidos en el protocolo del estudio. Tras el consentimiento de dichos participantes, facilitan los teléfonos de contacto de los participantes reclutados a los investigadores del proyecto PREDIMED. Éstos contactan con ellos para citarles en su propio centro de atención primaria para realizar la visita inicial.

A los participantes que acepten y firmen el consentimiento para participar en el estudio se les asigna un código. Este código se compone de 10 dígitos en el que los dos primeros hacen referencia al nodo reclutador, los dos siguientes al centro de salud en el que está adscrito el participante, los dos siguientes al médico de cabecera del participante, los dos siguientes al número de participante y los dos últimos a la visita correspondiente (Figura 3.1). El código asignado a cada participante se coloca en todos los cuestionarios realizados así como, en todas las muestras biológicas para poder identificarlas.

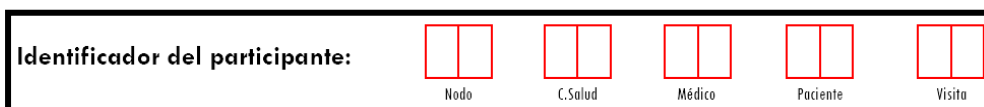


Figura 3.1. Identificador de los participantes incluido en cada cuestionario.

En este trabajo se analizan los datos de la primera visita correspondientes al código 01.

Durante el periodo de reclutamiento, desde Junio de 2003 hasta Diciembre de 2008, se reclutaron 1098 participantes en el nodo de Valencia. De ellos, inicialmente 41 no cumplían los criterios de inclusión, pero finalmente entre éstos 1 participante si se ajustaba a los criterios, 4 no quisieron participar, 1 estaba diagnosticado de esquizofrenia y 3 mostraron imposibilidad para cambiar la dieta. De este modo, se incluyeron definitivamente 1050 participantes en el nodo de Valencia.

En la tabla 3.1. se expone el número de participantes que fueron incluidos definitivamente en el estudio PREDIMED en el nodo de Valencia en cada una de las provincias de la Comunidad Valenciana reclutados a través de distintos centros de salud.

Tabla 3.1. Número de participantes incluidos en el estudio PREDIMED del nodo de Valencia en cada provincia de la Comunidad Valenciana.

Provincias de la Comunidad Valenciana	Número de participantes n (%)
1. Castellón	128 (12,2)
2. Valencia	865 (82,4)
3. Alicante	57 (5,4)

3.2.3 Recopilación de datos de los participantes

La obtención de variables demográficas socio-económicas, de estilo de vida, antropométricas, clínicas, bioquímicas, así como la obtención de muestras biológicas se realiza en el centro de atención primaria.

En el estudio PREDIMED las variables son recogidas de todos los participantes al inicio (basal) y, a continuación, se les realiza un seguimiento una vez al año durante un periodo de 3 a 5 años (prorrogable). En la visita inicial se les asigna aleatoriamente a tres grupos, dos de ellos son grupos con una intervención nutricional con Dieta Mediterránea y un tercer grupo (grupo control) recibe intervención de educación nutricional con una dieta tradicional baja en grasa. Además, los dos grupos de intervención con educación sobre Dieta Mediterránea para facilitar el cumplimiento de las recomendaciones se les proporciona a un grupo aceite de oliva virgen extra (1 litro a la semana para su utilización en el cocinado de alimentos y en su aliño) y el otro grupo recibe frutos secos (correspondientes a una ingesta de 30 g al día de una mezcla de nueces 15 g, almendras 7,5 g y avellanas 7,5 g). A todos ellos se les debe seguir durante un periodo de 3 a 5 años para detectar la aparición de complicaciones cardiovasculares mayores y menores. Durante este periodo se reúnen cada 3 meses para recordarles

las recomendaciones dietéticas que deben seguir, y para realizar, en su caso, reparto de aceite de oliva o frutos secos. En el presente trabajo incluiremos los datos obtenidos a nivel basal previos a la intervención dietética.

El proceso comienza con la citación del participante en el centro de salud para la primera intervención. Tras la firma del consentimiento informado se realiza la extracción de sangre llevada a cabo por una enfermera, y a continuación, se procede a la entrevista con la dietista, en la cual se realizan los cuestionarios pertinentes y las mediciones antropométricas.

3.2.3.1 Recopilación de datos ambientales mediante cuestionarios

La obtención de datos ambientales se realiza mediante cuestionarios para recoger las variables de interés. En el caso de la visita inicial son: cuestionario de inclusión, cuestionario general, cuestionario de frecuencia de consumo alimentario (CFCA), cuestionario de adherencia a la Dieta Mediterránea de 14 puntos y cuestionario de actividad física.

3.2.3.1.1 Cuestionario de inclusión

Este cuestionario se realiza para comprobar si el participante cumple los criterios de inclusión y además, no presenta ningún motivo de exclusión. Así pues, incluye preguntas a partir de las cuales se puede valorar especialmente la capacidad del participante para poder seguir un determinado tipo de dieta como la mediterránea, interés de participación en el estudio, su grado de compromiso y disponibilidad para acudir a las visitas de seguimiento y sesiones de intervención que se le indiquen, así como, si el participante ha sufrido, en el pasado, algún evento cardiovascular. Por otro lado, incluye preguntas relacionadas con todos los factores de inclusión, edad, sexo, DMT2, niveles de colesterol, presión arterial, historia familiar de CI precoz, tabaquismo y sobrepeso u obesidad.

3.2.3.1.2 Cuestionario general

A través de este cuestionario se recogen datos demográficos y socio-económicos de los participantes, tales como, lugar de nacimiento, estado civil, grado de escolarización y situación laboral. También incluye antecedentes familiares de CI, de hipercolesterolemia, de HTA y de cáncer, consumo de alcohol, enfermedades sufridas y medicaciones recibidas, especialmente aspirina, antiinflamatorios, tranquilizantes, vitaminas o minerales, medicamentos para el corazón, antihipertensión, fármacos hipolipemiantes, insulina, antidiabéticos orales, tratamiento hormonal, etc... Por otro lado, introduce dos ítems

relacionados con la última ingesta de aceite de oliva y la última ingesta de bebida alcohólica o vino.

3.2.3.1.3 Cuestionario de frecuencia de consumo alimentario.

Mediante este cuestionario se recopila la frecuencia de consumo de alimentos del participante durante un año. Esta compuesto por 139 preguntas. La frecuencia de consumo va de “nunca o casi nunca” hasta “más de 6 veces al día”. Incluye la frecuencia diaria, semanal o mensual durante el último año de consumo de un listado de alimentos comunes, como productos lácteos, cereales u féculas, verduras y hortalizas, legumbres, huevos, carnes, embutidos, pescados y mariscos, aceites y grasas, *fast food*, alimentos enlatados, frutas, frutos secos, dulces, pastelería y bollería industrial y bebidas no alcohólicas y alcohólicas. Además, añade la toma de vitaminas y/o minerales (incluyendo calcio) o productos dietéticos especiales (salvado, aceite de onagra, leche con ácidos omega-3, flavonoides, etc...) en el último año. Este cuestionario es una adaptación del cuestionario realizado por Martin-Moreno JM et al (1993) y ha sido validado recientemente (Fernández-Ballart J et al, 2010).

Para la obtención del consumo de lácteos, aceite de oliva, carnes rojas, pescados, legumbres, verduras, frutas, repostería comercial, frutos secos y vino como variable continua en número de veces por semana se calculó la frecuencia de consumo de cada alimento a la semana a partir de las 9 variables categóricas del rango de “nunca o casi nunca” hasta “más de 6 veces al día”. Posteriormente, se agrupó la frecuencia de consumo de alimentos que pertenecían al mismo grupo. De esta manera en lácteos se incluyeron la leche entera, semidesnatada y descremada, la nata, crema o batidos de leche, los yogures entero y descremado, requesón o cuajada y los diferentes tipos de queso. En carnes rojas se englobó la ternera, el cordero y el cerdo. Los pescados incluyen tanto el blanco como el azul y el enlatado. En el grupo de verduras se consideraron las acelgas y espinacas, la col, coliflor o brócoli, la lechuga, endivia y escarola, el tomate, la zanahoria y calabaza, las judías verdes, las berenjenas, calabacines y pepinos, pimientos, espárragos, consumo de gazpacho andaluz, otras verduras como alcachofa, puerro, cardo y apio y la cebolla y el ajo. En las frutas se incluyeron todos los tipos de frutas. Dentro de las legumbres se incluyeron las lentejas, las alubias y los garbanzos. En repostería se incluyó todo tipo de bollería, galletas y pasteles. En el grupo del aceite se consideró tanto el de oliva como el de oliva virgen extra. Por último, en el vino se consideraron todos los tipos de vino. Posteriormente, las variables continuas en función de la frecuencia de consumo semanal por grupo de alimentos se agruparon por terciles.

3.2.3.1.4 Cuestionario de adherencia a la Dieta Mediterránea de 14 puntos.

Con este cuestionario se pretende valorar el grado de acercamiento del patrón dietético del participante al de la Dieta Mediterránea. Está formado por 14 ítems de manera que si el participante consigue 14 puntos significa que consume una dieta tipo mediterráneo calificada como óptima. Los diferentes ítems hacen referencia al consumo de aceite de oliva, verduras, hortalizas, frutas, carnes rojas, blancas y embutidos, grasas, bebidas carbonatadas y/o azucaradas, vino, legumbres, pescados y mariscos, repostería comercial, frutos secos, cereales y de condimentos con tomate, ajo, cebolla y hierbas aromáticas. A partir de este cuestionario se realizó un punto de corte en la media del total de puntos detectada en la población total, cuyo valor fue de 9 ± 2 puntos. A partir de este punto se clasificaron a los participantes en aquellos que consumen una dieta con alta adherencia a la DM e individuos con una dieta con baja adherencia a la DM, de modo que aquellos que obtuvieron 9 o más puntos en el cuestionario se incluyeron en el grupo de alta adherencia a la DM. En cambio, los individuos que presentaron una puntuación inferior a 9 puntos se incluyeron en el grupo de baja adherencia a la DM. Este cuestionario es una extensión del cuestionario validado por Martínez-González MA et al (2004).

3.2.3.1.5 Cuestionario de actividad física.

Para la determinación de la realización de actividad física se ha utilizado la adaptación española del Cuestionario de Actividad Física durante el Tiempo Libre de Minnesota (CAFTLM) el cual ha sido validado (Elosua R et al, 1994). El cuestionario utilizado incluye las actividades físicas realizadas en el último mes y en el último año, así como el tiempo de realización de cada una de ellas. Las actividades que se incluyen en este cuestionario se dividen en diferentes grupos: andar, ejercicios de mantenimiento general, actividades acuáticas, actividades de invierno como esquí, deportes, actividades de jardín, reparaciones caseras (bricolaje) y caza y pesca. Cada actividad está perfectamente definida para asegurar una correcta evaluación del ejercicio físico que realiza el paciente. Además, para asegurar la uniformidad de la información recogida se considera que un mes tiene 4 semanas, un año tiene 48 semanas, cada año tiene 240 días laborables, un mes tiene 22 días laborables, un año tiene 100 días de fin de semana. Por otro lado, se ha establecido un tiempo estandarizado para las siguientes actividades: subir escaleras, cada piso = 1/2 minuto, una partida de billar = 10 minutos, un set de tenis individual = 20 minutos, un set de tenis dobles = 15 minutos, golf 9 hoyos = 90 minutos.

Con los datos obtenidos en este cuestionario se pudo clasificar a los participantes en sedentarios y no sedentarios. Para llevar a cabo esta clasificación se utilizaron las recomendaciones realizadas por la *American College of Sport Medicine* y la *American Heart Association* (AHA) para mayores de 65 años o para adultos entre 50

y 64 años con condiciones crónicas clínicamente relevantes (Nelson ME et al, 2007). Estas recomendaciones consideran que se mejora o mantiene la salud cuando se realiza actividad aeróbica de intensidad moderada durante al menos 30 minutos y 5 días a la semana o actividad de intensidad alta durante 20 minutos, 3 días a la semana, sin incluir las tareas domésticas cotidianas. Al tratarse de individuos con avanzada edad en las actividades de moderada intensidad se incluyen actividades como pasear o caminar deprisa, ejercicio en casa y, son consideradas actividades de alta intensidad ejercicios como nadar, trotar, aeróbic, aquagym, andar campo a través, cavar en el huerto, ir en bicicleta (Nelson ME et al, 2007).

3.2.3.2 Recopilación de datos antropométricos

En el cuestionario que recoge la información general hay una parte que está dedicada a la exploración física en la que se recogen datos antropométricos tales como, peso, altura, cintura y cadera, además de la presión arterial sistólica, la diastólica y la frecuencia cardíaca. A continuación se explica el protocolo para realizar estas medidas

3.2.3.2.1 Medición de la talla

La medición de la talla se realiza con un tallímetro estándar, preferiblemente de brazo móvil. Se descalza previamente al participante, y debe quitarse su chaqueta. Los participantes deben estar en una superficie firme y lisa. Se coloca de espaldas al tallímetro, apoyando los talones, nalgas y brazos al mismo. La cabeza debe estar en el plano horizontal y con los pies/tobillos juntos. Se desplaza el brazo móvil del tallímetro hasta que se apoye sobre la superficie de la cabeza, formando un ángulo recto con el brazo móvil del tallímetro. Los valores se expresarán en centímetros, redondeando a 1 cm.

3.2.3.2.2 Medición del peso

Se utiliza una báscula calibrada previamente, que debe estar colocada en una superficie firme y lisa. El participante se sitúa en el centro de la misma y debe vestir ropa ligera sin peso superfluo, sin zapatos, chaquetas o abrigos. El peso se expresa en Kg con un decimal, redondeando al valor de 100 gramos.

3.2.3.2.3 Medición del perímetro de la cintura

Se utiliza una cinta métrica flexible. El participante se coloca en bipedestación y mantiene la cabeza recta, con los brazos a ambos lados del cuerpo. Se mide el

perímetro abdominal en espiración en el punto intermedio de la línea trazada entre la última costilla y la cresta ilíaca. Se asegura que la cinta está al mismo nivel por delante y por detrás. Se anota en escala de 0.1 cm.

3.2.3.2.4 Obtención de Índice de Masa Corporal

El Índice de Masa Corporal (IMC) es calculado utilizando la fórmula:

$$\text{IMC (Kg/m}^2\text{)} = \text{peso (Kg)} / (\text{talla(m)})^2$$

Se considera un individuo con sobrepeso con $\text{IMC} \geq 25 \text{ Kg/m}^2$ y obeso con $\text{IMC} \geq 30 \text{ Kg/m}^2$.

3.2.3.2.5 Medición de la presión arterial

Los participantes permanecen en una silla con la espalda y brazos apoyados en una situación que permita que el brazal se halle a la altura del corazón. Se les pide que eviten fumar o tomar cafeína durante los 30 minutos previos a la determinación de la presión arterial. Se inicia tras al menos 5 minutos de reposo. La cámara del manguito debe rodear como mínimo al 80% del brazo. Las determinaciones de la presión arterial se toman con un esfigmomanómetro automático (Omron 705 IT Intelli sense, Susaka Co. LTD, Japón). Se promedian 2 o más lecturas separadas por 2 minutos. Si las dos primeras difieren más de 5 mmHg se obtienen y promedian lecturas adicionales. Se considera HTA presiones arteriales superiores o iguales a 140/90 mm Hg.

3.3 Determinaciones bioquímicas a partir de muestras biológicas

Junto con los datos ambientales y antropométricos, se procede a la obtención de muestras biológicas para la posterior determinación de parámetros bioquímicos generales y para la realización de pruebas específicas relacionadas con el desarrollo de la obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular, así como para la extracción de ADN y posterior realización del análisis genético.

Para la obtención de muestras biológicas y posterior determinación de parámetros bioquímicos y estudio genético se precisa de una serie de aparatos, equipos y reactivos proporcionados por las casas comerciales dedicadas al área de la biología molecular. A continuación se indican los utilizados para el desarrollo experimental de este trabajo.

3.3.1 Casas comerciales

Amersham International, Amersham, Bucks, Reino Unido.

Applied Biosystems, Foster City, CA, Estados Unidos.

BlueMarine, Serva Electrophoresis, Heidelberg, Alemania.

Bio-Rad Laboratories, Richmond, CA, Estados Unidos.

Boehringer, Mannheim, Alemania.

Clinical Chemistry System, de Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania.

Eppendorf, Hamburgo, Alemania

Gibco BRL - Life Technologies, Paisley, Escocia.

Heraeus Sepatech, Osterode, Alemania.

Hewlett Packard, Palo Alto, CA, Estados Unidos.

IZASA S.A. División Bioquímica, Barcelona, España.

Merck, Darmstadt, Alemania.

Millipore Corporation, Bedford, MA, Estados Unidos.

Mitsubishi Electric Corporation, Tokyo, Japón.

MoBio Laboratorios, Inc

National Electronics, Estados Unidos.

New England Biolabs, Beverly, MA, Estados Unidos.

OWL Scientific Inc., Woburn, MA, Estados Unidos.

Panreac, Barcelona, España.

Perkin Elmer, Buckinghamshire, Reino Unido.

Pharmacia Biotech, Sollentuna, Suecia.

Polaroid, St. Albans, Reino Unido.

Promega Corporation, Madison, WI, Estados Unidos.

Pronadisa, Madrid, España.

Riedel-de Haën, Seelze, Alemania.

Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania.

Sigma Chemical Co., St Louis, MO, Estados Unidos.

Whatman International Ltd., Maidstone, Reino Unido.

3.3.2 Aparatos y equipos

El análisis de parámetros bioquímicos (colesterol, c-HDL, triglicéridos y glucosa) se realizaron en un analizador Beckman CX-7, estos análisis se realizaron en el laboratorio de bioquímica de la Clínica Quirón de Valencia. Se han realizado pruebas con muestras duplicadas para testar los resultados obtenidos en el laboratorio.

La lectura de absorbancia de las ELISAS se realizó con el lector Multiskan EX (Thermo Electron Corporation, Milford, USA), y la absorbancia del test de AGNE mediante el espectrofotómetro Boeco Model S-22 UV/Vis (Boeckel and Co, Hamburg, Germany).

Para extraer ADN mediante la técnica automatizada se utilizó el robot MagNA Pure Compact Instrument de Roche.

Para la técnica de PCR-RFLP y para la detección de polimorfismos se utilizó un termociclador Eppendorf Mastercycler para la amplificación de los fragmentos de ADN mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa y para las electroforesis horizontales en geles de agarosa se realizaron utilizando aparatos de la casa comercial BlueMarine, y para su visualización se manejó un sistema de transiluminador de National Electronics M900X y para la impresión de las fotografías de dichos geles un sistema fotográfico de Mitsubishi P91. Para el análisis mediante fluorescencia con sondas TaqMan se utilizó el sistema Applied Biosystems 7900HT Fast Real-Time PCR y la plataforma OpenArray™

El resto de aparatos (centrífugas de mesas, estufas, baños, balanzas, pipetas monocanales y multicanales) fueron los normales en un laboratorio.

3.3.3 Reactivos y material

3.3.3.1 Material necesario para la obtención de muestras y almacenamiento

- Tubos de extracción sangre (BD Vacutainer Systems): a) Tubo cristal 4,5 mL con EDTA como aditivo (tapa violeta) (REF 367654), destinado a conseguir plasma-EDTA y interfase celular (buffy coat); b) Tubo cristal 4,5 mL con citrato como aditivo (tapa azul) (REF 367704), destinado a conseguir plasma-citrato y interfase celular (buffy coat); c) Tubo cristal 4 mL con gel (tapa amarilla) (REF

367783), destinado a conseguir suero; d) Equipos y agujas (BD Vacutainer Systems).

- Contenedor orina 100 mL (Soria Genlab SA), para recolección de orina reciente.
- Viales de 650 μ L (NIRCO SA, REF 915530) y Viales de 1,7 mL (NIRCO SA, SORENSEN: Skirted vial 1.7mL TWISTTOP, ref 15570).
- Tapones de colores para los criotubos (NIRCO SA), según los códigos: a) “rojo” para el plasma-EDTA (NIRCO SA, ref 915410); b) “azul” para el plasma-citrato (NIRCO SA, ref 915470); c) “amarillo” para el suero (NIRCO SA, ref 915400); d) “blanco” para buffy-coat (NIRCO SA, ref 915480); e) “verde” para plasma-EDTA refrigerado (NIRCO SA, ref 915460); f) “transparente” para orina (NIRCO SA, ref 915490).
- Criocajas contenedores de criotubos GLW 2mL para 81 tubos, ref B50
- Pipetas Gilson 1000 μ L, Pasteur, puntas pipetas, y demás fungibles.

3.3.3.2 Reactivos para determinaciones plasmáticas de adipocitoquinas y de AGNE

Adiponectina: los niveles de adiponectina plasmática se determinó mediante el kit Human adiponectin ELISA KIT, Linco Research, Missouri, USA (Cat. # EZHADP-61K). La determinación de adiponectina se realizó solo en el estudio PREDIMED.

Leptina: la concentración plasmática de leptina se determinó mediante el kit Human Leptin ELISA, Clinical Range (BioVendor Research and Diagnostic Products, Modrice, Czech Republic)

AGNE: la determinación de ácidos grasos no esterificados (AGNE) en plasma se realizó con el kit NEFA C de Wako (Wako Chemicals GmbH, Neuss, Germany).

3.3.4 Obtención de muestras biológicas

Cuando se contacta con el participante se le informa de que debe asistir en ayunas tras un mínimo de 12 horas, con una muestra de la primera orina de la mañana y una muestra de las uñas del pie, en recipientes esterilizados apropiados, y se procede a la extracción de sangre venosa periférica. El volumen de sangre extraído es distribuido en 4 tubos K3E con EDTA de 4,5 ml, 1 tubo 9NC con citrato de 4,5 ml (solo en el caso del estudio PREDIMED) y 3 tubos SST de 4 ml con gel separador. Con uno de los tubos K3E se realiza una extracción de ADN de cada participante para posteriores análisis genéticos y otro para la realización del

análisis bioquímico. El resto de muestras son rápidamente procesadas siguiendo un protocolo estándar de fraccionamiento en alícuotas y conservadas a -80°C , constituyendo así un banco de plasma, suero y leucocitos, para efectuar las determinaciones posteriores de interés.

3.3.4.1 Protocolo de fraccionamiento en alícuotas

En primer lugar se elaboran etiquetas con el código asignado al participante y se colocan en los tubos primarios de extracción de sangre, y en los crioviales para la identificación del participante.

Cada uno de los tubos de extracción de sangre se centrifugan a 1500g durante 20 minutos. A continuación se realizan las siguientes alícuotas, cada tipo de alícuota tiene asignado un color del tapón del criotubo diferente para una correcta identificación de la muestra:

- 5 alícuotas de 200 μl y 10 de 500 μl de plasma EDTA, con tapón rojo.
- 5 alícuotas de buffy-coat de 500 μl a partir de tubos EDTA y citrato, con tapón blanco.
- 1 alícuota de 200 μl y otra de 500 μl de plasma EDTA refrigerado, con tapón verde
- 3 alícuotas de 200 μl y 2 de 500 μl de plasma citrato, con tapón azul.
- 4 alícuotas de 200 μl y 6 de 500 μl de suero, con tapón amarillo.
- 2 alícuotas de 500 μl de suero protegido de la luz, con tapón amarillo.
- 14 alícuotas de 650 μl de la muestra de orina, con tapón transparente.
- las muestras de uñas se introducen en criotubos con tapón transparente.

Una vez realizado el fraccionamiento en alícuotas se colocan las muestras en criocajas y son almacenadas a -80°C .

3.3.5 Análisis bioquímico

A partir de un tubo SST de muestra de sangre se realiza el análisis bioquímico. Se obtienen datos de las concentraciones plasmáticas de glucosa, CT, c-HDL, c-LDL y TG. La determinación del CT, c-HDL, y TG se realiza por métodos enzimáticos en un analizador Beckman CX-7. La glucemia se determinó por método enzimático de adaptación de deshidrogenasa de la hexoquinasa-glucosa 6 fosfato. El c-LDL se obtuvo mediante la aplicación de la fórmula de Friedwald WT et al, (1972) válida siempre que la trigliceridemia no exceda los 300 mg/dl. Para calcularlo en mg/dl la fórmula es:

$$LDL\ colesterol = Colesterol\ total - (HDL\ colesterol + \frac{Triglicéridos}{5})$$

5

Para poder calcularlo en mmol/L la cifra de triglicéridos debe dividirse entre 2,2.

3.3.6 Pruebas específicas a partir de plasma

A partir de las alícuotas de plasma-EDTA que hemos obtenido de cada participante y que se mantienen conservadas a -80°C , se extraen y se dejan a una temperatura de entre $2-4^{\circ}\text{C}$ para que se proceda a una descongelación más lenta de las muestras que no altere el estado de sus componentes, para posteriormente realizar las siguientes determinaciones:

- Adiponectina

Los niveles de adiponectina plasmática se determinó mediante un kit de ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) específico para esta proteína (Human adiponectin ELISA KIT, Linco Research, Missouri, USA. Cat. # EZHADP-61K).

Las muestras deben ser diluidas 1:500 con tampón de dilución para que su rango de valores esté dentro del rango de la curva patrón. Para ello primero se realiza una dilución 1:100 (a $10\mu\text{L}$ de muestra se le añade $990\mu\text{L}$ de tampón diluyente) y luego se realiza una dilución 1:5 (a $100\mu\text{L}$ de la dilución anterior se le añade $400\mu\text{L}$ de tampón diluyente), para cada una de las muestras. Posteriormente se realiza el protocolo de ELISA establecido por la casa comercial y tras la obtención del producto coloreado se realiza la lectura de la absorbancia a 450 nm mediante el espectrofotómetro Multiskan EX (Thermo Electron Corporation, Milford, USA) y el programa Ascent Software (Thermo LabSystems, Vantaa, Finland). Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

A través del valor de absorbancia medido para cada una de las muestras y por medio de la interpolación de este valor en la curva obtenida a partir de los datos de absorbancia de los patrones, se obtiene el dato de concentración de adiponectina capturada de la muestra. Los resultados finales deben ser multiplicados por 500, debido al factor de dilución de las muestras y son expresados en una concentración de $\mu\text{g/mL}$. El coeficiente de variación intraensayo fue del 1,2% y el interensayo del 2,1%.

- Leptina

La concentración de leptina plasmática se determinó mediante el kit Human Leptin ELISA, Clinical Range (BioVendor Research and Diagnostic Products, Modrice, Czech Republic).

Para la preparación de los reactivos de la ELISA se realiza una dilución 1:3 con tampón de dilución tanto de los estándares para la curva patrón como de los controles. Para ello, se añaden 50 μ L de estándar o de control a 100 μ L de tampón de dilución. En cambio, las muestras para la determinación de leptina deben ser diluidas 1:6 para que su rango de valores quede dentro del rango de la curva patrón. Por lo que a 25 μ L de muestra se añaden 125 μ L de tampón de dilución en cada una de las muestras. Posteriormente se realiza el protocolo de ELISA establecido por la casa comercial y tras la obtención del producto coloreado se realiza la lectura de la absorbancia a 450 nm mediante el espectrofotómetro Multiskan EX (Thermo Electron Corporation, Milford, USA) y el programa Ascent Software (Thermo Labsystems, Vantaa, Finland). Todas las determinaciones se realizaron por duplicado.

Los datos de absorbancia de los patrones generan una curva patrón donde son interpolados los datos de absorbancia obtenidos de las muestras problema obteniendo el dato de concentración de leptina capturado en la muestra. Los resultados finales deben ser multiplicados por 2, debido al factor de dilución de las muestras y son expresados en una concentración de ng/mL. El coeficiente de variación intraensayo fue del 3,4% y el interensayo del 5,7%

- AGNE

Para la determinación de los AGNE se utilizó el kit comercial NEFA C de Wako (Wako Chemicals GmbH, Neuss, Germany).

Este kit permite la realización de un test colorímetro para la determinación cuantitativa *in vitro* de los AGNE en plasma sanguíneo. La prueba está basada en la realización de tres reacciones sucesivas partiendo de los AGNE catalizadas por las enzimas; Acil-CoA sintetasa, Acil-CoA oxidasa y finalmente a través de la peroxidasa, obteniéndose un producto de color rojo-rosa. La lectura de absorbancia de este producto a 550 nm es proporcional a la concentración de AGNE en la muestra.

A partir de las muestras de plasma se sigue el protocolo para la técnica semi-micro establecido por la casa comercial. Tras la obtención del producto coloreado se realiza la lectura de la absorbancia a 550 nm mediante el espectrofotómetro

Boeco Model S-22 UV/Vis (Boeckel and Co, Hamburg, Germany). La concentración de AGNE se determina mediante una curva de calibración. Los resultados son expresados en una concentración de mg/dL. El coeficiente de variación intraensayo fue del 1,9% y el interensayo del 2,1%.

- Parámetros de inflamación y de función endotelial

Se determinaron las concentraciones periféricas de ICAM-1, VCAM-1 e IL-6 mediante ELISA (kits BLK, Barcelona, España), y de PCR mediante inmunonefelometría en el aparato Synchron Lxi725-Synchron Access Clinical system (Beckman Coulter).

Todas las determinaciones se realizaron por duplicado. Los resultados son expresados en una concentración de mg/L para la PCR, de ng/mL para ICAM-1 y VCAM-1 y de pg/mL para los niveles de IL-6. Los coeficientes de variación intra e interensayo para la PCR, ICAM-1, VCAM-1 e IL-6 fueron de 1.8% hasta 5.4% y de 0.9 hasta 9.9% respectivamente. Las determinaciones de estos parámetros fueron realizadas en el nodo del grupo PREDIMED del Hospital Clínico de Barcelona, grupo IDIBAPS (Estruch R et al, 2006). En la presente tesis se incluyen los resultados de los análisis de estos parámetros de 150 participantes del estudio PREDIMED del nodo de Valencia.

3.4 Análisis genético

En el presente trabajo se estudió el posible efecto de polimorfismos relacionados con la obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular en la población de alto riesgo cardiovascular del estudio PREDIMED.

El proceso de extracción del ADN, así como el análisis de los distintos polimorfismos estudiados, se realizó en el laboratorio del Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública de la Facultad de Medicina de Valencia. Ambos procesos se realizaron bajo las condiciones óptimas y en salas distintas para impedir la contaminación de las muestras.

Para el análisis genético se utilizaron tres técnicas según el polimorfismo: la técnica de PCR-RFLP (Restriction fragment length polymorphism) y discriminación alélica mediante análisis de fluorescencia con sondas TaqMan. Esta técnica se utilizó mediante dos plataformas distintas de análisis de genotipado; la plataforma 7900HT y la plataforma OpenArray™ ambas de la casa comercial AppliedBiosystems.

3.4.1 Reactivos para el análisis genético

Extracción de ADN: se utilizó fenol-cloroformo, acetato amónico 10M y etanol al 70%, el kit manual Ultraclean™ DNA Blood Spin kit (MOBIO, Carlsbad, USA) y el kit MagnaPure Compact Nucleic Acid Isolation Kit (Roche diagnostics, GmbH, Mannheim, Germany) para la extracción con MagNA Pure Compact de Roche.

Técnica de PCR-RFLP: Para la amplificación de fragmentos de ADN se utilizaron oligonucleótidos sintetizados por Pharmacia Biotech, Taq polimersa de la casa comercial Promega, dNTP's procedentes de Boehringer Mannheim y MgCl₂ 25mM de Promega. Las distintas enzimas de restricción utilizadas procedían de la casa comercial Promega. El marcador de pares de bases que se utilizó fue el XIII de la casa Boehringer Mannheim. La agarosa para la realización de los geles para la electroforesis horizontal fue de Pronadisa, y el TAE (triz-acetato-EDTA) de Gibco BRL.

Técnica de fluorescencia con sondas TaqMan

- **Plataforma 7900HT Fast Real-Time PCR:** Para amplificar el ADN mediante reacción en cadena de la polimerasa se utilizó una master mix estándar, la *TaqMan Genotyping Master Mix*. Además, junto con esta mix se utiliza la solución *TaqMan SNP Genotyping Assay*, que contiene la pareja de cebadores de la reacción de amplificación y las sondas TaqMan específicas para cada uno de los alelos del polimorfismo a estudiar. Ambos reactivos son diseñados por Applied Biosystem.
- **Plataforma OpenArray™:** Para llevar a cabo la reacción en cadena de la polimerasa se utilizó una master mix estándar, la *TaqMan Universal PCR OpenArray Master Mix*. Para esta plataforma se utiliza una matriz de OpenArray donde cada micropocillo contiene liofilizadas la pareja de cebadores de la reacción de amplificación y las sondas TaqMan específicas para cada uno de los alelos del polimorfismo a estudiar. Tanto la Master Mix como el preparado de la matriz son realizados por Applied Biosystem.

3.4.2 Análisis de polimorfismos en genes candidatos

Para la realización del estudio genético se procedió a la extracción del ADN mediante tres técnicas distintas; un método manual, un kit de extracción manual y el robot MagNa Pure Compact de Roche. Posteriormente, se seleccionaron polimorfismos de trabajos anteriores desarrollados por otros grupos de investigación y del banco de datos dbSNP database

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?CMD=search&DB=snp>) que mostraran interés para nuestro estudio. Además del estudio de polimorfismos ya descritos, también se procedió a la búsqueda de otros nuevos para el gen de la adiponectina, que no estuvieran todavía descritos en bases de datos. Para ello se procedió a la secuenciación de los 3 exones del gen ADIPOQ.

Los polimorfismos analizados en la población del estudio PREDIMED del nodo de Valencia se encuentran en los genes: ADIPOQ (Figura 3.2.), ADIPOR1, LEP, RLEP, GHRL, GHSR, CD36, PYY, MLXIPL, MC4R, KCNJ11, ABCC8, ENPP1, TSPAN8/LGR5, BDNF, NPY2R, CNR1, MCM6 y NR1H3, analizados mediante las distintas técnicas que se indican en los siguientes apartados.

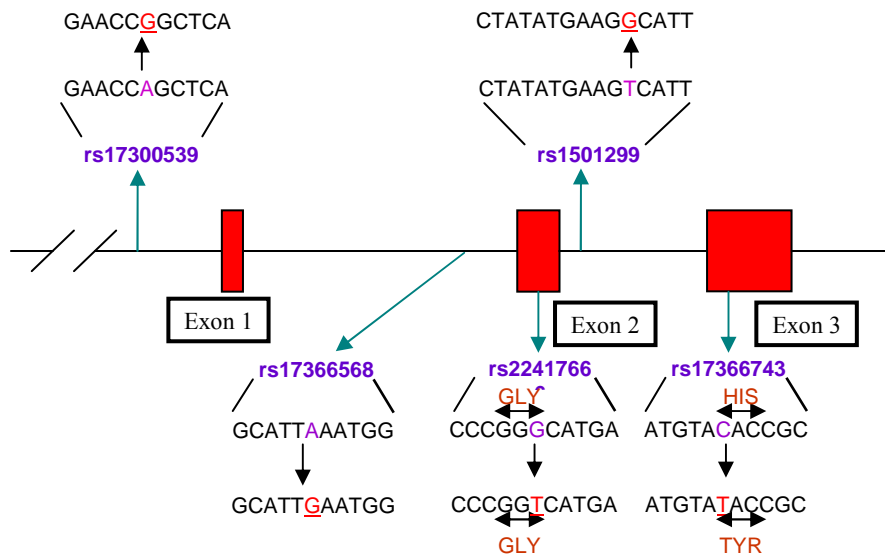


Figura 3.2. Representación esquemática del gen de la adiponectina (ADIPOQ), se muestran la posición de cada uno de los polimorfismos objeto de estudio de este gen, así como una pequeña región de la secuencia flanqueante, con la secuencia salvaje (base subrayada) y la secuencia mutada

3.4.2.1 Obtención de ADN

Para el proceso de extracción de ADN se emplearon 3 técnicas:

Purificación con fenol-cloroformo: método descrito por Miller et al. (Ordovás JM et al, 1987). Es un método manual que consiste en la obtención de ADN a partir de leucocitos de sangre periférica. Brevemente, en un primer paso se lisan los hematíes con una solución hipotónica; a continuación se utiliza una solución detergente para romper las membranas de los leucocitos y liberar el ADN. Por último, se purifica el ADN con una mezcla fenol-cloroformo y se precipita con acetato amónico 10M y etanol 70%. El ADN obtenido se resuspende en tampón TE (Tris EDTA) y se guarda a 4°C. Se utiliza con muestras de sangre total fresca aunque también puede obtenerse ADN a partir de muestras de buffy-coat.

Kit de extracción de ADN manual. Concretamente se ha utilizado el kit Ultraclean BloodSpin de MoBio Laboratorios, Inc. Consiste en un kit de extracción de ADN manual que se basa en la utilización de filtros de sílica para aislar el ADN previa lisis de células y degradación de proteínas en presencia de Proteinasa K. Permite extraer ADN genómico a partir de sangre total (fresca, congelada o almacenada a 4°C) y buffy-coat. Este kit contiene todos los reactivos, filtros de sílica y tubos requeridos para llevar a cabo todo el proceso sobre 250 muestras.

Método automatizado con el robot MagNA Pure Compact Instrument de Roche. Este robot integra la tecnología necesaria para la purificación de ácidos nucleicos de manera automatizada. Esta preparado para procesar de 1 a 8 muestras en paralelo al mismo tiempo. Las muestras pueden proceder de sangre fresca, congelada o buffy-coat. Funciona en combinación con kits que contienen todos los componentes ya optimizados necesarios para llevar a cabo el aislamiento de ADN suministrados también por Roche.

Se utilizaron las tres técnicas según las características de la muestra. Si se trataba de sangre fresca el ADN se obtuvo a partir de la técnica de extracción mediante fenolcloroformo y si trataba de buffy-coat congelado, porque la extracción a partir de sangre fresca no obtuvo la concentración de ADN adecuada, se utilizaban las otras dos técnicas.

3.4.2.2. Estudio de polimorfismos mediante PCR-RFLPs

La amplificación mediante reacción en cadena de la polimerasa se realizó en los genes: ADIPOQ (rs17300539, rs2241766, rs17366743), LEP, RLEP, PYY y CD36 (rs1761667). Se realizó utilizando los oligonucleótidos mostrados en la tabla 3.2. Todas las amplificaciones se efectuaron en un volumen de 50 µl (para 300 y 600 ng de ADN de la muestra) y la mezcla de reacción que se utilizó fue: 1 pg de

dNTP's, 25 pg de Mg₂Cl, 2pg de cada primer y 2.5 U de Taq Polimerasa (5U/μl) (Orita M et al, 1989; Glavac D et al, 1993). Las condiciones de los ciclos de amplificación para el estudio de las diferentes variantes genéticas fueron similares:

- para los polimorfismos **rs17300539 (-11391 G>A)**, **rs2241766 (+45 T>C)**, **rs17366743 (Y111H)** del gen **ADIPOQ** después de una desnaturalización inicial a 94°C durante 6 minutos, se realizaron los ciclos indicados para cada variante con el siguiente protocolo: 45 segundos a 94°C, 45 segundos a la correspondiente temperatura de anillamiento y 45 segundos a 72°C. Para la extensión del amplificado se utilizó una temperatura de 72°C durante 5 minutos.
- para el polimorfismo **rs7799039** del gen **LEP (-2548 G>A)** después de una desnaturalización inicial a 94°C durante 5 minutos, se realizaron los ciclos indicados para cada variante con el siguiente protocolo: 45 segundos a 94°C, 45 segundos a la correspondiente temperatura de anillamiento y 45 segundos a 72°C. Para la extensión del amplificado se utilizó una temperatura de 72°C durante 7 minutos (Le Stunff C et al, 2000).
- para el polimorfismo **rs1137101 (Q223R)** del gen **RLEP** después de una desnaturalización inicial a 94°C durante 6 minutos, se realizaron los ciclos indicados para cada variante con el siguiente protocolo: 30 segundos a 94°C, 30 segundos a la correspondiente temperatura de anillamiento y 30 segundos a 72°C. Para la extensión del amplificado se utilizó una temperatura de 72°C durante 5 minutos (Gotoda T et al, 1997).
- para el polimorfismo **rs1058046 (T72R)** del gen **PYY** después de una desnaturalización inicial a 94°C durante 6 minutos, se realizaron los ciclos indicados para cada variante con el siguiente protocolo: 30 segundos a 95°C, 15 segundos a la correspondiente temperatura de anillamiento y 15 segundos a 72°C. Para la extensión del amplificado se utilizó una temperatura de 72°C durante 5 minutos (Hung CC et al, 2004)
- para el polimorfismo **rs1761667 (-3118 G>A)** del gen **CD36** después de una desnaturalización inicial a 94°C durante 6 minutos, se realizaron los ciclos indicados para cada variante con el siguiente protocolo: 45 segundos a 94°C, 45 segundos a la correspondiente temperatura de anillamiento y 45 segundos a 72°C. Para la extensión del amplificado se utilizó una temperatura de 72°C durante 5 minutos.

La verificación de las amplificaciones se realizaba cargando 5 µl de la reacción en geles horizontales de agarosa 2% en 1X TAE. El ADN se visualizaba mediante tinción con bromuro de etidio y exposición a luz UV, el tamaño del fragmento obtenido se obtenía por comparación con el marcador XIII de Roche.

Los primers necesarios para la PCR de los polimorfismos de los genes ADIPOQ (rs17300539, rs2241766, rs17366743) y CD36 se diseñaron con el programa informático Primer3 (Howard Hughes Medical Institute and National Institutes of Health, National Human Genome Research Institute http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi). Posteriormente, los primers seleccionados se alineaban en la base de datos del NCBI utilizando la herramienta BLAST para verificar que hibridaban en la zona de interés (National Centre for Biotechnology Information, <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

En la tabla 3.2. se muestran los oligonucleótidos empleados, el número de ciclos, la temperatura de anillamiento y el tamaño amplificado mediante la PCR de los diferentes fragmentos de ADN de los genes estudiados mediante la técnica de PCR-RFLP.

Tabla 3.2. Secuencia de oligonucleótidos, temperatura de anillamiento, ciclos de amplificación, y tamaño de los fragmentos de ADN amplificados mediante PCR.

Variante genética	Oligos para PCR	T ^a anillamiento	N ^o Ciclos	Tamaño
rs17300539 (-11391 G>A) ADIPOQ	GCTCTGTGTGGACTGTGGAG GAGCCTGTTTTTCCAGTTCC	64,2°C	39	372 pb
rs2241766 (+45 T>G) ADIPOQ	TCTCTCCATGGCTGACAGTG TGTGATGAAAGAGGCCAGAA	64,2°C	39	288 pb
rs17366743 (Y111H) ADIPOQ	CTTCCGGGAATCCAAGG AGCCCAGGAATGTTGCAGT	58,5°C	39	192 pb
rs7799039 (-2548 G>A) LEP	TTTCCTGTAATTTCCCGTGAG AAAGCAAAGACAGGCATAAAAA	50°C	30	242 pb
rs1137101 (Q223R) RLEP	AAACTCAACGACACTCTCCTT TGAAGTACATTAGAGGTGAC	55°C	40	368 pb
rs1058046 (T72R) PYY	TACGCCTCCCTGCGCCACTACCTCA GTCGGGGAAGAACGTTTTGGAAAGAGGC	54°C	35	239 pb
rs1761667 (-3118 G>A) CD36	TCCATTGAAGCCCTTCTGTT TTTTGGGAGAAATTCTGAAGAG	61,4°C	39	348pb

Tras la obtención de los productos de la PCR se procedía al protocolo de digestión para llevar a cabo la técnica de RFLP. Las digestiones de restricción se realizaron siguiendo las indicaciones de cada fabricante para cada enzima. En la tabla 3.3. se indica para cada polimorfismo la enzima que se utiliza para la detección de la variante, la secuencia de reconocimiento de la enzima y los fragmentos que se originan

Tabla 3.3. Enzimas utilizadas, secuencia de corte y fragmentos obtenidos tras la digestión del producto de amplificación para el cribado de las variantes en los genes de interés

Gen / variante	Enzima	Secuencia de corte	Fragmentos
ADIPOQ rs17300539	Msp I	C↓CGG	Alelo G: 205 pb, 167 pb Alelo A: 372 pb
ADIPOQ rs2241766	Sma I	CCC↓GGG	Alelo T: 288 pb Alelo C: 202 pb, 86 pb
ADIPOQ rs17366743	Rsa I	GT↓AC	Alelo T: 192 pb Alelo C: 141 pb, 51 pb
LEP rs7799039	HhaI	GCG↓C	Alelo G: 181 pb, 61 pb Alelo A: 242 pb
RLEP rs1137101	Msp I	C↓CGG	Alelo A (Q): 368 pb Alelo G (R): 245 pb, 123 pb
PYY rs1058046	Stu I	AGG↓CCT	Alelo C: 209 pb Alelo G: 182 pb, 27 pb
CD36 rs1761667	HhaI	GCG↓C	Alelo G: 139 pb, 95 pb Alelo A: 234 pb

Los productos de digestión fueron sometidos a electroforesis en geles horizontales de agarosa al 2,5% en 1X TAE para los polimorfismos rs17300539, rs2241766 del gen ADIPOQ, y para LEP y RLEP, en geles al 3% para CD36, y en geles al 4% para rs17366743 de ADIPOQ y para PYY. Posteriormente el ADN se visualizaba mediante tinción con bromuro de etidio y exposición a luz UV, el tamaño del fragmento obtenido se obtenía por comparación con el marcador XIII.

Las lecturas se realizaron por dos observadores independientemente repitiendo las discrepancias.

3.4.2.3 Estudio de polimorfismos mediante sondas TaqMan

El análisis de genotipado mediante reacción de PCR a tiempo real lo realizamos utilizando sondas Taqman fluorescentes específicas para cada alelo del SNP. La sonda Taqman es un oligonucleótido que contiene fluorocromos en los dos extremos y que es capaz de hibridar en regiones internas y específicas de los productos de la reacción en cadena de la polimerasa. Esta sonda presenta un fluorocromo unido en el extremo 5' ó *reporter* (FAM_{TM}, o VIC_{TM}) y otro unido en el extremo 3' ó *quencher* (NFQ). Cuando la sonda está intacta, la fluorescencia emitida por el *reporter* es absorbida por el *quencher* mediante un proceso conocido como FRET (transferencia de energía de resonancia de Förster o transferencia de energía de resonancia fluorescente) que se traduce en la anulación de la fluorescencia de la sonda (Didenko VV et al, 2001). Si la secuencia de DNA complementaria a la sonda está presente, se produce la unión entre ambos. Cuando la polimerasa inicia el proceso de copiado desde el extremo 3' del cebador degrada la sonda gracias a su actividad 5' exonucleasa. Esta degradación hace que el *reporter* y el *quencher* se separen, produciéndose un incremento en la fluorescencia que es recogido y almacenado por el secuenciador. La separación de la sonda del DNA posibilita que el proceso de extensión del primer continúe hasta el final. Este proceso se repite en cada ciclo de la PCR, dando lugar a un incremento en la intensidad de la fluorescencia proporcional a la cantidad de producto generado.

Así, se diseña una sonda Taqman con la secuencia que correspondería al alelo Y unido a un fluorocromo (FAM_{TM} o VIC_{TM}), y otra sonda con la secuencia que correspondería al alelo X (FAM_{TM} o VIC_{TM}). Cada sonda se unirá de manera específica a su secuencia complementaria, y al unirse será cuando la polimerasa separe el *reporter* del *quencher* y la fluorescencia que se emite será específica de la secuencia a la que era complementaria. En la siguiente figura tenemos representado un ejemplo de este fenómeno (Figura 3.3.).

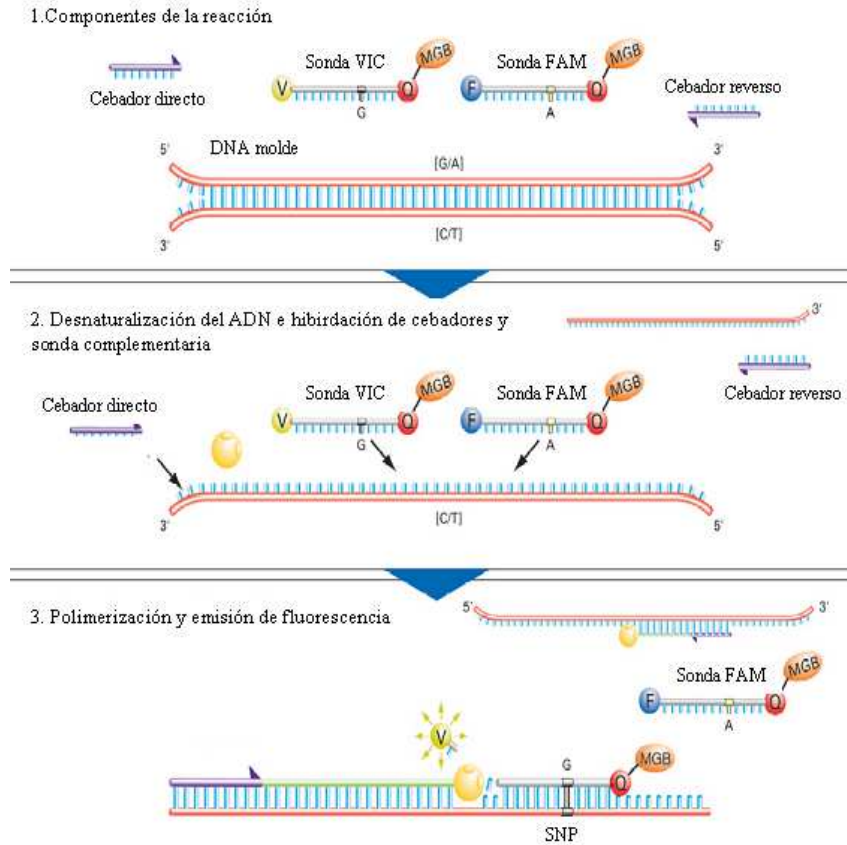


Figura 3.3. En esta figura se muestra como la sonda con la secuencia complementaria al DNA molde se une de manera específica y durante la elongación la polimerasa ejerce su actividad 5' exonucleasa permitiendo la liberación del fluorocromo y consecuentemente la emisión de fluorescencia. Modificado del TaqMan SNP Genotyping Assays Protocol.

Para hacer la determinación del genotipo se utilizaron 2 tipos de plataformas: el analizador 7900HT Fast Real-Time PCR y el TaqMan Openarray Genotyping Instruments Platform, los dos de Applied Biosystems. A continuación, se describen y se mencionan las determinaciones que se realizaron en cada uno de ellos.

3.4.2.3.1 Análisis de fluorescencia mediante 7900HT Fast Real-Time PCR

La plataforma 7900HT Fast Real-Time PCR (Figura 3.4.) mediante el uso de sondas fluorescentes permite la detección cuantitativa de secuencias de ácidos nucleicos usando un análisis de fluorescencia a tiempo real durante la PCR, así como una detección cualitativa de la secuencia de ácidos nucleicos con una lectura de fluorescencia a punto final, permitiendo la determinación del genotipo de cada muestra, mediante discriminación alélica.

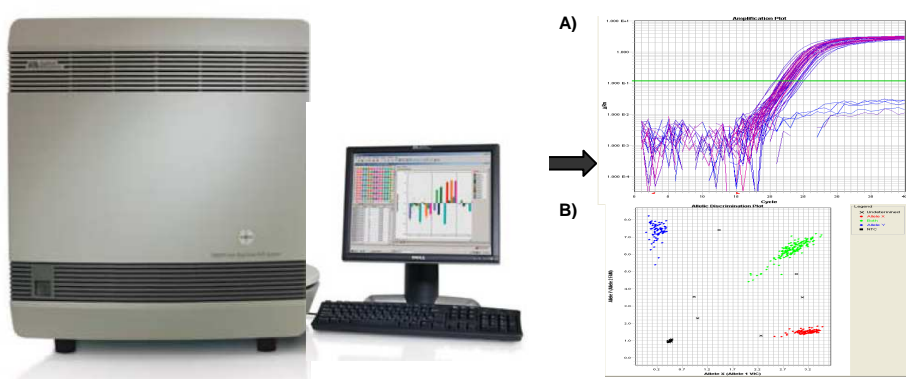


Figura 3.4. A la izquierda se muestra los instrumentos que componen la plataforma 7900HT Fast Real-Time PCR. A la derecha los gráficos que proporciona el programa SDS 2.3 en A) para la detección cuantitativa (arriba) en la PCR, y B) para la detección cualitativa (abajo) en la discriminación alélica de fluorescencia.

Mediante esta técnica se analizaron los polimorfismos de los genes: ADIPOQ (rs1501299), ADIPOR1, MLXIPL, MC4R, KCNJ11, ENPP1, TSPAN8. Para cada polimorfismo se utilizaron soluciones prediseñados por Applied Biosystem, las *TaqMan SNP Genotyping Assay*, que contienen la pareja de cebadores para la reacción de amplificación y las sondas TaqMan específicas para cada uno de los polimorfismos. En la tabla 3.4. se señalan las *TaqMan SNP Genotyping Assay* para cada uno de ellos.

Tabla 3.4. Referencia de las TaqMan SNP Genotyping Assay de Applied Biosystems para cada polimorfismo genotipado con 7900HT Fast Real-Time PCR.

Gen/Polimorfismo	SNP Genotyping Assay Mix
ADIPOQ rs1501299	C_7497299_10
ADIPOQ rs17366568	C_33187752_10
ADIPOR1 rs6666089	C_30887074_20
MLXIPL rs3812316	C_2632498_10
Intergen MLXIPL/TBL2 rs17145738	C_2632544_10
MC4R rs17782313	C_32667060_10
KCNJ11 rs5219	C_11654065_10
ENPP1 rs1044498	C_1207994_20
Intergen TSPAN8/LGR5 rs7961581	C_121473_10

La mezcla de PCR a tiempo real se prepara para el desarrollo de un protocolo estándar propuesto por Applied Biosystems, para un volumen final de reacción de 5 μ l. La mezcla de reacción está compuesta por: 2,5 μ L de *TaqMan Genotyping Master Mix (2x)*, 0,125 μ L *TaqMan SNP Genotyping Assay*, 0,5 μ L de ADN (25 ng/ μ L) y 1,875 μ L de agua bidestilada. Las reacciones se llevan a cabo en una placa de 384 pocillos (Microamp® Optical 384-well Reaction Plate, Applied Biosystems). Una vez cargada toda la placa se cubre con un adhesivo y se coloca en el bloque térmico del sistema de detección Applied Biosystems 7900HT Fast Real-Time PCR. Tras la carga se realiza el proceso de amplificación. Las condiciones de PCR a tiempo real según el protocolo estándar son las siguientes (Tabla 3.5.):

Tabla 3.5. Condiciones de amplificación en el 7900HT Fast Real-Time PCR

Nº Ciclos	Etapa	Condiciones
1x	Desnaturalización inicial	10 minutos a 95 °C
40x	Desnaturalización	15 segundos a 92 °C
	Hibridación/Extensión	1 minuto a 60 °C

Tras la amplificación se procede a la discriminación alélica, mediante la cual el software del sistema de detección 7900HT Fast Real-Time PCR (SDS 2.3) clasifica las muestras según la fluorescencia que detecta de la siguiente manera: a) Homocigoto alelo X: si solo existe fluorescencia VIC; b) Homocigoto alelo Y: si solo existe fluorescencia FAM; c) Heterocigoto (alelo X e Y): si existen ambas fluorescencias VIC y FAM.

3.4.2.3.2 Análisis de fluorescencia mediante TaqMan OpenArray Genotyping Instruments Platform

Durante el desarrollo del presente trabajo se propuso una nueva plataforma de genotipado mediante sondas TaqMan, la plataforma OpenArray. Esta plataforma se basa también en la tecnología de las sondas TaqMan, midiendo la fluorescencia a punto final de la PCR para la determinación del genotipo en función de la señal de fluorescencia emitida para cada muestra (Figura 3.5.).



Figura 3.5. Instrumentos que componen la plataforma TaqMan Openarray Genotyping. De izquierda a derecha: Ordenador con software SNP OpenArray Genotyping, OpenArray NT Imager, dispensador para cargar las matrices, sellador de matrices y termociclador para matrices de OpenArray.

El laboratorio del Departamento de Medicina Preventiva de la Facultad de Medicina de Valencia, donde se han realizado todos los análisis genéticos presentes en esta tesis, fue uno de los grupos pioneros en la obtención y puesta a punto del genotipado mediante la plataforma OpenArray en España. Inicialmente se utilizó una matriz diseñada para el genotipado de 64 SNPs para 48 muestras, dado que era la única presentación disponible al inicio de la utilización de este sistema.

Para la puesta a punto de esta plataforma inicialmente se procedió al genotipado de muestras de ADN de uso habitual en el laboratorio, con una media del ratio $^{260}/_{280}$ de 1,775, normalizando la concentración de las muestras a 50ng. Posteriormente, se realizó un análisis de la calidad del proceso de genotipado de las muestras. Se observó que el 39,1% de los SNPs presentaban más de un 10% de resultados nulos. Paralelamente, los resultados mostraron que de los 64 SNPs, el 14,1% presentaban una frecuencia del alelo minoritario inferior al 10%. Entre estos SNPs con un alelo de baja frecuencia, se observó que el 33,3% pertenecían al grupo de SNPs con mayor número de resultados nulos.

Tras la obtención de estos resultados, se realizó un segundo análisis a partir de ADN de reciente extracción con un valor medio del ratio $^{260}/_{280}$ de 1,884. En este caso se observó que solo el 14,1% de los SNPs tenían más de un 10% de resultados nulos, y ninguna de los que poseían un frecuencia del alelo minoritario inferior al 10% pertenecían a las de mayor número de resultados nulos. Estos resultados mostraron la importancia de la pureza de las muestras para el proceso de genotipado mediante la plataforma OpenArray.

Por otro lado, se realizó una comparación de los resultados obtenidos en 3 polimorfismos genotipados tanto por la plataforma OpenArray como por la plataforma 7900HT. En la tabla 3.6. se muestran los porcentajes de concordancia de los resultados obtenidos en los 3 genotipos de cada polimorfismo, así como el porcentaje de concordancia general de los resultados obtenidos en ambas plataformas, observándose una concordancia significativa en los resultados obtenidos mediante el 7900HT y el OpenArray.

Tabla 3.6. Porcentaje de resultados concordantes de cada genotipo y en general al comparar los resultados obtenidos mediante las plataformas 7900HT y OpenArray de los polimorfismos rs1300539 del gen ADIPOQ, rs1044498 del gen ENPP1 y rs5219 del gen KCNJ11.

Polimorfismos	Concordancia genotipo 11 (%)	Concordancia genotipo 12 (%)	Concordancia genotipo 22 (%)	Concordancia general (%)	P ¹
ADIPOQ rs17300539	95	88,3	76,5	93,4	<0,001
ENPP1 rs1044498	100	97,6	97,5	97,6	<0,001
KCNJ11 rs5219	94,7	94,7	98,4	95,2	<0,001

Genotipo 11: homocigoto salvaje; Genotipo 12: heterocigoto; Genotipo 22: homocigoto mutado; P: Valor de P obtenido mediante un test χ^2 , al comparar las frecuencias genotípicas según la plataforma de genotipado.

Finalmente, se realizó otra prueba del genotipado mediante la plataforma OpenArray. En este caso, puesto que se había ampliado el tipo de presentaciones disponibles de las matrices, se optó por una matriz de 32 SNPs y 96 muestras, bajo el argumento que al aumentar el número de muestras por SNP en un solo proceso de genotipado podrían mejorar los resultados. Tras la obtención y análisis de los genotipos, se observó que con la matriz de 32 SNPs el porcentaje de polimorfismos que poseían más de un 10% de resultados nulos disminuyó al 9,4% en este caso.

Posteriormente, para el análisis genético mediante esta plataforma se seleccionaron los polimorfismos de los genes ADIPOQ (rs17300539), KCNJ11, ENPP1, ABCC8, FOXO1, BDNF, GHRL, GHSR, NPY2R, CD36 Y CNR1 para la realización de los análisis de asociación por su relevancia en los estudios realizados en el presente trabajo. Estos polimorfismos se encontraban incluidos en una matriz para 64 polimorfismos. En la tabla 3.7. se señalan las *TaqMan SNP Genotyping Assay*, las cuales contienen la pareja de cebadores para la reacción de amplificación y las sondas TaqMan específicas para cada polimorfismos.

Tabla 3.7. Referencia de las TaqMan SNP Genotyping Assay de Applied Biosystems para cada polimorfismo genotipado con TaqMan Openarray Genotyping

Polimorfismo	SNP Genotyping Assay Mix
ADIPOQ rs17300539	C_33187774_10
KCNJ11 rs5219	C_11654065_10
ENPP1 rs1044498	C_1207994_20
ABCC8 rs757110	C_600632_10
BDNF rs925946	C_7469155_10
GHRL rs4684677	C_25607748_10
GHSR rs572169	C_1079489_20
NPY2R rs2880411	C_308158_10
CD36 rs2151916	C_15834276_20
CNR1 rs806381	C_1652582_10
CNR1 rs6454674	C_11418433_10
MCM6 rs3754686	C_27511959_10
NR1H3 rs7120118	C_1301060_20

Para iniciar el protocolo de genotipado, la mezcla del ADN y la TaqMan OpenArray Master Mix se realiza en placas de 384, con un volumen de 2,7 μL de cada uno de ellos. La media de concentración de ADN usada fue de 50ng/ μL .

Posteriormente, esta mezcla se transfiere por capilaridad, mediante un dispensador, a una matriz compuesta por 3072 micropocillos, divididos en 48 submatrices de 64 micropocillos cada uno, en los cuales se encuentran liofilizadas las SNP Genotyping Assays junto con la correspondiente pareja de cebadores necesarios para la amplificación (Figura 3.6.). En cada micropocillo queda 33nL de la mezcla de ADN más Master Mix. Así, en esta matriz se pueden genotipar 64 polimorfismos de 48 muestras de ADN (Figura 3.6.).

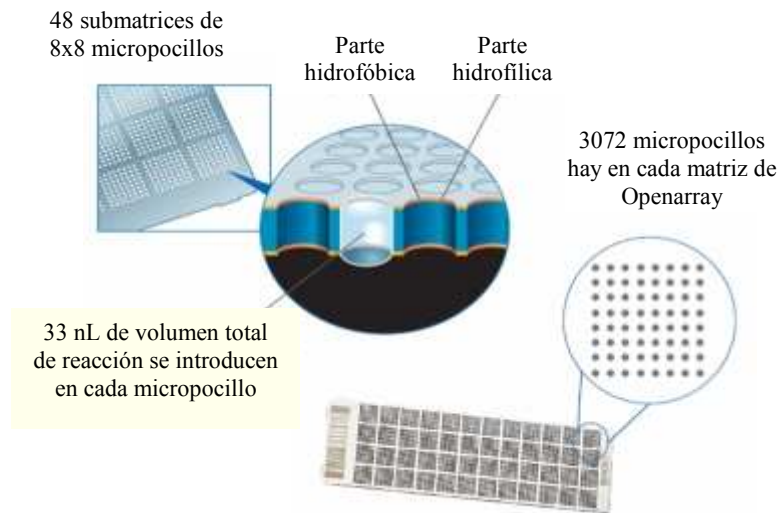


Figura 3.6. Matriz de OpenArray compuesta por 48 submatrices 8x8 y 3072 micropocillos. Cada pocillo tiene una parte hidrofílica para atraer la mezcla de ADN y MasterMix y una parte hidrofóbica que la repele. Se introducen 33 nL de volumen final de reacción en cada micropocillo. En esta matriz se pueden genotipar 64 polimorfismos de 48 muestras de ADN.

Posteriormente, la matriz se introduce en una funda con líquido de inmersión y se sella. A continuación, se realiza la reacción en cadena de la polimerasa en un termociclador apto para matrices de Openarray (GeneAmp® PCR System 9700) con las siguientes condiciones: 50°C durante 15 segundos, 91°C durante 10 minutos, seguidos de 50 ciclos de 170 segundos a 54°C y 45 segundos a 92°C, y finalmente, baja la temperatura a 4°C. Tras este paso, se procede al análisis de las muestras con el software OpenArray™ SNP Genotyping Analysis v 1.0.3., visualizando los resultados como puntos de datos individuales para cada uno de los micropocillos que se representan en un plano cartesiano donde se muestra la intensidad de la fluorescencia de VIC frente a la de FAM, fluoróforos con los que vienen marcadas las sondas, asignando, según esta intensidad de fluorescencia, el genotipo de cada muestra para cada polimorfismo (homocigoto para alelo Y, heterocigoto (alelo X e Y) y homocigoto alelo X).

Posteriormente los resultados de distintas matrices se integran mediante el software TaqMan Genotyper software v1.0, para la obtención de resultados de mayor precisión.

De todos los polimorfismos se obtuvieron datos de la variante genética en los alelos de ambos progenitores, y los individuos se clasificaron como homocigotos para el alelo normal, heterocigotos y homocigotos para el alelo mutado. Posteriormente, una vez comprobado si el efecto es dominante, recesivo o codominantes se agruparon los individuos de acuerdo con ello. Así, una vez demostrados efectos dominantes, o al menos codominantes, para una variante genética, se pudieron agrupar los portadores de la variante minoritaria (en homocigosis y en heterocigosis) y compararlos con los homocigotos de la variante más prevalente.

3.4.2.4 Metodología para la detección de polimorfismos mediante secuenciación

Para el estudio de nuevos polimorfismos que no estuvieran descritos en bases de datos, procedimos a la secuenciación de los tres exones del gen de la adiponectina, y posterior análisis de las secuencias y de los cromatogramas, proporcionados por la secuenciación, para la detección de nuevas variantes en el gen de la adiponectina.

La secuenciación automática del ADN es un método utilizado para conocer de manera precisa la sucesión de nucleótidos que componen los fragmentos de interés. La técnica esta basada en el método desarrollado por Sanger (Sanger F, 1997).

Para la secuenciación de las muestras elegimos los ADN de 33 pacientes que habían mostrado concentraciones extremas de adiponectina en plasma, tanto por exceso (aquellos que superaban unos niveles superiores a 30 $\mu\text{g/mL}$) tanto por defecto (aquellos que presentaban una concentración inferior a 5 $\mu\text{g/mL}$).

Para la obtención de las muestras para secuenciación, se realizó la amplificación de los tres exones mediante PCR, dado el tamaño del exón 3 se analizó mediante la amplificación de dos fragmentos que abarcaban toda la región del exón. La composición de la mezcla de reacción es la descrita en el apartado de la técnica PCR-RFLP. Las condiciones de PCR para los cuatro fragmentos amplificados fue: una desnaturalización inicial a 94°C durante 6 minutos, seguido de 39 ciclos de 45 segundos a 94°C, 45 segundos a la temperatura de anillamiento correspondiente y 45 segundos a 72°C, posteriormente 72°C durante 5 minutos para la extensión del amplificado. Los oligonucleótidos empleados, la temperatura de anillamiento y el tamaño del amplificado se indica en la tabla 3.8.. Los exones 1 y 2 se amplificaron con los oligonucleótidos descritos por Schäffler A et al (1999), el exón tres debido a su tamaño se dividió en dos fragmentos, los oligonucleótidos fueron diseñados con el programa Primer3 (Howard Hughes Medical Institute and

National Institutes of Health, National Human Genome Research Institute
http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi).

Tabla 3.8. Listado de primers utilizados en este trabajo para la amplificación de los tres exones del gen de la adiponectina, Tª de anillamiento y tamaño del amplificado.

Posición en ADIPOQ	Oligos para PCR	Tª anillamiento	Tamaño
Exón 1	GGTTGTACCAGGTTCCCTAGG	64,2	282 pb
	GATCCCAGCCAGAGGCTATGCATGC		
Exón 2	GCAGCTCCTAGAAGTAGACTCTGCTG	66,7	372 pb
	GGAGGTCTGTGATGAAAGAGGCC		
Exón 3 A	GTTGTGAGTGGGAGCCACA	66,7	406 pb
	GGCTGACCTTCACATCCTTC		
Exón 3 B	AACATGCCCATTCGCTTTAC	64,2	406 pb
	ATTGACTTTGGGGCTGTTTG		

Posteriormente, se realiza un protocolo de purificado del ADN amplificado. Para ello se añade 1 µl de glucógeno, 125 µl de isopropanol y 20 µl de acetato amónico 10M a los 50µl de la amplificación, tras la centrifugación, se realizan una serie de lavados al sedimento con etanol al 70% y se deja secar.

La secuenciación de estos productos se realizó con el sistema ABI PRISM 3700 en el servicio Servicio de Secuenciación de la Universidad de Valencia. El producto de esta técnica es la secuencia tratada y procesada informáticamente lista para ser analizada. Para la visualización de secuencias se ha empleado el programa informático CHROMAS® versión 2.31 (Technelysium Pty Ltd.). Para el alineamiento de secuencias procedentes de la secuenciación se ha hecho servir el programa disponible online MULTIALIN® (Corpet F, 1988).

3.5 Métodos estadísticos

Se creó una base de datos con el paquete estadístico SPSS, versión 15.0 para Windows (SPSS Chicago, IL), donde se recogieron todos los datos recopilados a partir de los cuestionarios, así como las variables obtenidas mediante analíticas y los resultados del genotipado de las muestras. Antes de proceder al análisis estadístico, se efectuó una depuración de los datos, con el fin de corregir errores de transcripción. Todos los análisis se realizaron con el paquete estadístico SPSS mencionado.

En primer lugar, se analizaron los estadísticos descriptivos para conocer, describir y resumir la muestra de la población estudiada. Además, se analizaron las diferencias entre hombres y mujeres y entre obesos y no obesos de variables continuas y categóricas. Para las variables continuas o cuantitativas se calcularon la media y la desviación típica, comprobándose la normalidad de estas variables mediante gráficos de distribución de frecuencias. Cuando la variable original no mostró una distribución normal, se aplicó una transformación logarítmica, que fue el caso de los niveles plasmáticos de triglicéridos. Se empleó un test T-Student para comparar las medias de dos grupos independientes, previa determinación de la homogeneidad de las varianzas mediante el test de Levene, y el test ANOVA para la comparación de medias de más de 2 grupos. Las variables categóricas se expresaron en porcentaje. Para la comparación de porcentajes se utilizó un test Chi-Cuadrado (χ^2). Se consideraron que existían diferencias estadísticamente significativas cuando el p-valor era menor de 0,05.

Para estudiar el efecto de los factores sociodemográficos se analizó la media y la desviación típica de la edad de la población y se realizó un test T-Student para muestras independientes para comparar las diferencias existentes según el sexo y entre obesos y no obesos. En función del IMC se categorizó a los participantes como individuos con normopeso, sobrepeso y obesidad y mediante un test Chi-Cuadrado (χ^2) se evaluó las diferencias entre hombres y mujeres en el grado de obesidad. Paralelamente, mediante un test Chi-Cuadrado (χ^2) se analizaron las diferencias según el nivel de estudios de los participantes, agrupado en 4 categorías (sin estudios, estudios primarios, estudios secundarios y universitarios) entre hombres y mujeres y entre obesos y no obesos.

Por otro lado, para analizar el efecto de factores ambientales se crearon variables categóricas con respecto a los estilos de vida: fumador/exfumador/nunca fumador, sedentario/no sedentario y baja adherencia a la DM/alta adherencia a la DM. Primero, se determinaron las diferencias entre hombres y mujeres y entre obesos y no obesos según estas variables ambientales mediante un test Chi-Cuadrado (χ^2). Posteriormente, se analizó la media y la desviación típica de variables cuantitativas de interés según las variables dicotómicas de los factores ambientales (fumador/no fumador, sedentario/no sedentario y baja adherencia a la DM/alta adherencia a la DM) mediante una prueba de T-Student para grupos independientes, tanto en la población total como estratificado según el sexo y la obesidad.

Para estimar la asociación entre dos variables continuas se establecieron correlaciones divariadas con determinación del coeficiente de determinación de Pearson, posteriormente se realizaron correlaciones parciales para ajustar estas correlaciones por variables de confusión, mediante las variables del modelo 1: sexo

y edad, o las variables del modelo 2: sexo, edad e IMC. Se calculó la asociación entre niveles de adipocitoquinas y AGNE con factores ambientales y características clínicas mediante el cálculo de la media y la desviación típica con el empleo de un test T-Student para comparar las medias de dos grupos independientes, previa determinación de la homogeneidad de las varianzas mediante el test de Levene, y el test ANOVA para la comparación de medias de más de 2 grupos. También se clasificaron a los individuos en terciles según su frecuencia de consumo de grupos de alimentos a la semana y se evaluó su asociación con los niveles de adipocitoquinas y AGNE mediante el test ANOVA para la comparación de medias. Tras estos análisis se emplearon modelos multivariantes (ANCOVA) para ajustar el efecto de las asociaciones por variables de confusión, mediante el modelo 1 ajustado por sexo y edad, y el modelo 2 ajustado por sexo, edad e IMC.

Respecto al análisis genético, se estimaron las frecuencias genotípicas y alélicas. Los polimorfismos analizados se localizan en *locus* correspondientes a cromosomas autosómicos. De este modo, cada individuo es portador de 2 alelos, uno en cada copia del cromosoma, que se heredan del padre y de la madre de manera independiente. Así pues, para un hipotético locus con los alelos A y B, las 3 posibilidades de parejas de alelos son AA, AB y BB que corresponden a los 3 genotipos. Los individuos con dos alelos idénticos, AA o BB, se denominan homocigotos y los que tienen alelos diferentes (AB) heterocigotos (Iniesta R et al, 2005). En este trabajo las frecuencias genotípicas se expresaron en porcentaje $((AA/n)*100, (AB/n)*100, (BB/n)*100$; siendo n el tamaño de muestra, y las frecuencias alélicas se calcularon partir del recuento de cada genotipo en la población, a través de las siguientes fórmulas:

$$p = \frac{2 AA + AB}{2n} \qquad q = \frac{2 BB + AB}{2n}$$

siendo p y q las frecuencias alélicas para los alelos A y B respectivamente y n el número total de individuos.

Pero antes de proceder a los análisis de asociación de los genotipos obtenidos con otros parámetros, se comprobó si las frecuencias genotípicas estaban en equilibrio de Hardy-Weinberg, sobretodo para constatar que no hubiera errores en la interpretación de los resultados de genotipado. En una población panmíctica, suficientemente grande y no sometida a migración, mutación, deriva génica o selección, las frecuencias génicas y genotípicas se mantienen constantes de generación en generación. Cuando se cumplen estas condiciones tal población se dice que está en equilibrio de Hardy-Weinberg. Este equilibrio se alcanza tras una sola generación. Así, a partir de las frecuencias observadas de los diferentes

genotipos se procedió al cálculo del equilibrio de Hardy-Weinberg mediante la realización de un test de Chi-cuadrado (χ^2), a través del programa *LINKUTYL* (Rockefeller University, 2004), disponible en la página web <http://linkage.rockefeller.edu/ott/linkutil.htm>. Este programa compara las frecuencias observadas frente a las esperadas con el cálculo del Chi-cuadrado (χ^2) con la determinación del p-valor. Posteriormente, para la determinación de las frecuencias genotípicas según el sexo se realizaron tablas de contingencia y se comprobaron las diferencias según el sexo mediante un test de Chi-cuadrado (χ^2).

Tras la obtención de los genotipos, se procedió al cálculo del desequilibrio de ligamiento entre polimorfismos situados en el mismo gen o en regiones génicas próximas. Existen varias medidas de desequilibrio de ligamiento entre un par de polimorfismos (Weiss KM et al, 2002, Zondervan Kt et al, 2004). La más simple es D (coeficiente de desequilibrio) que mide la diferencia entre las frecuencias de haplotipos observadas y las esperadas a partir de las frecuencias individuales de cada alelo. Así, considerando el SNP A con variantes A1 y A2 con frecuencias $f(A1)$ y $f(A2)$ y el SNP B con variantes B1 y B2 con frecuencias $f(B1)$ y $f(B2)$:

$$D = f(A1B1) - f(A1)f(B1)$$

siendo $f(A1B1)$ la frecuencia del haplotipo constituido por los marcadores A1 y B1.

Sin embargo, D tiene el inconveniente de que depende de las frecuencias de los distintos alelos, por lo que no es útil para comparar el desequilibrio de ligamiento entre distintas regiones. Por este motivo se han diseñado nuevas medidas entre dos polimorfismos, siendo las más usadas D' y r^2 . D' se calcula ajustando el valor de D en función del máximo o mínimo valor que puede alcanzar a las frecuencias alélicas concretas: $D' = D/D_{\max}$ si $D > 0$, o $D' = D/D_{\min}$ si $D < 0$. su valor oscila entre -1 y 1. r^2 es el coeficiente de correlación entre los dos loci y se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$r^2 = D^2 / f(A1)f(B1) f(A2)f(B2)$$

Su valor está comprendido entre 0 y 1. r^2 es una medida más restrictiva que D' (Balding DJ, 2006). Así, si el alelo de menor frecuencia de un polimorfismo está siempre asociado a uno de los dos alelos del otro polimorfismo, el valor de D' será de 1. En cambio, r^2 sólo será 1 si cada uno de los alelos de un polimorfismo está asociado a un único alelo del otro polimorfismo. Por tanto, las frecuencias del alelo menor son idénticas en los dos polimorfismos y además se encuentran siempre en el mismo haplotipo (están en fase de acoplamiento). Además, el incremento en tamaño muestral necesario para mantener la potencia estadística si se emplea un

polimorfismo marcador en lugar del polimorfismo causal es inversamente proporcional a r^2 . Así, por ejemplo, si en lugar de genotipar el polimorfismo causal, se genotipara un polimorfismo marcador que presentase un valor de $r^2 = 0,5$ con el causal se precisaría el doble de muestras para mantener la potencia estadística (Zondervan Kt et al, 2004).

Otra medida también utilizada es LOD. Es una medida de la existencia o no de ligamiento entre dos loci. Concretamente, es el logaritmo en base 10 de la probabilidad (*Odds*) de ligamiento entre dos loci. Cuando el valor de LOD ≥ 3 se considera ligamiento establecido (Balding DJ, 2006).

En este trabajo se utilizó el programa Haploview versión 4.2 para calcular el desequilibrio de ligamiento. Este programa permite el cálculo D' , r^2 y LOD así como la obtención de gráficos en los que se representa la $D' \times 100$ entre dos loci distinto color que indican el grado de desequilibrio de ligamiento. De manera que, la determinación del color viene determinado por los valores de LOD y D' , así para un LOD < 2 el esquema aparece en blanco para un valor de $D' < 1$ y azul para $D' > 1$, pero si LOD > 2 el esquema aparece en distintas tonalidades de rojo según el valor de D' , siendo más rosa para $D' < 1$ e incrementando a rojo más intenso con un valor de $D' > 1$ (Barrett JC et al, 2005). Posteriormente, se procedió a la construcción de haplotipos a partir de las parejas de polimorfismos que habían mostrado un desequilibrio de ligamiento, en la que se agruparon los genotipos homocigotos o portadores de los alelos minoritarios que mostraron una frecuencia similar en su segregación analizado mediante un test Chi-cuadrado (χ^2).

Para proceder al análisis de los genotipos de los polimorfismos, inicialmente en aquellos polimorfismos en los que la prevalencia del genotipo minoritario era inferior al 10% se agruparon los homocigotos del alelo minoritario con los heterocigotos y se compararon con los homocigotos del alelo mayoritario, para aumentar el poder estadístico. Posteriormente, para realizar los análisis de asociación de cada polimorfismo con variables cuantitativas se calculó la media y la desviación típica de estas variables en cada genotipo y se aplicó una transformación logarítmica sobre la concentración de triglicéridos ya que no cumplían la normalidad. Para establecer si las diferencias en las medias de variables cuantitativas eran estadísticamente significativas se empleó, un test T-Student para comparar las medias de dos grupos independientes (2 genotipos), y el test ANOVA para la comparación de medias de más de 2 grupos (3 genotipos). Al realizar el test ANOVA se seleccionó un contraste polinómico que permitió obtener una estimación de la tendencia lineal de la asociación. Se consideraron diferencias estadísticamente significativas cuando el p-valor era inferior a 0,05.

Para ajustar el efecto de las asociaciones entre el genotipo de los polimorfismos con variables cuantitativas por variables de confusión, se emplearon modelos multivariantes (ANCOVA). En una asociación en la que la variable dependiente era el peso, el perímetro de cintura o el IMC se ajustó por edad, sexo, DMT2, hipercolesterolemia, tabaquismo, adherencia a la DM y actividad física. Igualmente, si la variable dependiente era la concentración de adiponectina, leptina o AGNE se ajustó por estas mismas variables; edad, sexo, DMT2, hipercolesterolemia, tabaquismo, adherencia a la DM y actividad física. Si la variable dependiente eran niveles de lípidos se ajustó por edad, sexo, IMC, DMT2, HTA, tabaquismo, adherencia a la DM, actividad física y tratamiento hipolipemiente. En el caso de que la variable dependiente era la glucosa se ajustó por edad, sexo, IMC, tabaquismo, adherencia a la DM, actividad física y tratamiento con insulina o antidiabéticos orales, y si la variable dependiente era PAS o PAD por edad, sexo, IMC, DMT2, tabaquismo, adherencia a la DM, actividad física y tratamiento antihipertensivo.

También se analizó la asociación de los polimorfismos seleccionados con variables categóricas, en concreto para examinar la asociación con patologías como obesidad, DMT2, hipercolesterolemia e HTA. Para ello, se calculó la OR (*odds ratio*), que indica la probabilidad de que los sujetos con el problema de salud estudiado estén expuestos al factor analizado (polimorfismo), comparada con la probabilidad de que lo estén las personas sin el problema de salud.

Clásicamente, el cálculo de las OR se ha reservado para los estudios de casos y controles, siendo la razón de prevalencia la medida de asociación típica de los estudios transversales, siendo este último el tipo de estudio realizado en el presente trabajo. Sin embargo, en la actualidad está ampliamente aceptado el cálculo de las OR en los estudios de prevalencia, indicando que son OR de prevalencia.

Las diferencias en la prevalencia de las frecuencias genotípicas entre obesos y no obesos, diabéticos y no diabéticos, hipertensos y no hipertensos se determinaron mediante tablas de contingencia y test de Chi-Cuadrado (χ^2). Se utilizó el análisis de regresión logística simple y múltiple para estimar la OR y su intervalo de confianza (IC) al 95% de la asociación entre el polimorfismo y enfermedad agrupando portadores del alelo minoritario frente a la categoría de referencia, homocigotos para el alelo mayoritario. El valor de P se calculó siempre con 2 colas y se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0,05$. Para ajustar por variables de confusión se utilizó el análisis de regresión multivariante, ajustando por edad y sexo puesto que se trata de un estudio transversal.

Los análisis de asociación de los polimorfismos con variables cuantitativas se realizaron posteriormente estratificados por sexo, obesidad, DMT2,

hipercolesterolemia e HTA para detectar la existencia de heterogeneidad en los resultados según estos factores, así como la posible interacción entre los polimorfismos y estos factores en la determinación de la asociación con las variables de interés. También, se estudiaron interacciones gen*ambiente, a partir de las variables dicotómicas ambientales (fumador/no fumador, sedentario/no sedentario y baja adherencia a la DM/alta adherencia a la DM) y las interacción gen*gen que influyeran sobre las asociaciones entre los polimorfismos con las variables de interés. Las interacciones gen*sexo, gen*obesidad, gen*DMT2, gen*hipercolesterolemia, gen*HTA, gen*ambiente y gen*gen se estimaron mediante el cálculo de la significación estadística del término de interacción empleando modelos multivariantes (ANCOVA) para calcular interacciones. Se consideraron estadísticamente significativas las interacciones cuando el p-valor era inferior de 0,05.

4.1 Generalidades

En este apartado se presentan los resultados de esta tesis fruto de un trabajo multidisciplinar que conlleva una labor en equipo para la obtención de conclusiones generales. En estos años de investigación se ha ido recopilando la información necesaria para poder realizar las actividades encaminadas para esta tesis. La doctoranda ha tenido la oportunidad de poder implicarse en todos y cada uno de los trabajos que envuelven el protocolo de investigación en genómica cardiovascular. De esta manera, la doctoranda se ha realizado diversas técnicas de laboratorio entre las que están incluidas; la extracción de ADN por varias técnicas hasta el análisis de polimorfismos por con distintas tecnologías, para llevar a cabo la realización de bases de datos genómicas, con el objetivo del tratamiento y análisis estadístico de los datos obtenidos. Además, también ha podido participar en la presentación de los resultados y redacción de manuscritos o comunicaciones a congresos.

Así, a continuación se presentan los resultados obtenidos del estudio transversal de la población del estudio PREDIMED del nodo de Valencia. Al inicio se reflejan las características generales de la muestra estudiada, las medidas antropométricas y bioquímicas estudiadas, los antecedentes clínicos personales y familiares y el consumo de fármacos. También, se presentan las características bioquímicas de la muestra según la obesidad, así como la influencia de características sociodemográficas y ambientales y su influencia en el desarrollo de la obesidad. Además, se presentan la asociación entre parámetros antropométricos, bioquímicos y ambientales con niveles de adipocitoquinas y de AGNE. Posteriormente se muestran los resultados de los genes estudiados, su prevalencia, la asociación con fenotipos relacionados y el análisis de interacciones gen*ambiente y gen*gen. Finalmente se muestra los resultados del estudio para la detección de polimorfismos en los exones del gen ADIPOQ.

4.2 Estudio PREDIMED

4.2.1 Características generales de la población

En este estudio se incluyeron 1050 participantes del estudio PREDIMED reclutados en el nodo de Valencia. Se trata de individuos de elevado riesgo cardiovascular, pero libres de haber sufrido un evento cardiovascular. Del total de participantes, 390 (37,1%) son hombres y 660 son mujeres (62,9%). Las principales características antropométricas y bioquímicas recogidas en la visita inicial de la población estudiada y en función del sexo se muestran en la tabla 4.1.

Tabla 4.1. Características antropométricas y bioquímicas de la población estudiada y en comparación por sexo.

	Población total (n=1050) Media ± DS	Hombres (n=390) Media ± DS	Mujeres (n=660) Media ± DS	P¹
Edad (años)	67 ± 6	66 ± 6	67 ± 5	0,016
Peso (kg)	76,3 ± 12,0	81,2 ± 11,8	73,5 ± 11,3	<0,001
IMC(kg/m²)	30,3 ± 4,4	29,4 ± 3,9	30,8 ± 4,6	<0,001
Cintura (cm)	102,7 ± 11,9	104,6 ± 11,5	101,5 ± 12,0	<0,001
CT (mg/dl)	205,9 ± 38,7	198,2 ± 37,1	210,4 ± 38,9	<0,001
c-LDL (mg/dl)	128,0 ± 35,2	124,3 ± 35,0	130,1 ± 35,2	0,012
c-HDL (mg/dl)	52,7 ± 13,0	48,0 ± 10,9	55,4 ± 13,4	<0,001
TG (mg/dl)	127,1 ± 65,0	134,0 ± 70,6	123,0 ± 61,2	0,009
Glucosa (mg/dl)	119,0 ± 38,5	125,8 ± 40,4	115,1 ± 36,8	<0,001
PAS (mmHg)	146,3 ± 20,1	147,3 ± 19,7	145,7 ± 20,3	0,235
PAD (mmHg)	81,4 ± 10,6	82,1 ± 11,0	80,9 ± 10,3	0,101
PCR (mg/L)#	3,1 ± 2,9	2,6 ± 2,6	3,3 ± 3,1	0,338
ICAM-1 (ng/mL)#	268,9 ± 139,8	245,9 ± 105,1	284,3 ± 156,7	0,174
VCAM-1 (ng/mL)#	1085,9 ± 416,4	1113,7 ± 434,1	1072,2 ± 408,4	0,578
IL-6 (pg/mL)#	3,3 ± 1,8	3,1 ± 1,6	3,5 ± 2,0	0,318

IMC: Índice de masa corporal; CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica; PCR: proteína C reactiva; ICAM: molécula de adhesión intercelular; VCAM; molécula de adhesión celular IL-6: interleuquina 6. #: medida realizada en una muestra n=150 (59 hombres, 91 mujeres). ¹: p valor de comparación de medias entre hombres y mujeres mediante un prueba T-Student.

Los hombres presentan un IMC menor que las mujeres resultando estadísticamente significativa esta diferencia ($29,4 \pm 3,4$ vs. $30,8 \pm 4,6$ Kg/m²; $p < 0,001$). En cambio, tanto el peso como el perímetro de la cintura son mayores en hombres que en mujeres, con diferencias también significativas ($p < 0,001$ en ambos casos). Paralelamente, las mujeres presentan mayor concentración de colesterol y de c-LDL ($p < 0,001$ y $p = 0,012$, respectivamente), pero también muestran mayor concentración de c-HDL ($p < 0,001$) y menor concentración de triglicéridos ($p = 0,009$) y de glucosa ($p < 0,001$) que los hombres. Sin embargo, no se observaron diferencias en los valores de presión arterial, ni en los marcadores de inflamación.

Por otro lado, se determinaron también las prevalencias de las características clínicas de la muestra estudiada, como se muestran en la tabla 4.2.. Al tratarse de una población con elevado riesgo cardiovascular la prevalencia de HTA e hipercolesterolemia es alta (74,6 % y 81,5% respectivamente), con una prevalencia intermedia de DMT2 (44,6%). Existe un mayor porcentaje de mujeres que presentan HTA y hipercolesterolemia que de hombres, sin embargo, la proporción de hombres diabéticos es mayor respecto a las mujeres de forma estadísticamente significativa ($p < 0,001$).

Tabla 4.2. Características clínicas de la población estudiada y en comparación por sexo.

	Población total (n=1050)	Hombres (n=390)	Mujeres (n=660)	P¹
Hipertensos (%)	81,5	75,4	85,0	<0,001
Diabéticos (%)	44,6	52,3	40,1	<0,001
Obesos (IMC \geq 30 kg/m²) (%)	49,8	42,1	54,3	<0,001
Hipercolesterolémicos (%)	74,6	70,6	76,9	0,023
Antecedentes de CI (%)	21,7	15,4	25,3	0,001
Medicación				
Hipolipemiente	49,6	49,2	49,8	0,972
Antihipertensivos	65,0	58,4	68,7	0,005
Insulina o ADO	45,6	42,2	57,9	0,002

CI: cardiopatía isquémica. ADO: antidiabéticos orales.

¹: p valor obtenido mediante un test de Chi- Cuadrado para comparar porcentajes entre hombres y mujeres.

Respecto a la prevalencia de obesidad en la muestra el 49,8% de los individuos son obesos. Según el rango del valor del IMC, el porcentaje de individuos con normopeso en la muestra estudiada es del 9,2%, los individuos con sobrepeso representan el 41% y presentan obesidad el 49,8% de los participantes.

Paralelamente, según el perímetro de la cintura en función de los puntos de corte de la Internacional Diabetes Federation para definir la obesidad abdominal, en la muestra estudiada el 82,2% de los hombres presentaron un perímetro de cintura superior a 94cm y el 96,2% de las mujeres una cintura superior a 80cm.

4.2.2 Estudio de características generales de la población en relación a la obesidad

Los valores medios de características bioquímicas así como del perímetro de la cintura que muestran los participantes de la muestra estudiada en función de la obesidad se muestran en la tabla 4.3.

Tabla 4.3. Características antropométricas y bioquímicas de la población estudiada en relación a la obesidad

	Obesos	No obesos	P¹
	(n=523)	(n=527)	
	Media ± DS	Media ± DS	
Edad (años)	67 ± 6	67 ± 6	0,873
Cintura (cm)	109,0 ± 10,1	96,3 ± 10,1	<0,001
CT (mg/dl)	207,5 ± 39,1	204,4 ± 38,0	0,190
c-LDL (mg/dl)	128,7 ± 35,1	127,4 ± 35,1	0,549
c-HDL (mg/dl)	51,4 ± 11,7	54,0 ± 14,2	0,002
TG (mg/dl)	134,6 ± 66,8	119,3 ± 61,8	<0,001
Glucosa (mg/dl)	121,0 ± 35,6	117,1 ± 41,3	0,109
PAS (mmHg)	148,1 ± 19,8	144,5 ± 20,1	0,003
PAD (mmHg)	83,1 ± 10,8	79,5 ± 10,0	<0,001
PCR (mg/L)#	3,0 ± 2,5	3,1 ± 3,3	0,921
ICAM-1 (ng/mL)#	269,1 ± 148,7	271,0 ± 126,1	0,949
VCAM-1 (ng/mL)#	1096,5 ± 417,2	1074,7 ± 420,9	0,770
IL-6 (pg/mL)#	3,2 ± 1,6	3,5 ± 2,2	0,459

IMC: Índice de masa corporal; CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica; PCR: proteína C reactiva; ICAM: molécula de adhesión intercelular; VCAM; molécula de adhesión celular vascular IL-6: interleuquina 6. #: medida realizada en una muestra n=150 (90 obesos, 60 no obesos). ¹: p valor de comparación de medias entre obesos y no obesos mediante un prueba T-Student.

Los resultados muestran que los obesos presentan de manera significativa mayor perímetro de la cintura junto con mayores niveles de triglicéridos y de presión arterial, en cambio muestran menores niveles de c-HDL en comparación con los no obesos. No se observaron diferencias según la obesidad en los niveles de marcadores de inflamación. No se detectó heterogeneidad en los resultados al realizarlos según el sexo.

4.2.3 Estudio de características relacionadas con el desarrollo de la obesidad

En esta apartado se muestran las características sociodemográficas y ambientales que presenta la muestra en general y en relación con la obesidad. Entre los factores sociodemográficos se muestran datos de edad, sexo y nivel cultural. Entre los factores ambientales se indica el consumo de tabaco, la conducta sedentaria y la adherencia a la Dieta Mediterránea. También se muestran los datos antropométricos de peso, IMC y perímetro de la cintura, junto con datos bioquímicos generales en función de los factores ambientales.

4.2.3.1 Estudio de factores sociodemográficos y su asociación con obesidad

4.2.3.1.1 Edad y sexo

La media de edad de la muestra estudiada fue de 67 ± 6 años. No se encontraron diferencias significativas en la media de edad entre individuos obesos y no obesos ($67,1\pm 6,0$ vs $67,0\pm 6,4$ respectivamente, $p=0,791$). Entre los no obesos, los hombres presentan una media de edad de 66 ± 6 años y las mujeres de 67 ± 6 años ($p=0,053$), y entre los obesos, la media de edad fue de 66 ± 6 años para los hombres y 67 ± 5 años para las mujeres ($p=0,293$).

De los 1050 participantes del estudio, el 42,1% de los hombres son obesos frente al 54,3% de las mujeres, con diferencias significativas en la prevalencia de la obesidad según el sexo ($p<0,01$). Según el rango del valor del IMC, en hombres se observa mayor prevalencia de individuos con normopeso y sobrepeso que en mujeres (hombres: 12,5% y 45,5% respectivamente, mujer: 7,3% y 38,4%, respectivamente). En cambio, en mujeres se detecta mayor porcentaje de personas con obesidad que en hombres (hombres: 42,1%; mujer: 54,3%), resultando significativas estas diferencias ($p<0,001$). En la figura 4.1. se indica la prevalencia del rango de obesidad según el sexo.

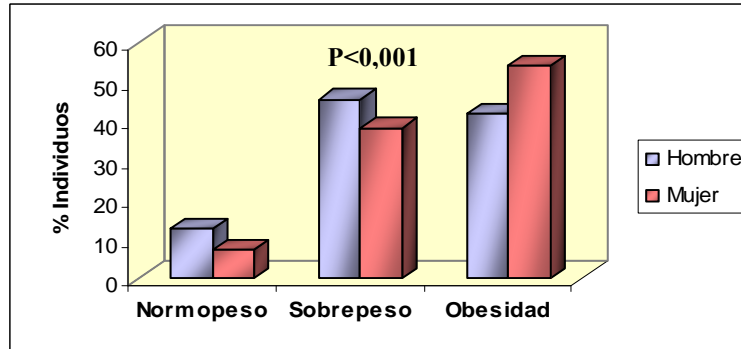


Figura 4.1. Prevalencia del rango de obesidad en función del sexo

4.2.3.1.2 Nivel de estudios

Respecto al nivel de estudios, en la tabla 4.4. se muestra la prevalencia de participantes según el nivel de estudios, tanto en la muestra total como en función del sexo y del grado de obesidad. Se indica que el 76,4% de los participantes tan solo realizó estudios primarios y el 4,6% no poseían estudios. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el nivel de estudios según el sexo ($p < 0,001$), pues el 9,5% de los hombres tenían estudios universitarios frente al 6,2% de las mujeres, además un 1,4% de los hombres no tenía estudios mientras que las mujeres eran un 6,4%. Al comparar el nivel estudios según la obesidad, el 71% de los no obesos realizaron estudios primarios frente al 81,7% de los individuos obesos, además el 10,4% de los no obesos tenían estudios universitarios en comparación con el 4,6% de los obesos, detectándose diferencias significativas en el nivel de estudios según la obesidad ($P < 0,001$).

Tabla 4.4. Valores de porcentaje de individuos según en nivel de estudios en la población estudiada y en función del sexo y la obesidad.

	Total (n=1050) %	Hombres (n=390) %	Mujeres (n=660) %	P ¹	No obesos (n=527) %	Obesos (n=523) %	P ¹
Sin estudios	4,6	1,4	6,4		4,2	5	
Estudios Primarios	76,4	74,6	77,5		71	81,7	
Estudios Secundarios	11,6	14,5	9,9	<0,001	14,4	8,6	<0,001
Estudios Universitarios	7,4	9,5	6,2		10,4	4,6	

¹: p valor obtenido mediante un test de Chi- Cuadrado para comparar porcentajes entre hombres y mujeres y entre obesos y no obesos

Al analizar la relación entre el nivel de estudios y la obesidad en hombres y mujeres no se detectó heterogeneidad en los resultados según el sexo.

4.2.3.2 Estudio de factores ambientales y su asociación con obesidad

4.2.3.2.1 Consumo de tabaco

El 12,5 % de los individuos incluidos en el estudio son fumadores y el 22,3% exfumadores. Los hombres presentan un porcentaje más elevado de fumadores y de exfumadores que las mujeres hallándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$). Al comparar el hábito tabáquico según la obesidad también se encontraron diferencias significativas ($p = 0,003$), con mayor prevalencia de no obesos fumadores que obesos fumadores (14,2% vs 10,9%). En la tabla 4.5. se muestra la prevalencia de participantes según el hábito de consumo de tabaco para la muestra completa, en función del sexo y según el grado de obesidad.

Tabla 4.5. Valores de porcentaje de individuos según su consumo de tabaco en la población estudiada y en función del sexo y la obesidad.

	Total (n=1050) %	Hombres (n=390) %	Mujeres (n=660) %	P ¹	No obesos (n=527) %	Obesos (n=523) %	P ¹
Fumador	12,5	26,3	4,4		14,2	10,9	
Exfumador	22,3	46,6	8,1	<0,001	25,6	18,7	0,003
Nunca fumador	65,2	27,1	87,5		60,2	70,4	

¹: p valor obtenido mediante un test de Chi- Cuadrado para comparar porcentajes entre hombres y mujeres y entre obesos y no obesos

Entre los fumadores de la muestra se obtuvo un consumo medio de 15,1±9,8 cigarrillos al día, con un mínimo de 1 y un máximo de 40 cigarros al día. No se observaron diferencias significativas en el consumo medio de cigarrillos entre sexos (15,6±9,8 cig./día en hombres y 13,9±9,3 cig./día en mujeres, $p = 0,437$), ni en función de la obesidad (14,8±10,11 cig./día en no obesos y 15,7±9,3 cig./día en obesos, $p = 0,676$). Tampoco se observó heterogeneidad en los resultados al analizar las diferencias según el hábito tabáquico en relación con la obesidad según el sexo.

Posteriormente, se analizaron las diferencias entre fumadores actuales y no fumadores con respecto a variables antropométricas, niveles de lípidos y presión arterial. Los resultados se muestran en la tabla 4.6.:

Tabla 4.6. Diferencias en parámetros antropométricos, niveles plasmáticos de lípidos y tensión arterial entre fumadores y no fumadores en la población estudiada.

	Fumador (n=135)	No fumador (n=915)	P¹
	Media ± DS	Media ± DS	
Edad (años)	64 ± 6	68 ± 6	<0,001
Peso (kg)	79,7 ± 13,1	75,8 ± 11,8	0,001
IMC(kg/m²)	29,4 ± 4,1	30,4 ± 4,4	0,010
Cintura (cm)	102,9 ± 12,1	102,7 ± 11,9	0,855
CT (mg/dl)	209,0 ± 44,8	205,5 ± 37,7	0,336
c-LDL (mg/dl)	129,5 ± 38,3	127,8 ± 34,6	0,623
c-HDL (mg/dl)	48,6 ± 13,9	53,3 ± 12,8	<0,001
TG (mg/dl)	140,7 ± 73,0	124,8 ± 63,4	0,015
Glucosa (mg/dl)	119,9 ± 38,3	118,9 ± 38,6	0,775
PAS (mmHg)	147,6 ± 20,1	146,2 ± 20,1	0,453
PAD (mmHg)	83,5 ± 10,2	81,1 ± 10,6	0,017

IMC: Índice de masa corporal; CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica.

¹: p valor de comparación de medias mediante un prueba T-Student.

Se observa que los fumadores presentan de manera significativa mayor peso, PAD y niveles de triglicéridos, en cambio, muestran menor edad y niveles de c-HDL, como también menor IMC. Se observaron las mismas diferencias en hombres y mujeres, así como en obesos y no obesos.

4.2.3.2.2 Actividad física

En la muestra estudiada al tratarse de individuos de elevado riesgo cardiovascular el 27,2% presentaban un estilo de vida sedentario. Se encontraron diferencias significativas según el sexo ya que en hombres el 21,4% se consideraron sedentarios frente al 30,6% de las mujeres (p=0,001). Además, al tratarse de una población de edad avanzada y alto riesgo cardiovascular, el ejercicio más frecuentemente realizado fue salir a pasear ya que el 72,3% de los participantes salían a pasear una media de 3,9±2,8 días a la semana, con una duración del paseo de 42,0±37,8 minutos, sin alcanzar diferencias significativas en la realización de esta actividad entre hombres y mujeres (p=0,059).

En relación a la obesidad, se observa un mayor porcentaje de individuos obesos sedentarios frente a los no obesos (31,0% vs 23,4%; $p=0,007$), detectándose un mayor riesgo de obesidad entre los individuos sedentarios (OR= 1,47 IC95% (1,11-1,94) $p=0,007$), manteniéndose la significación estadística tras ajustar por sexo y edad (OR= 1,40 IC95% (1,05-1,85) $p=0,020$). Al realizar estos análisis en hombres y mujeres los resultados fueron homogéneos en ambos sexos.

Posteriormente, se analizaron las diferencias entre sedentario y no sedentario con respecto a variables antropométricas, niveles de lípidos y presión arterial. Los resultados se muestran en la tabla 4.7.:

Tabla 4.7. Diferencias en parámetros antropométricos, niveles plasmáticos de lípidos y tensión arterial entre sedentarios y no sedentarios en la población estudiada.

	Sedentario (n=294)	No Sedentario (n=756)	P ¹
	Media ± DS	Media ± DS	
Edad (años)	67 ± 6	67 ± 6	0,723
Peso (kg)	77,5 ± 13,0	75,7 ± 11,5	0,033
IMC(kg/m²)	31,1 ± 4,7	29,9 ± 4,1	<0,001
Cintura (cm)	105,2 ± 12,2	101,6 ± 11,8	<0,001
CT (mg/dl)	208,9 ± 39,3	205,1 ± 38,8	0,167
c-LDL (mg/dl)	129,1 ± 36,0	127,8 ± 35,3	0,609
c-HDL (mg/dl)	51,2 ± 12,8	53,2 ± 13,1	0,029
TG (mg/dl)	135,4 ± 70,5	123,4 ± 63,2	0,009
Glucosa (mg/dl)	126,3 ± 43,0	115,7 ± 36,1	<0,001
PAS (mmHg)	148,5 ± 20,6	145,9 ± 19,9	0,072
PAD (mmHg)	82,0 ± 10,5	81,4 ± 10,5	0,445

IMC: Índice de masa corporal; CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos. ¹: p valor de comparación de medias mediante un prueba T-Student.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas en el perímetro de cintura, peso, IMC, glucosa, c-HDL y TG, de modo que los sedentarios presentan menores niveles de c-HDL y mayor perímetro de cintura, peso e IMC y concentración plasmática de glucosa y TG. Las diferencias en la PAS quedaron en el límite de la significación estadística. Paralelamente, se observó que un estilo de vida no sedentario presentaba la misma

influencia en los parámetros antropométricos en hombres y mujeres, así como un mejor perfil lipídico tanto en hombres y mujeres como en obesos y no obesos.

4.2.3.2.3 Dieta

Para estudiar la relación entre obesidad y el seguimiento de un patrón alimenticio característico de la Dieta Mediterránea se comprobó la adherencia que esta muestra tenía en su alimentación a la Dieta Mediterránea a través del cuestionario de 14 puntos. Se comprobó el porcentaje de individuos que había obtenido cada una de las puntuaciones posibles. Así, se observó que nuestra muestra tenía un adherencia media a la Dieta Mediterránea, ya que la mayoría de nuestros participantes obtuvieron una puntuación entre 7 (15,1%), 8 (18,8%) y 9 (17,9%) puntos. Ninguno de los participantes obtuvo una puntuación inferior a 3 puntos. No se encontraron diferencias significativas en la adherencia a la Dieta Mediterránea entre hombres y mujeres ($p=0,313$). En cambio, se observó un mayor porcentaje de individuos no obesos con una puntuación de 9 puntos (19,5%) frente a los obesos cuyo mayor porcentaje obtuvo 8 puntos (20,7%) ($p=0,001$).

Se realizó un punto de corte en la escala total de 14 puntos para realizar dos grupos con igual porcentaje de individuos en función del grado de adherencia a la Dieta Mediterránea. Así, los que tenían una baja adherencia a la Dieta Mediterránea fueron los que obtuvieron una puntuación de 3 a 8 puntos (50,1%) y los que obtuvieron entre 9 y 14 puntos fueron los de alta adherencia a la Dieta Mediterránea (49,9%).

Según el grado de adherencia a la Dieta Mediterránea, el 57,3% de los no obesos tiene una alta adherencia frente al 42,7% de los obesos, se observa que una alta adherencia a la Dieta Mediterránea se asocia con un menor riesgo de obesidad ($OR= 0,57$ IC95% (0,44-0,73) $p<0,001$), manteniéndose la significación estadística tras ajustar por sexo y edad ($OR= 0,56$ IC95% (0,48-0,72) $p<0,001$). Tras estratificar por sexo, en hombres esta asociación se quedó próxima a la significación estadística ($p=0,093$), manteniéndose en mujeres ($OR= 0,50$ IC95% (0,37-0,69) $p<0,001$), incluso tras ajustar por edad ($OR= 0,49$ IC95% (0,36-0,68) $p<0,001$) (Figura 4.2.).

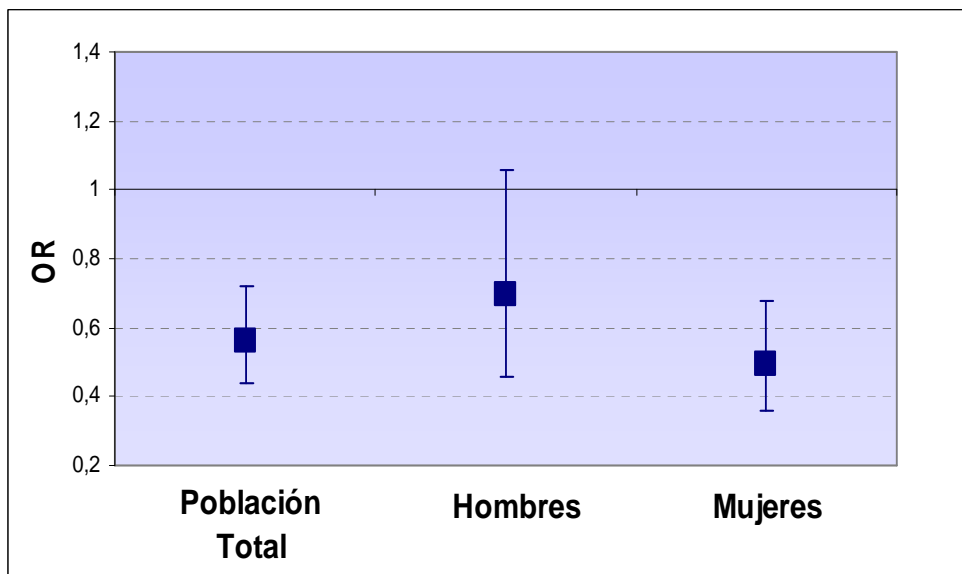


Figura 4.2. Representación del riesgo de obesidad (OR) asociado a la adherencia a la Dieta Mediterránea en la muestra estudiada tras ajustar por sexo y edad, y según el sexo tras ajustar por edad.

Posteriormente, se analizaron las diferencias entre los individuos que consumen una dieta con elevado grado de adherencia a la DM frente a los que consumen una dieta de bajo grado de adherencia a la DM con respecto a variables antropométricas, niveles de lípidos y presión arterial. Los resultados se muestran en la tabla 4.8.

Se observa que los individuos que consumen una dieta con un elevado grado de adherencia a la DM presentan de manera estadísticamente significativa menor IMC y perímetro de la cintura, así como también muestran mayores niveles de c-HDL. Paralelamente, al analizar éstas diferencias según el sexo y la obesidad se observaron las mismas diferencias en función del grado de adherencia a la DM.

Tabla 4.8. Diferencias en parámetros antropométricos, niveles plasmáticos de lípidos y tensión arterial entre individuos que consumen una dieta con elevado o bajo grado de adherencia a la DM en la población estudiada.

	Alta adherencia DM (n=524)	Baja adherencia DM (n=526)	P ¹
	Media ± DS	Media ± DS	
Edad (años)	67 ± 7	67 ± 6	0,624
Peso (kg)	75,5 ± 12,2	76,9 ± 11,9	0,053
IMC(kg/m²)	29,7 ± 4,4	30,8 ± 4,3	<0,001
Cintura (cm)	101,4 ± 11,8	103,9 ± 11,9	0,001
CT (mg/dl)	205,6 ± 38,0	206,2 ± 39,2	0,810
c-LDL (mg/dl)	127,4 ± 34,7	128,6 ± 35,3	0,576
c-HDL (mg/dl)	53,7 ± 13,2	51,6 ± 12,6	0,008
TG (mg/dl)	124,2 ± 65,2	128,9 ± 65,3	0,181
Glucosa (mg/dl)	117,3 ± 37,0	120,9 ± 40,2	0,137
PAS (mmHg)	145,7 ± 20,5	146,9 ± 19,6	0,358
PAD (mmHg)	81,9 ± 10,5	80,8 ± 10,6	0,082

DM: Dieta Mediterránea; IMC: Índice de masa corporal; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos. ¹: p valor de comparación de medias mediante un prueba T-Student.

4.2.4 Estudio de los niveles de adipocitoquinas y de AGNE

En este apartado se presentan los valores de parámetros bioquímicos específicos medidos en la población del estudio PREDIMED. Se exponen valores de adiponectina, leptina y AGNE medidos en plasma y su correlación por parámetros antropométricos y bioquímicos generales, así como la modulación en estos parámetros según la influencia de ciertos factores ambientales y su relación con obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular.

4.2.4.1 Niveles de adipocitoquinas y AGNE de los participantes

A continuación, se muestran en la tabla 4.9. los valores medios de adiponectina, leptina y AGNE medidos en plasma en la población total y en función del sexo.

Tabla 4.9. Niveles medios de adiponectina, leptina y AGNE en la población estudiada y en comparación con el sexo

	Población total (n=1050)	Hombres (n=390)	Mujeres (n=660)	
	Media ± DS	Media ± DS	Media ± DS	P¹
Adiponectina (µg/mL)	10,4 ± 5,7	7,8 ± 4,0	12,0 ± 6,0	<0,001
Leptina (ng/mL)	26,6 ± 22,7	13,2 ± 13,7	34,3 ± 23,3	<0,001
AGNE (mg/dL)	17,1 ± 7,3	16,4 ± 7,1	17,5 ± 7,4	0,016

AGNE: ácidos grasos no esterificados. ¹: p valor de comparación de medias entre hombres y mujeres mediante un prueba T-Student

En los tres parámetros se observan diferencias significativas según el sexo, presentando las mujeres mayores niveles de adiponectina, leptina y AGNE que los hombres.

4.2.4.2 Estudios de asociación entre parámetros antropométricos y bioquímicos con adipocitoquinas y AGNE

En esta población de elevado riesgo cardiovascular se estudió la correlación existente entre parámetros antropométricos y bioquímicos con niveles de adiponectina, leptina y AGNE. En la tabla 4.10. se indica los valores del coeficiente de correlación observados en cada caso.

La adiponectina muestra una fuerte correlación positiva con los niveles de c-HDL y más débil con el colesterol e inversa con los niveles de triglicéridos y glucosa, incluso tras ajustar por las variables incluidas tanto en el modelo 1 como en el 2 (colesterol; modelo 1: p=0,012, modelo 2: p=0,010; c-HDL, triglicéridos y glucosa: p<0,001 en ambos modelos). En cambio, los AGNE mostraron una correlación negativa con c-HDL, alcanzando la significación tras ajustar por sexo y edad (p=0,013), y positiva con triglicéridos, glucosa y CT, incluso tras ajustar por las variables tanto del modelo 1 (triglicéridos y glucosa: p<0,001, CT: p=0,005) como del modelo 2 (triglicéridos y glucosa: p<0,001, CT: p=0,008). Además, los AGNE también mostraron una correlación positiva tanto con PAS como con PAD, manteniendo la significación tras ajustar por las variables del modelo 1 (PAS: p=0,031; PAD: p=0,016), aunque ambas correlaciones perdieron la significación tras

ajustar por las variables del modelo 2 (PAS: $p=0,113$; PAD; $p=0,164$). La leptina mostró una correlación positiva con PAD, incluso tras ajustar por las variables del modelo 1 ($p<0,001$), pero sin alcanzar la significación en el modelo 2 ($p=0,441$). En cambio, la correlación entre leptina y triglicéridos solo alcanzó la significación estadística tras ajustar por las variables del modelo 1 (modelo 1: $p=0,012$; modelo 2: $p=0,687$). Los niveles de leptina y c-HDL se correlacionaron de manera inversa tras ajustar por el modelo 1 ($r=-0,086$, $p=0,011$), siendo inversa pero no significativa esta relación tras ajustar por las variables del modelo 2 ($r=-0,020$, $p=0,61$). Paralelamente, la leptina también mostró una correlación negativa con glucosa, sin alcanzar la significación tras ajustar por las variables de ambos modelos (modelo 1: $p=0,172$; modelo 2: $p=0,136$).

Tabla 4.10. Coeficiente de correlación entre adiponectina, leptina y AGNE con parámetros antropométricas y bioquímicos en la población estudiada.

	Adiponectina ($\mu\text{g/mL}$)		Leptina (ng/mL)		AGNE (mg/dl)	
	r	P ¹	r	P ¹	r	P ¹
Peso (kg)	-0,155	<0,001	0,233	<0,001*	0,130	<0,001*
IMC(kg/m^2)	0,008	0,812	0,481	<0,001*	0,182	<0,001*
Cintura (cm)	-0,088	0,008*	0,260	<0,001*	0,161	<0,001*
CT (mg/dl)	0,098	0,002*§	0,035	0,263	0,093	0,003*§
c-LDL (mg/dl)	0,062	0,060	-0,014	0,668	0,012	0,718
c-HDL (mg/dl)	0,393	<0,001*§	0,065	0,041*	-0,052	0,103*
TG (mg/dl)	-,0240	<0,001*§	0,048	0,133*	0,253	<0,001*§
Glucosa (mg/dl)	-0,203	<0,001*§	-0,088	0,006	0,273	<0,001*§
PAS (mmHg)	0,043	0,188	0,027	0,393	0,067	0,034*
PAD (mmHg)	-0,018	0,578	0,070	0,027*	0,068	0,033*

AGNE: ácidos grasos no esterificados; IMC: Índice de masa corporal; CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica.

r: coeficiente de correlación de Pearson en modelo no ajustado.

¹: p valor de correlación entre variables en un modelo no ajustado. *: p valor < 0,05 de correlación entre variables en el modelo 1 ajustado por sexo y edad. §: p valor < 0,05 de correlación de variables en el modelo 2 ajustado por sexo, edad e IMC.

Por otro lado, los niveles plasmáticos de leptina y AGNE se correlacionaron positivamente con peso, IMC y perímetro de la cintura, manteniéndose estas asociaciones tras ajustar por las variables sexo y edad del modelo 1 ($p<0,001$ en todos los casos), mientras que los niveles de adiponectina se correlacionaron negativamente con el peso y el

perímetro de la cintura, quedándose en el límite de la significación tras ajustar por las variables del modelo 1 (peso: $p=0,098$; perímetro de la cintura: $p=0,049$).

Posteriormente, se realizaron estas mismas correlaciones según el sexo. En la tabla 4.11. se muestran los coeficientes de correlación obtenidos entre los niveles de adiponectina y parámetros antropométricos y bioquímicos en hombre y mujeres.

Tabla 4.11. Coeficiente de correlación entre adiponectina y parámetros antropométricos y bioquímicos de la población estudiada según el sexo.

	Adiponectina ($\mu\text{g/mL}$)			
	Hombre (n=390)		Mujer (n=660)	
	r	P ¹	r	P ¹
Peso (kg)	-0,014	0,791	-0,076	0,061
IMC(kg/m²)	0,070	0,191	-0,090	0,027*
Cintura (cm)	0,039	0,472	-0,076	0,068*
CT (mg/dl)	-0,011	0,842	0,076	0,064
c-LDL (mg/dl)	0,018	0,742	0,044	0,287
c-HDL (mg/dl)	0,248	<0,001*§	0,362	<0,001*§
TG (mg/dl)	-0,118	0,028*§	-0,290	<0,001*§
Glucosa (mg/dl)	-0,062	0,249	-0,217	<0,001*§
PAS (mmHg)	0,108	0,046	0,045	0,277
PAD (mmHg)	0,058	0,280	-0,022	0,599

IMC: Índice de masa corporal; CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica.

R: coeficiente de correlación de Pearson en modelo no ajustado.

¹: p valor de correlación entre variables en un modelo no ajustado. *: p valor < 0,05 de correlación entre variables en el modelo 1 ajustado por edad. §: p valor < 0,05 de correlación de variables en el modelo 2 ajustado por edad e IMC.

Los resultados indican que en ambos sexos la adiponectina se correlacionó positivamente con los niveles de c-HDL y negativamente con los niveles de triglicéridos, incluso tras ajustar por las variables del modelo 1 y 2 (c-HDL y triglicéridos: $p<0,001$ en ambos sexo en los dos modelos). En cambio, la correlación entre adiponectina y glucosa solo se observó en mujeres, manteniéndose significativa tras ajustar por ambos modelos ($p<0,001$ en ambos modelos). Además, en mujeres se mantuvo la correlación inversa entre adiponectina y perímetro de la cintura, y también se detectó que se correlacionaba de

manera negativa con IMC, manteniendo la significación ambas correlaciones tras ajustar por edad (cintura: $p=0,025$; IMC: $p=0,010$).

En la tabla 4.12. se indican los coeficientes de correlación obtenidos entre los niveles de leptina y parámetros antropométricos y bioquímicos según el sexo.

Tabla 4.12. Coeficiente de correlación entre leptina y parámetros antropométricos y bioquímicos de la población estudiada según el sexo.

	Leptina (ng/mL)			
	Hombre (n=390)		Mujer (n=660)	
	r	P ¹	r	P ¹
Peso (kg)	0,389	<0,001*	0,473	<0,001*
IMC(kg/m²)	0,402	<0,001*	0,496	<0,001*
Cintura (cm)	0,337	<0,001*	0,392	<0,001*
CT (mg/dl)	-0,063	0,234	-0,030	0,445
c-LDL (mg/dl)	-0,080	0,134	-0,052	0,195
c-HDL (mg/dl)	-0,051	0,332	-0,069	0,082
TG (mg/dl)	0,050	0,346	0,110	0,006*
Glucosa (mg/dl)	0,052	0,328	-0,060	0,129
PAS (mmHg)	0,081	0,123	0,045	0,254
PAD (mmHg)	0,114	0,031*	0,109	0,006*

IMC: Índice de masa corporal; CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica.

r: coeficiente de correlación de Pearson en modelo no ajustado.

¹: p valor de correlación entre variables en un modelo no ajustado. *: p valor < 0,05 de correlación entre variables en el modelo 1 ajustado por edad. §: p valor < 0,05 de correlación de variables en el modelo 2 ajustado por edad e IMC.

Se observa que tanto en hombres como en mujeres se mantuvieron las correlaciones positivas entre leptina y parámetros antropométricos, y leptina y PAD, incluso tras ajustar por edad ($p<0,001$ en ambos sexos para parámetros antropométricos; PAD: hombres: $p=0,033$; mujer: $p=0,002$). En mujeres también se observó que los niveles de triglicéridos se correlacionaban positivamente con los niveles de leptina, manteniéndose esta relación tras ajustar por edad (modelo 1: $p=0,019$), pero sin ser significativas al incluir el IMC entre las variables de confusión (modelo 2: $p=0,962$).

En la tabla 4.13. se muestran los coeficientes de correlación obtenidos entre los niveles de AGNE con parámetros antropométricos y bioquímicos en hombres y mujeres.

Tabla 4.13. Coeficiente de correlación entre AGNE y parámetros antropométricos y bioquímicos de la población estudiada según el sexo.

	AGNE (mg/dl)			
	Hombre (n=390)		Mujer (n=660)	
	r	P ¹	r	P ¹
Peso (kg)	0,111	0,031	0,190	<0,001*
IMC(kg/m²)	0,112	0,031	0,201	<0,001*
Cintura (cm)	0,107	0,041	0,210	<0,001*
CT (mg/dl)	0,117	0,024*§	0,064	0,106
c-LDL (mg/dl)	0,012	0,815	0,002	0,953
c-HDL (mg/dl)	-0,007	0,894	-0,107	0,007*
TG (mg/dl)	0,257	<0,001*§	0,262	<0,001*§
Glucosa (mg/dl)	0,247	<0,001*§	0,312	<0,001*§
PAS (mmHg)	0,107	0,040	0,051	0,200
PAD (mmHg)	0,099	0,057	0,055	0,165

AGNE: ácidos grasos no esterificados; IMC: Índice de masa corporal; CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica.

r: coeficiente de correlación de Pearson en modelo no ajustado.

¹: p valor de correlación entre variables en un modelo no ajustado. *: p valor < 0,05 de correlación entre variables en el modelo 1 ajustado por edad. §: p valor < 0,05 de correlación de variables en el modelo 2 ajustado por edad e IMC.

No se detectó heterogeneidad según el sexo en las correlaciones observadas entre los AGNE y los triglicéridos y la glucosa, siendo significativas en ambos sexos tras ajustar por las variables incluidas en ambos modelos (triglicéridos y glucosa: $p < 0,001$ para ambos sexos en los dos modelos). Paralelamente, también se observó las correlaciones entre los AGNE y datos antropométricos en ambos sexos, quedándose en el límite de la significación en hombres y manteniéndose significativas en mujeres tras ajustar por edad (hombre: peso: $p=0,050$; IMC: $p=0,097$; cintura: $p=0,084$; mujer: $p < 0,001$ en todos los parámetros antropométricos). La correlación entre AGNE y colesterol solo se observó en hombres, siendo significativa tras ajustar por las variables incluidas en ambos modelos (modelo 1: $p=0,008$; modelo 2: $p=0,017$). En cambio, en mujeres se detectó que los AGNE se correlacionaban de manera negativa con c-HDL, incluso tras ajustar por edad ($p=0,007$), quedándose al límite de la significación al ajustar por edad e IMC ($p=0,058$).

A continuación, se realizaron estos análisis según el grado de obesidad de los participantes. En la tabla 4.14. se muestran los coeficientes de correlación obtenidos entre

adiponectina y perímetro de la cintura y parámetros bioquímicos en individuos con normopeso, sobrepeso y obesidad.

Tabla 4.14. Coeficiente de correlación entre adiponectina y perímetro de la cintura y parámetros bioquímicos de la población estudiada según el grado de obesidad

	Adiponectina ($\mu\text{g/mL}$)					
	Normopeso (n=98)		Sobrepeso (n=430)		Obesidad (n=522)	
	r	P ¹	r	P ¹	r	P ¹
Cintura (cm)	-0,246	0,026	-0,128	0,014	-0,017	0,709
CT (mg/dl)	0,088	0,421	0,084	0,104	0,127	0,006*
c-LDL (mg/dl)	-0,024	0,824	0,033	0,528	0,125	0,007*
c-HDL (mg/dl)	0,459	<0,001*	0,418	<0,001*	0,358	<0,001*
TG (mg/dl)	-0,154	0,158	-0,248	<0,001*	-0,240	<0,001*
Glucosa (mg/dl)	-0,190	0,080	-0,210	<0,001*	-0,206	<0,001*
PAS (mmHg)	0,061	0,582	0,050	0,333	0,041	0,373
PAD (mmHg)	0,054	0,629	-0,038	0,465	0,001	0,974

IMC: Índice de masa corporal; CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica.

r: coeficiente de correlación de Pearson en modelo no ajustado.

¹: p valor de correlación entre variables en un modelo no ajustado. *: p valor < 0,05 de correlación entre variables tras ajustar por sexo y edad.

Los resultados muestran que la adiponectina se correlaciona con los niveles de c-HDL independientemente del grado de obesidad, incluso tras ajustar por variables de confusión (normopeso: $p=0,016$; sobrepeso y obesidad: $p<0,001$). Sin embargo, la correlación inversa entre adiponectina y perímetro de la cintura se detectó en individuos con normopeso y sobrepeso pero no en los obesos, sin ser significativa en ningún grupo tras ajustar por sexo y edad (normopeso: $p=0,517$, sobrepeso: $p=0,556$, obesidad: $p=0,573$). En individuos con sobrepeso y obesidad se detectó las correlaciones negativas que presentaba la adiponectina con los niveles de triglicéridos y glucosa, manteniéndose tras ajustar por las variables de confusión ($p<0,001$ para ambos parámetros). En cambio, solo en obesos la adiponectina mostró una correlación positiva con los niveles de colesterol y c-LDL, incluso tras ajustar por sexo y edad (colesterol: $p=0,033$, c-LDL: $p=0,046$).

En la tabla 4.15. se muestran los coeficientes de correlación obtenidos entre los niveles de leptina plasmáticos y perímetro de la cintura y parámetros bioquímicos según el grado de obesidad.

Tabla 4.15. Coeficiente de correlación entre leptina y perímetro de la cintura y parámetros bioquímicos de la población estudiada según el grado de obesidad

	Leptina (ng/mL)					
	Normopeso (n=98)		Sobrepeso (n=430)		Obesidad (n=522)	
	r	P ¹	r	P ¹	r	P ¹
Cintura (cm)	0,060	0,592*	-0,023	0,646*	0,119	0,008*
CT (mg/dl)	0,136	0,214	-0,061	0,219	0,052	0,241
c-LDL (mg/dl)	0,085	0,441	-0,139	0,005	0,021	0,647
c-HDL (mg/dl)	0,090	0,414	0,156	0,002	0,106	0,018
TG (mg/dl)	0,087	0,427	-0,029	0,562	-0,011	0,806
Glucosa (mg/dl)	-0,018	0,873	-0,135	0,006	-0,117	0,009*
PAS (mmHg)	0,171	0,125	-0,040	0,424	-0,011	0,809
PAD (mmHg)	0,271	0,014*	-0,081	0,105	0,027	0,544

IMC: Índice de masa corporal; CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica.

r: coeficiente de correlación de Pearson en modelo no ajustado.

¹: p valor de correlación entre variables en un modelo no ajustado. *: p valor < 0,05 de correlación entre variables tras ajustar por sexo y edad.

En función del grado de obesidad, la leptina mostró una correlación positiva con el perímetro de la cintura en individuos con normopeso, sobrepeso y obesidad tras ajustar por las variables de confusión (normopeso: $r=0,272$; $p=0,017$; sobrepeso: $r=0,112$; $p=0,036$; obesidad: $r=0,266$; $p<0,001$). Por otro lado, tanto en individuos con sobrepeso y obesidad se observó la correlación entre los niveles de leptina y c-HDL, pasando a ser una correlación inversa aunque no significativa tras ajustar por sexo y edad (sobrepeso: $r=-0,021$, $p=0,695$; obesidad: $r=-0,029$, $p=0,539$). Paralelamente, también se observó en individuos con sobrepeso y obesidad la correlación inversa entre leptina y glucosa, aunque solo mantuvo la significación tras ajustar por variables confusoras en individuos obesos (sobrepeso: $p=0,352$; obesidad: $p=0,008$). Mientras que solo en individuos con normopeso la leptina se correlacionó de manera inversa con la PAD, incluso tras ajustar por variables de confusión ($p=0,007$).

En la tabla 4.16. se indican los coeficientes de correlación obtenidos entre los niveles de AGNE plasmáticos con perímetro de la cintura y parámetros bioquímicos según el grado de obesidad.

Tabla 4.16. Coeficiente de correlación entre AGNE y perímetro de la cintura y parámetros bioquímicos de la población estudiada según el grado de obesidad

	AGNE (mg/dl)					
	Normopeso (n=98)		Sobrepeso (n=430)		Obesidad (n=522)	
	r	P ¹	r	P ¹	r	P ¹
Cintura (cm)	0,194	0,073	0,001	0,987	0,133	0,003*
CT (mg/dl)	0,047	0,657	0,034	0,497	0,127	0,004*
c-LDL (mg/dl)	0,057	0,597	-0,047	0,348	0,035	0,441
c-HDL (mg/dl)	-0,173	0,103	-0,040	0,421	-0,007	0,869
TG (mg/dl)	0,207	0,050	0,212	<0,001*	0,252	<0,001*
Glucosa (mg/dl)	0,312	0,003*	0,275	<0,001*	0,268	<0,001*
PAS (mmHg)	0,099	0,364	0,070	0,156	0,022	0,627
PAD (mmHg)	0,090	0,406	0,013	0,788	0,043	0,339

AGNE: ácidos grasos no esterificados; IMC: Índice de masa corporal; CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica.

r: coeficiente de correlación de Pearson en modelo no ajustado.

¹: p valor de correlación entre variables en un modelo no ajustado. *: p valor < 0,05 de correlación entre variables tras ajustar por sexo y edad.

El grado de obesidad no influyó en la correlación positiva observada entre AGNE y glucosa, incluso tras ajustar por sexo y edad (normopeso: $p=0,012$; sobrepeso y obesidad: $p<0,001$). Paralelamente, se observó en todos los grupos la asociación positiva entre AGNE y triglicéridos, manteniendo en individuos con sobrepeso y obesidad la significación tras ajustar por variables de confusión (normopeso: $p=0,112$; sobrepeso y obesidad: $p<0,001$). En cambio, solo en individuos con obesidad se observó que los niveles de AG se correlacionaran positivamente con el perímetro de la cintura y con los niveles de colesterol, incluso tras ajustar por factores de confusión (perímetro de la cintura: $p=0,002$; colesterol: $p=0,005$).

Finalmente, se analizaron las correlaciones existentes entre ambas adipocitoquinas y AGNE. Con ello, se observó que los niveles de adiponectina en plasma aunque se correlacionaban con los de leptina ($r=0,162$, $p<0,001$), no se observó esta asociación tras ajustar por sexo y edad ($r=-0,008$, $p=0,824$), ni por sexo, edad e IMC ($r=0,003$, $p=0,443$). En cambio los AGNE si se correlacionaban de manera inversa con los niveles de adiponectina tras ajustar por sexo y edad ($r=-0,070$, $p=0,037$), manteniéndose en el límite de la significación tras ajustar por sexo, edad e IMC ($r=-0,006$, $p=0,070$). La leptina y los AGNE se asociaron de manera positiva ($r=0,147$, $p<0,001$), incluso tras ajustar por sexo y

edad ($r=0,119$, $p<0,001$), quedándose en el límite de la significación tras ajustar por sexo, edad e IMC ($r=0,056$, $p=0,077$).

Al realizar estas correlaciones según el sexo, la asociación entre adiponectina y leptina no se observó en ningún sexo (hombre: $r=0,083$, $p=0,125$; mujer: $r=-0,009$, $p=0,823$). En cambio, ambos sexos se observó la correlación positiva entre leptina y AGNE (hombres: $r=0,141$ $p=0,007$; mujer $r=0,132$ $p=0,001$), manteniéndose en ambos casos tras ajustar por edad (hombres: $p=0,016$; mujer $p=0,005$), pero sin ser significativa al ajustar por edad e IMC (hombres: $p=0,057$; mujer: $p=0,535$). Además, solo en mujeres se observó de manera significativa la asociación inversa entre los AGNE y la adiponectina (hombre: $r=-0,049$, $p=0,362$; mujer: $r=-0,082$, $p=0,043$), quedándose en el límite de la significación al ajustar por edad ($p=0,053$), y perdiéndose al incluir el IMC entre las variables de confusión ($p=0,145$). En función de la obesidad, aunque en individuos con sobrepeso y con obesidad se observó una correlación positiva entre adiponectina y leptina (normopeso: $r=0,124$ $p=0,267$; sobrepeso: $r=0,189$ $p<0,001$; obesidad: $r=0,208$ $p<0,001$), no se alcanzó la significación tras ajustar por sexo y edad (sobrepeso: $p=0,800$; obesidad: $p=0,076$). Los niveles de adiponectina se asociaron de manera inversa con los de AGNE en los distintos grupos según su grado de obesidad, aunque sin alcanzar en ninguno de ellos (normopeso: $r=-0,132$, $p=0,226$; sobrepeso: $r=-0,024$, $p=0,645$; obeso: $r=-0,035$, $p=0,452$). Paralelamente, solo en obesos se observó que los niveles de AGNE y leptina presentaran una correlación significativa (normopeso: $r=-0,128$, $p=0,241$; sobrepeso: $r=0,082$, $p=0,095$; obeso: $r=0,114$, $p=0,010$), quedándose en el límite de la significación al ajustar por sexo y edad ($p=0,085$).

4.2.4.3 Estudios de asociación entre factores ambientales con adipocitoquinas y AGNE

A continuación se expone en la tabla 4.17. la influencia de factores ambientales como son el consumo de tabaco, la realización de actividad física y la adherencia a la Dieta Mediterránea en los niveles de adiponectina, leptina y AGNE.

Tabla 4.17. Valores medios de adiponectina, leptina y AGNE según la influencia de factores ambientales en la población estudiada.

	Adiponectina ($\mu\text{g/mL}$)		Leptina (ng/mL)		AGNE (mg/dl)	
	Media \pm DS	P	Media \pm DS	P	Media \pm DS	P
• Tabaco						
Fumador	8,0 \pm 4,5	<0,001	15,6 \pm 13,7	<0,001	15,4 \pm 6,6	0,003
Exfumador	9,0 \pm 5,4		19,4 \pm 20,3		16,6 \pm 6,9	
Nunca fumador	11,4 \pm 5,8		31,0 \pm 23,3		17,6 \pm 7,5	
• Act. física						
Sedentario	10,5 \pm 5,6	0,966	30,2 \pm 25,2	0,003	18,0 \pm 7,9	0,016*
No sedentario	10,5 \pm 5,8		25,4 \pm 21,6		16,8 \pm 7,1	
• Dieta Medit.						
Baja adherencia	10,6 \pm 6,0	0,668	28,0 \pm 24,2	0,070	17,5 \pm 7,6	0,345
Alta adherencia	10,4 \pm 5,6		25,4 \pm 21,1		17,0 \pm 7,0	

Act. Física: actividad física; Dieta Medit.: Dieta Mediterránea. AGNE: ácidos grasos no esterificados.

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado. Se empleo una prueba ANOVA para comparar medias según el consumo de tabaco. Se empleo una prueba T-Student para comparar medias según la actividad física y la adherencia a la Dieta Mediterránea. *: p valor < 0,05 de comparación de medias en el modelo 1 ajustado por sexo y edad. §: p valor < 0,05 de comparación de medias en el modelo 2 ajustado por sexo, edad e IMC.

El consumo de tabaco influye de manera significativa en los niveles de los tres parámetros, mostrando mayores niveles tanto de adipocitoquinas como de AGNE los nunca fumadores, observándose una tendencia lineal significativa en los tres parámetros (adiponectina: p tendencia lineal<0,001; leptina: p tendencia lineal<0,001; AGNE; p tendencia lineal=0,002). Aunque estas diferencias no fueron significativas ni en el modelo ajustado por sexo y edad (adiponectina: p=0,403; leptina; p=0,251; AGNE: p=0,200), ni en el ajustado por sexo, edad e IMC (adiponectina: p=0,370; leptina: p=0,189; AGNE: p=0,302), por lo que estas diferencias pueden ser debidas a que la mayor prevalencia de no fumadores corresponde a las mujeres las cuales poseen mayores niveles de adipocitoquinas y AGNE. Tras estratificar por sexo se observó solo en hombres, siendo los que presentaban una mayor prevalencia de individuos fumadores, diferencias en la concentración de adiponectina y leptina, siendo los nunca fumadores los que mostraron mayores niveles de ambas adipocitoquinas, aunque sin mostrar tendencia en los niveles de leptina (adiponectina: fumador: 6,5 \pm 2,5 $\mu\text{g/mL}$; exfumador: 8,0 \pm 4,3 $\mu\text{g/mL}$; nunca fumador: 8,5 \pm 4,3, p=0,001, p tendencia lineal=0,001; leptina: fumador: 11,0 \pm 7,8 ng/mL ; exfumador:

15,2±17,2 ng/mL; nunca fumador: 11,8±10,6, p=0,030, p tendencia lineal=0,683), perdiéndose la significación en ambos casos al ajustar por edad (adiponectina: p=0,016; leptina: p=0,037), conservándose solo en el caso de la adiponectina al incluir el IMC entre las variables de confusión (adiponectina: p=0,014; leptina: p=0,080). No se detectó heterogeneidad en estos resultados según el grado de obesidad.

Por otro parte, los participantes sedentarios presentan mayores niveles de leptina y AGNE frente a los no sedentarios, manteniéndose significativas estas diferencias en los niveles de AGNE tras ajustar por sexo y edad (leptina: p=0,072; ácidos grasos: p=0,022), y quedándose en el límite, también en ácidos grasos, en el modelo ajustado por sexo, edad e IMC (leptina: p=0,776; ácidos grasos: p=0,064). En función del sexo, se observó la misma tendencia en estos resultados tanto en hombres como en mujeres. En cambio, según la obesidad se observó que en no obesos los niveles de leptina era similares tanto en sedentarios como en no sedentarios (sedentario; 18,7±14,1 vs no sedentario; 18,5±16,5, p=0,871), pero entre los obesos los sedentarios si presentaron mayores niveles de leptina frente a los no sedentarios (sedentario: 39,3±28,2 ng/ml vs no sedentario: 33,2±23,9 ng/ml, p=0,015), quedándose en el límite de la significación tras ajustar por las variables del modelo 1 (p=0,054), y perdiéndose tras ajustar por las variables del modelo 2 (p=0,270). En cambio, el efecto de la actividad física sobre los niveles de AGNE se observó en individuos no obesos donde los sedentarios mostraron mayores niveles de AGNE que los no sedentarios (sedentario: 17,3±8,3 mg/dL vs no sedentario: 15,6±6,4 mg/dL, p=0,031), pero entre los obesos no se observaron diferencias en los niveles de AGNE (p=0,372).

La adherencia a la Dieta Mediterránea no mostró influencia significativa en ninguno de los tres parámetros bioquímicos específicos. Tampoco se observó influencia ni en función del sexo ni de la obesidad.

4.2.4.3.1 Estudios de asociación entre grupos de alimentos característicos de la Dieta Mediterránea con niveles de adipocitoquinas y AGNE

Posteriormente, se analizó la influencia de grupos de alimentos característicos del modelo de Dieta tipo Mediterráneo, como son el consumo de lácteos, aceite de oliva, carnes rojas, pescados, legumbres, frutas, verduras, repostería comercial, frutos secos y vino en la concentración de los distintos parámetros bioquímicos específicos analizados; adiponectina, leptina y AGNE.

En la tabla 4.18. se muestran según la frecuencia de consumo de productos lácteos y de aceite de oliva los valores medios de concentración de adiponectina, leptina y AGNE.

Tabla 4.18. Valores medios de concentración de adiponectina, leptina y AGNE según la frecuencia de consumo semanal agrupada por terciles de lácteos y aceite de oliva virgen en la población estudiada.

	Q₁ Media±DS	Q₂ Media±DS	Q₃ Media±DS	P¹
• Lácteos (v/s)	8,4 (≤12,5) n=354	16,3 (13,0-20,0) n=315	28,1 (≥20,5) n=381	
Adiponectina (µg/mL)	9,9 ± 5,8	10,6 ± 6,0	10,8 ± 5,3	0,089
Leptina (ng/mL)	23,5 ± 20,8	25,8 ± 22,0	29,9 ± 24,0	0,001
AGNE (mg/dL)	16,9 ± 6,7	17,0 ± 7,7	17,5 ± 7,6	0,539
• AOV (v/s)	6,1 (≤14,0) n=120	17,9 (15,0-24,5) N=447	36,2 (≥25,0) n=483	
Adiponectina (µg/mL)	10,4 ± 6,0	10,7 ± 5,9	10,2 ± 5,5	0,475
Leptina (ng/mL)	22,8 ± 18,2	27,8 ± 23,3	26,2 ± 22,8	0,104
AGNE (mg/dL)	17,2 ± 7,4	17,3 ± 7,5	17,0 ± 7,2	0,789

AOV: aceite de oliva virgen; AGNE: ácidos grasos no esterificados; v/s: veces por semana ¹: p valor de comparación de medias obtenido mediante una prueba ANOVA; .*: p valor<0,05 de comparación de medias en un modelo 1 ajustado por sexo y edad. §: p valor<0,05 de comparación de medias en un modelo 2 ajustado por sexo, edad e IMC.

Se observa que el consumo de lácteos influye en los niveles de leptina, mostrando una tendencia en el incremento de la concentración de leptina al aumentar la frecuencia de consumo de productos lácteos (p tendencia lineal=0,001), aunque estos resultados no se mantuvieron significativos al ajustar por sexo y edad (p=0,083), ni al incluir el IMC entre las variables de confusión (p=0,467). Además, la diferencia en el consumo de aceite de oliva no influyó en los niveles de las adipocitoquinas ni de AGNE.

No se observó heterogeneidad en los resultados al realizarlos en función del sexo y la obesidad.

A continuación, se presentan en la tabla 4.19. los resultados de concentración de adiponectina, leptina y de AGNE en función de la frecuencia de consumo de carnes rojas, pescados y legumbres.

Tabla 4.19. Valores medios de concentración de adiponectina, leptina y AGNE según la frecuencia de consumo semanal agrupada por terciles de carnes rojas, pescados y legumbres en la población estudiada.

	Q₁ Media±DS	Q₂ Media±DS	Q₃ Media±DS	P¹
• Carnes rojas (v/s)	0,9 (≤1,5) n=467	2,2 (2,0-2,5) n=285	4,5 (≥3,0) n=298	
Adiponectina (µg/mL)	10,6 ± 5,4	10,7 ± 6,0	10,1 ± 5,7	0,314
Leptina (ng/mL)	28,6 ± 24,2	26,7 ± 22,7	24,8 ± 21,1	0,097
AGNE (mg/dL)	17,9 ± 7,3	17,0 ± 7,8	16,7 ± 6,8	0,078
• Pescados (v/s)	2,4 (≤3,5) n=403	4,5 (4,0-5,0) n=317	7,6 (≥5,5) n=330	
Adiponectina (µg/mL)	10,5 ± 5,9	10,6 ± 5,7	10,3 ± 5,5	0,809
Leptina (ng/mL)	26,0 ± 21,1	28,5 ± 26,1	25,1 ± 20,3	0,161
AGNE (mg/dL)	17,3 ± 7,6	17,5 ± 7,5	16,5 ± 6,7	0,238
• Legumbres (v/s)	1,2 (≤1,5) n=344	2,2 (2,0-2,5) n=457	3,5 (≥3,0) n=249	
Adiponectina (µg/mL)	10,6 ± 5,9	10,2 ± 5,4	10,6 ± 6,1	0,604
Leptina (ng/mL)	29,6 ± 24,9	25,7 ± 21,5	23,7 ± 20,5	0,005*
AGNE (mg/dL)	17,4 ± 7,7	17,0 ± 7,1	16,9 ± 7,1	0,645

AGNE: ácidos grasos no esterificados; v/s: veces por semana ¹: p valor de comparación de medias obtenido mediante una prueba ANOVA; *: p valor <0,05 de comparación de medias en un modelo 1 ajustado por sexo y edad. §: p valor <0,05 de comparación de medias en un modelo 2 ajustado por sexo, edad e IMC.

No se detectaron diferencias en la concentración de los parámetros bioquímicos específicos analizados en los grupos de consumo de carnes rojas y pescados. Sin embargo, se observó una descenso en la concentración de leptina al incrementar el consumo semanal de legumbres, observándose una tendencia significativa (p tendencia lineal=0,002), estas diferencias mantuvieron la significación al ajustar por sexo y edad (p=0,043), aunque no se alcanzó la significación al incluir el IMC entre las variables de confusión (p=0,113).

Por otro lado, no se observaron diferencias en estos análisis al estratificar por sexo y por obesidad.

Por último, en la tabla 4.20. se muestran en función de la frecuencia de consumo de verduras, frutas, repostería comercial, frutos secos y vino los valores medios de concentración de adiponectina, leptina y AGNE.

Tabla 4.20. Valores medios de concentración de adiponectina, leptina y AGNE según la frecuencia de consumo semanal agrupada por terciles de verduras, frutas, repostería comercial, frutos secos y vino en la población estudiada.

	Q₁ Media±DS	Q₂ Media±DS	Q₃ Media±DS	P¹
• Verduras (v/s)	18,5 (≤25,5) n=356	30,1 (26,0-34,5) n=364	44,1 (≥35,0) n=330	
Adiponectina (µg/mL)	10,3 ± 5,5	10,5 ± 5,9	10,5 ± 5,8	0,889
Leptina (ng/mL)	27,0 ± 23,6	27,1 ± 22,8	25,6 ± 21,4	0,628
AGNE (mg/dL)	18,1 ± 8,0	17,0 ± 7,0	16,3 ± 7,1	0,010*§
• Frutas (v/s)	7,9 (≤11,0) n=369	14,6 (11,5-18,0) n=335	25,9 (≥18,5) n=346	
Adiponectina (µg/mL)	10,1 ± 5,7	9,8 ± 5,1	11,5 ± 6,2	0,001*§
Leptina (ng/mL)	26,6 ± 21,9	25,8 ± 23,6	27,0 ± 22,1	0,799
AGNE (mg/dL)	17,7 ± 7,6	17,1 ± 7,0	16,4 ± 7,2	0,073
• Repostería (v/s)	0,5 (≤1,5) n=389	5,0 (2,0-7,0) n=405	13,4 (≥7,5) n=2556	
Adiponectina (µg/mL)	10,7 ± 6,2	10,4 ± 5,5	10,1 ± 5,3	0,478
Leptina (ng/mL)	27,0 ± 24,1	26,8 ± 22,4	25,4 ± 20,2	0,652
AGNE (mg/dL)	17,4 ± 7,2	17,4 ± 7,3	16,4 ± 7,6	0,186
• Frutos secos (v/s)	0,1 (≤0,5) n=403	1,2 (1,0-2,0) n=330	6,6 (≥2,5) n=317	
Adiponectina (µg/mL)	10,7 ± 6,1	10,0 ± 5,3	10,5 ± 5,7	0,256
Leptina (ng/mL)	29,0 ± 24,8	25,5 ± 21,3	24,3 ± 20,3	0,018*
AGNE (mg/dL)	18,2 ± 7,7	16,3 ± 6,8	16,6 ± 7,1	0,001*§
• Vino (v/s)	0,0 (≤0,0) n=550	0,8 (0,0-1,0) n=170	8,1 (≥1,5) n=330	
Adiponectina (µg/mL)	10,6 ± 5,5	10,8 ± 6,2	9,7 ± 5,5	0,057
Leptina (ng/mL)	30,5 ± 24,4	23,8 ± 19,9	19,3 ± 18,0	<0,001
AGNE (mg/dL)	17,8 ± 7,6	16,4 ± 7,1	16,2 ± 6,6	0,004*

AGNE: ácidos grasos no esterificados; v/s: veces por semana ¹: p valor de comparación de medias obtenido mediante una prueba ANOVA; *: p valor<0,05 de comparación de medias en un modelo 1 ajustado por sexo y edad. §: p valor<0,05 de comparación de medias en un modelo 2 ajustado por sexo, edad e IMC.

Los resultados muestran que un mayor consumo de verduras se asocia de manera significativa con menores niveles de AGNE ($p=0,010$), con una tendencia significativa (p tendencia lineal= $0,003$), con diferencias significativas tanto en el modelo ajustado por sexo y edad ($p=0,012$) tanto en el ajustado por sexo, edad e IMC ($p=0,022$).

También se observa que un mayor consumo de frutas se asocia con mayor concentración de adiponectina ($p=0,001$), detectándose también una tendencia significativa en estos resultados ($p=0,003$). Estas diferencias se mantuvieron significativas tras ajustar por las variables incluidas en ambos modelos de análisis ajustados (modelo 1: $p=0,001$; modelo 2: $p=0,001$).

Paralelamente, se observa que los individuos con mayor consumo de frutos secos presentan menores niveles de leptina y de AGNE, observándose también una tendencia significativa en ambos resultados (leptina: $p=0,018$; p tendencia lineal= $0,008$; AGNE: $p=0,001$; p tendencia lineal= $0,004$), manteniendo la significación para ambos parámetros tras ajustar por sexo y edad (leptina: $p=0,034$; AGNE: $p=0,002$); aunque solo se mantuvo en el caso de los niveles de AGNE al ajustarse por sexo, edad e IMC (leptina: $p=0,0533$; AGNE: $p=0,011$).

En cuanto al consumo de vino, se observa que los individuos con un consumo igual o superior a 1,5 veces a la semana presentan de manera significativa menor concentración tanto de leptina ($p<0,001$) como de AGNE ($p=0,031$), mostrando una tendencia inversa entre el consumo de vino y los niveles de ambos parámetros (leptina: p tendencia lineal= $0,001$; ácidos grasos: p tendencia lineal= $0,002$), aunque estas diferencias no se mantuvieron significativas en ninguno de los modelos ajustados en el caso de la leptina (leptina; ajustado por sexo y edad: $p=0,150$; ajustado por sexo, edad e IMC: $p=0,593$). En cambio, las diferencias en la concentración de AGNE según el consumo de vino mantuvieron la significación en el modelo 1, sin conservarse tras ajustarse por las variables del modelo 2 (modelo ajustado por sexo y edad: $p=0,041$; modelo ajustado por sexo, edad e IMC: $p=0,092$).

No se detectó heterogeneidad en los resultados al realizarlos en función del sexo y de la obesidad.

4.2.4.4 Estudios de asociación de características clínicas con niveles de adipocitoquinas y AGNE

Paralelamente, se analizó si características clínicas como obesidad, DMT2, hipercolesterolemia e hipertensión, presentes en esta muestra de elevado riesgo cardiovascular, modulaban los niveles de adiponectina, leptina y AGNE.

Se observó que los niveles medios de adiponectina en plasma no mostraron diferencias entre individuos obesos y no obesos (no obeso: $10,6 \pm 6,2$ $\mu\text{g/mL}$; obeso: $10,3 \pm 5,2$ $\mu\text{g/mL}$, $p=0,377$), aunque tras ajustar por sexo y edad éstas diferencias alcanzaron la significación estadística ($p=0,020$), poniendo de manifiesto la fuerte influencia del género en los niveles de adiponectina, ya que al considerar solo el sexo como variable de confusión ya se alcanzó la significación ($p=0,019$). Por otro lado, los individuos no diabéticos mostraron mayores niveles de adiponectina frente a los diabéticos (no diabético: $11,4 \pm 6,1$ $\mu\text{g/mL}$; diabético: $9,3 \pm 5,1$ $\mu\text{g/mL}$, $p<0,001$), manteniéndose esta significación tanto en el modelo 1 ajustado por sexo y edad, como en el modelo 2 ajustado por sexo, edad e IMC ($p<0,001$). Sin embargo, los no hipertensos fueron los que presentaron de manera significativa menores niveles de adiponectina que los hipertensos (no HTA: $8,9 \pm 4,8$ $\mu\text{g/mL}$; HTA: $10,8 \pm 5,9$ $\mu\text{g/mL}$, $p<0,001$), manteniéndose la significación en ambos modelos de análisis ajustados (modelo 1: $p=0,011$; modelo 2: $p=0,005$). En función de la hipercolesterolemia no se observaron diferencias en los niveles de adiponectina ($p=0,280$) (Figura 4.3.).

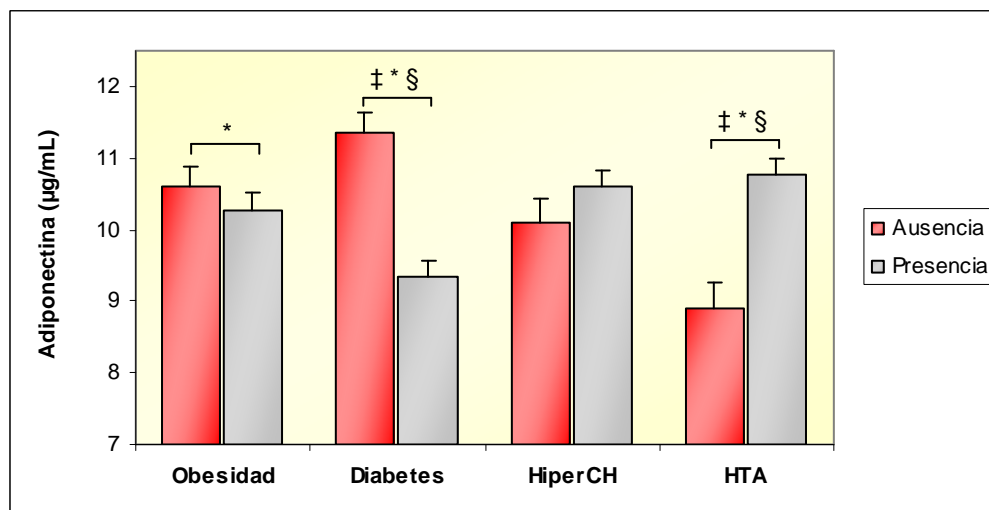


Figura 4.3. Valores medios de adiponectina plasmática en la población estudiada en función de padecer o no obesidad, DMT2, la hipercolesterolemia e HTA. ‡: p valor $<0,005$ de comparación de medias mediante prueba t-Student; *: p valor $<0,05$ de comparación de medias en el modelo 1 ajustado por sexo y edad. §: p valor $<0,05$ de comparación de medias en el modelo 2 ajustado por sexo, edad e IMC. Las barras de error representan el error estándar de la media.

Puesto que los valores de adiponectina muestran diferencias según el sexo, se realizaron estos análisis en función del sexo. En los hombres no se observaron diferencias en los niveles de adiponectina ni en función de la obesidad ni de la DMT2 (no obeso: $7,6 \pm 4,1$ $\mu\text{g/mL}$; obeso: $8,0 \pm 3,8$ $\mu\text{g/mL}$, $p=0,328$; no diabético: $8,0 \pm 4,0$ $\mu\text{g/mL}$; diabético:

7,5±3,9 µg/mL, p=0,175). En cambio en mujeres los niveles de adiponectina según la obesidad y la DMT2 mostraron diferencias significativas (no obesa: 12,7±6,5 µg/mL; obesa: 11,3±5,5 µg/mL, p=0,002; no diabética: 12,8±6,3 µg/mL; diabética: 10,8±5,5 µg/mL, p<0,001), manteniéndose al ajustar por edad (obesidad: p=0,002; diabetes: p<0,001), y por edad e IMC para la diabetes (p<0,001). Por otro lado, en ambos sexos se pierde la asociación significativa entre hipertensión y adiponectinemia (hombres p=0,211, mujer p=0,380).

En cuanto a los niveles de leptina, los individuos obesos e hipertensos presentaron mayor concentración de leptina plasmática frente a los que no padecían estos FRCV respectivamente (no obeso: 18,4±15,8 ng/mL; obeso: 34,7±25,4 ng/mL, p<0,001; no HTA 20,0±19,5 ng/mL; HTA: 28,1±22,9 ng/mL, p<0,001), siendo significativas estas diferencias tras ajustar por sexo y edad en ambos casos (obesidad; p<0,001; HTA; p=0,002). La asociación entre leptina e HTA dejó de ser significativa tras incluir el IMC entre las variables de confusión. En cambio, los individuos no diabéticos mostraron unos niveles de leptina más elevados que los diabéticos (no diabético: 28,2±22,8 ng/mL; diabético: 24,4±21,9 ng/mL, p=0,008), sin alcanzar la significación tras ajustar por sexo y edad (p=0,287) (Figura 4.4.).

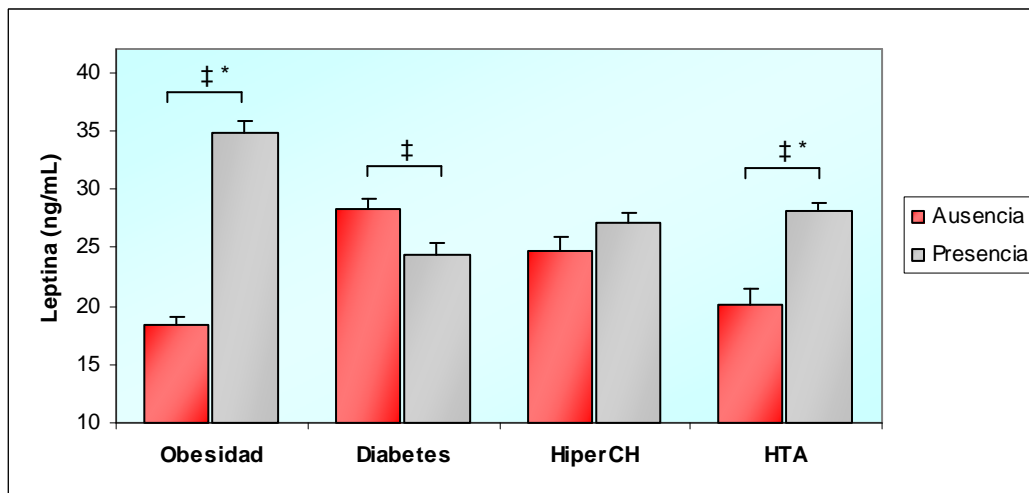


Figura 4.4. Valores medios de leptina plasmática en la población estudiada en función de padecer o no obesidad, DMT2, la hipercolesterolemia e HTA. ‡: p valor <0,005 de comparación de medias mediante prueba t-Student; *: p valor < 0,05 de comparación de medias en el modelo 1 ajustado por sexo y edad. §: p valor < 0,05 de comparación de medias en el modelo 2 ajustado por sexo, edad e IMC. Las barras de error representan el error estándar de la media.

Dado que los valores de leptina también muestran diferencias según el sexo, estos análisis fueron también realizados en función del sexo. Las diferencias de concentración de leptina según la obesidad, siendo mayor en los obesos, se observó tanto en hombres (no obeso: $9,7 \pm 9,7$ ng/mL; obeso: $17,7 \pm 16,7$ ng/mL, $p < 0,001$) como en mujeres (no obesa: $24,5 \pm 16,4$ ng/mL; obesa: $42,5 \pm 25,0$ ng/mL, $p < 0,001$), manteniéndose significativas en ambos géneros tras aplicar un modelo de análisis ajustado por edad ($p < 0,001$ en ambos casos). En cambio, la asociación entre diabetes y niveles de leptina no se observó en ninguno de los sexos (hombres $p = 0,793$, mujer $p = 0,352$). Para la HTA, en hombres no se observó diferencias en la concentración de leptina ($p = 0,740$), pero en mujeres las que presentaron HTA mostraron mayores niveles de leptina frente a las que no la presentaron (no HTA: $26,7 \pm 18,3$ ng/mL; HTA: $35,6 \pm 23,5$ ng/mL, $p < 0,001$), incluso tras ajustar por edad ($p < 0,001$), e incluso edad e IMC ($p = 0,011$).

Respecto a los niveles de AGNE en plasma, los individuos obesos y diabéticos mostraron de manera significativa mayores concentraciones de AGNE en plasma frente a los que no presentaron cada una de estas condiciones clínicas (no obeso: $16,0 \pm 7,0$ mg/dL; obeso: $18,2 \pm 7,5$ mg/dL, $p < 0,001$; no diabético: $15,6 \pm 6,7$ mg/dL; diabético: $19,0 \pm 7,7$ mg/dL, $p < 0,001$), manteniéndose al ajustar por variables de confusión tanto en obesidad (modelo 1: $p = 0,002$) como en diabetes (modelo 1 y 2: $p < 0,001$). No se observaron diferencias en los AGNE según la hipercolesterolemia ($p = 0,089$) o la HTA ($p = 0,634$) (Figura 4.5.).

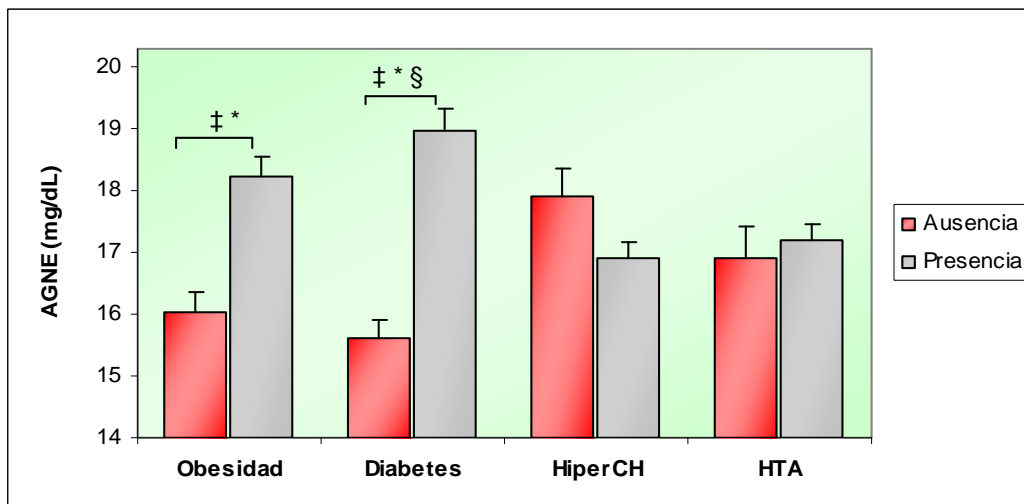


Figura 4.5. Valores medios de AGNE plasmáticos en la población estudiada en función de padecer o no obesidad, DMT2, la hipercolesterolemia e HTA. ‡: p valor $< 0,005$ de comparación de medias mediante prueba t-Student; *: p valor $< 0,05$ de comparación de medias en el modelo 1 ajustado por sexo y edad. §: p valor $< 0,05$ de comparación de medias en el modelo 2 ajustado por sexo, edad e IMC. Las barras de error representan el error estándar de la media.

De manera paralela a las medidas anteriores, ya que la concentración de AGNE también muestra diferencias según el sexo, se procedió a la realización de estos análisis en función del sexo. Tanto en hombres como en mujeres se mantuvo de manera significativa una mayor concentración de AGNE en obesos (hombre; no obeso: $15,6 \pm 6,5$ mg/dL; obeso: $17,5 \pm 7,7$ mg/dL, $p=0,010$; mujer; no obesa: $16,4 \pm 7,3$ mg/dL; obesa: $18,5 \pm 7,4$ mg/dL, $p<0,001$), incluso tras ajustar por edad (hombre: $p=0,009$; mujer: $p<0,001$) También se observó de manera significativa mayor concentración de ácidos grasos en diabéticos tanto en hombres (no diabético: $15,2 \pm 7,0$ mg/dL; diabético: $17,5 \pm 7,0$ mg/dL, $p<0,001$), como en mujeres (no diabética: $15,8 \pm 6,5$ mg/dL; diabético: $20,1 \pm 8,0$ mg/dL, $p<0,001$), conservando la significación en ambos sexos tanto en el análisis ajustado con edad (hombres: $p=0,002$; mujer: $p<0,001$) como en el ajustado por edad e IMC (hombres: $p=0,001$; mujer: $p<0,001$).

4.2.5 Estudio genético de polimorfismos en genes candidatos y su asociación con obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular

En este apartado se exponen los resultados de polimorfismos ubicados en los genes candidatos que codifican para adipocitoquinas y sus receptores (ADIPOQ, ADIPOR1, LEP y RLEP), relacionados con la ingesta energética (GHRL, GHSR, PYY, MC4R, CNR1, BDNF y NPY2R), relacionados con la diabetes (KCNJ11, ABCC8, ENPP1 y TSPAN8/LGR5) y el metabolismo lipídico (CD36, MLXIPL, MCM6 y NR1H3). En cada caso se presenta inicialmente su asociación con datos antropométricos (peso, IMC y cintura), concentración de adipocitoquinas (adiponectina, leptina) y marcadores de inflamación (en los polimorfismos de genes de adipocitoquinas y sus receptores) y de AGNE para reflejar su posible relación con parámetros relacionados con la obesidad y posteriormente con otros FRCV como concentraciones de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL y TG), glucosa y presión arterial, DMT2, HTA e hipercolesterolemia.

4.2.5.1 Estudio de polimorfismos en genes de adipocitoquinas y sus receptores y su asociación con obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular

En este apartado se estudian los polimorfismos rs17300539, rs17366568, rs1501299, rs2241766 y rs17366743 situados en el gen ADIPOQ y el polimorfismo rs6666089 del gen ADIPOR1, de los genes LEP y RELP los polimorfismos rs7799039 y rs1137101 respectivamente.

4.2.5.1.1 Polimorfismos en el gen ADIPOQ

En el gen de la adiponectina se analizaron los polimorfismos rs17300539, rs17366568, rs1501299, rs2241766 y rs17366743. En la tabla 4.21. se muestran las frecuencias

genotípicas de los cinco polimorfismos observadas en el total de la población y en función del sexo. No se observaron diferencias en las frecuencias genotípicas según el sexo.

Tabla 4.21. Frecuencias genotípicas de los polimorfismos rs17300539, rs17366568, rs1501299, rs2241766 y rs17366743 del gen ADIPOQ en la población estudiada y según el sexo.

Polimorfismos	Genotipos	Población total	Hombres	Mujeres	P
rs17300539		n=1039	n=386	n=653	0,649
	GG (%)	78,6	78,2	78,9	
	GA (%)	19,5	19,4	19,6	
rs17366568		n=1039	n=387	n=652	0,300
	GG (%)	79,3	78,8	79,6	
	GA (%)	19,3	19,1	19,5	
rs1501299		n=1025	n=381	n=644	0,910
	GG (%)	52,0	51,4	52,3	
	GT (%)	39,0	39,1	39,0	
rs2241766		n=1043	n=388	n=655	0,422
	TT (%)	66,7	67,0	66,6	
	TG (%)	29,4	30,2	29,0	
rs17366743		n=1002	n=370	n=632	0,677
	TT (%)	96,6	97,0	96,4	
	TC (%)	3,3	3,0	3,5	
	CC (%)	0,1	0	0,2	

P: Valor de P obtenido mediante un test χ^2 , al comparar las frecuencias genotípicas según el sexo.

La distribución de los genotipos de los polimorfismos rs17300539, rs17366568, rs1501299, rs2241766 y rs17366743 se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0,128$, $p=0,662$, $p=0,176$, $p=0,401$ y $p=0,201$ respectivamente). Las frecuencias alélicas fueron: G 0,884 y A 0,116 para el polimorfismo rs17300539, G 0,890 y A 0,110 para el rs17366568, G 0,715 y T 0,285 para el polimorfismo rs1501299, T 0,814 y G 0,186 para rs2241766 y T 0,983 y C 0,017 para el rs17366743.

A continuación, se presentan los resultados del análisis de asociación de los polimorfismos rs17300539, rs17366568, rs1501299, rs2241766 y rs17366743 del gen ADIPOQ con variables antropométricas y bioquímicas.

En el caso del polimorfismo rs17300539 debido a la escasa prevalencia del genotipo AA se agruparon heterocigotos e individuos con genotipo AA para obtener mayor potencia estadística en los análisis realizados. En la Tabla 4.22. se muestran los resultados de asociación del polimorfismo con datos antropométricos, adipocitoquinas, AGNE y marcadores de inflamación.

Tabla 4.22. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina, AGNE y marcadores de inflamación (PCR, ICAM-1, VCAM-1, IL-6) según el genotipo del polimorfismo rs17300539 del gen ADIPOQ en la población estudiada.

	GG (n=817) Media ± DS	GA+AA (n=222) Media ± DS	p¹
Edad (años)	66 ± 6	67 ± 6	0,073
Peso (kg)	75,9 ± 11,8	77,8 ± 12,9	0,045*
IMC(kg/m²)	30,2 ± 4,3	30,9 ± 4,6	0,030*
Cintura (cm)	102,3 ± 11,8	104,4 ± 12,5	0,023*
Adiponectina (µg/ml)	10,1 ± 5,5	11,6 ± 6,3	0,001**
Leptina (ng/ml)	26,8 ± 23,2	26,1 ± 21,1	0,697
AGNE (mg/dl)	17,0 ± 7,3	17,7 ± 7,3	0,238
PCR (mg/L)#	3,3 ± 3,3	2,5 ± 1,4	0,292
ICAM-1 (ng/mL)#	269,9 ± 142,2	269,4 ± 136,2	0,987
VCAM-1 (ng/mL)#	1077,0 ± 406,3	1119,1 ± 451,4	0,610
IL-6 (pg/mL)#	3,6 ± 1,9	2,6 ± 1,2	0,021**

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados; PCR: proteína C reactiva; ICAM: molécula de adhesión intercelular; VCAM; molécula de adhesión celular vascular IL-6: interleuquina 6. #: medida realizada en una muestra n=150 (GG: 107, GA+AA: 43). ¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.

Se observa que los portadores del alelo A muestran niveles más elevados de adiponectina plasmática que los homocigotos GG, incluso tras ajustar por variables de confusión ($p=0,003$). Paralelamente, los portadores del alelo A muestran menor concentración de IL-6 frente a los homocigotos GG, manteniendo la significación tras ajustar por factores de confusión ($p=0,016$). Sin embargo, se observa que los portadores del alelo A presentan mayor peso, IMC y perímetro de la cintura que los individuos homocigotos GG, manteniéndose significativas estas diferencias al ajustar por niveles de adiponectina, salvo para el perímetro de la cintura quedándose en el límite de la significación (peso: $p=0,015$; IMC: $p=0,045$; cintura: $p=0,058$). En cambio, tras ajustar por las variables de confusión se perdió la significación en todos los parámetros (peso: $p=0,168$; IMC: $p=0,192$; cintura: $p=0,113$).

En la siguiente tabla (Tabla 4.23.) se muestran los resultados del polimorfismo rs17330539 con datos de lípidos y glucosa.

Tabla 4.23. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y glucosa según el genotipo del polimorfismo rs17330539 del gen ADIPOQ en la población estudiada.

	GG (n=817) Media ± DS	GA+AA (n=222) Media ± DS	P¹
CT (mg/dl)	206,1 ± 38,1	205,4 ± 40,8	0,828
c-LDL (mg/dl)	128,2 ± 35,3	126,9 ± 35,1	0,642
c-HDL (mg/dl)	53,0 ± 13,4	51,8 ± 11,8	0,246
TG (mg/dl)	126,3 ± 65,4	130,2 ± 63,9	0,305
Glucosa (mg/dl)	119,7 ± 39,6	116,8 ± 36,9	0,317

CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos.

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student.

Los resultados muestran que no se obtuvieron diferencias según el genotipo del polimorfismo rs17330539 en los niveles de lípidos ni de glucosa.

Posteriormente, se realizaron los análisis en función del sexo y la obesidad, observándose que la concentración de adiponectina difería entre los portadores del alelo A y los homocigotos GG tanto en hombres como en mujeres y en obesos y no obesos. En todos los casos, se mostró la misma tendencia donde los portadores del alelo A presentaban siempre de manera significativa mayores niveles de adiponectina (Tabla 4.24.). No se observó una interacción significativa para la determinación de la concentración de

adiponectina entre el polimorfismo y el sexo (p interacción=0,692) o el polimorfismo y la obesidad (p interacción=0,311).

Tabla 4.24. Valores de concentración de adiponectina según el genotipo del polimorfismo rs17300539 del gen ADIPOQ en función del sexo y la obesidad en la población estudiada.

	GG Media \pm DS	GA+AA Media \pm DS	P¹	Pajust
Sexo				
Hombre	7,4 \pm 3,7	9,3 \pm 4,8	<0,001	0,008
Mujer	11,7 \pm 5,8	12,9 \pm 6,7	0,030	0,054
Obesidad				
Obeso	10,0 \pm 5,1	11,2 \pm 5,7	0,039	0,129
No obeso	10,2 \pm 5,9	12,1 \pm 6,9	0,006	0,009

¹: p valor de comparación de medias obtenido mediante una prueba t-Student; P ajust: p valor de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.

Posteriormente se analizó el polimorfismo rs17366568, como en el caso del polimorfismo anterior, dado que presenta también una baja prevalencia del genotipo AA, para los análisis estadísticos se agrupó a los individuos heterocigotos con los del genotipo AA. Los resultados con datos antropométricos y bioquímicos específicos se muestran en la tabla 4.25.

Se observa que los individuos portadores del alelo A presentan menor perímetro de cintura que los homocigotos GG, quedándose en el límite de la significación estadística tanto en el análisis en crudo como en el ajustado por variables de confusión ($p=0,060$). No se encontró asociación entre el polimorfismo rs17366568 con parámetros bioquímicos específicos de adipocitoquinas, AGNE y marcadores de inflamación.

Tabla 4.25. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina, AGNE y marcadores de inflamación (PCR, ICAM-1, VCAM-1, IL-6) según el genotipo del polimorfismo rs17366568 del gen ADIPOQ en la población estudiada.

	GG (n=824) Media ± DS	GA+AA (n=215) Media ± DS	p¹
Edad (años)	67 ± 6	66 ± 6	0,061
Peso (kg)	76,4 ± 12,0	75,9 ± 11,7	0,589
IMC(kg/m2)	30,4 ± 4,3	30,1 ± 4,8	0,384
Cintura (cm)	103,1 ± 11,9	101,3 ± 12,1	0,061*
Adiponectina (µg/ml)	10,5 ± 5,6	10,3 ± 6,1	0,676
Leptina (ng/ml)	27,0 ± 23,0	25,1 ± 21,7	0,297
AGNE (mg/dl)	17,2 ± 7,3	16,8 ± 7,5	0,415
PCR (mg/L)#	3,0 ± 3,1	3,2 ± 2,1	0,843
ICAM-1 (ng/mL)#	278,8 ± 144,9	238,3 ± 122,6	0,251
VCAM-1 (ng/mL)#	1096,7 ± 399,4	1068,4 ± 495,1	0,759
IL-6 (pg/mL)#	3,4 ± 1,9	3,2 ± 1,6	0,683

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados; PCR: proteína C reactiva; ICAM: molécula de adhesión intercelular; VCAM; molécula de adhesión celular vascular IL-6: interleuquina 6. #: medida realizada en una muestra n=150 (GG: 115, GA+AA: 35)¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.**: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.

En la tabla 4.26. se muestran los resultados del análisis de asociación entre el polimorfismo rs17366568 y niveles plasmáticos de lípidos y glucosa.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas según el genotipo en ninguna de las variables estudiadas de concentración de lípidos como de glucosa tanto al realizar los análisis en crudo como ajustados.

Tabla 4.26. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y glucosa según el genotipo del polimorfismo rs17366568 del gen ADIPOQ en la población estudiada.

	CC (n=824) Media ± DS	GA+AA (n=215) Media ± DS	p¹
CT (mg/dl)	206,6 ± 38,8	203,0 ± 38,3	0,234*
c-LDL (mg/dl)	128,4 ± 35,1	125,6 ± 35,9	0,296*
c-HDL (mg/dl)	52,7 ± 12,9	52,9 ± 13,4	0,824
TG (mg/dl)	128,0 ± 66,7	124,0 ± 58,8	0,649
Glucosa (mg/dl)	119,7 ± 39,2	116,4 ± 36,0	0,275*

CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica;

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.**: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, HTA, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.

Por otro lado, no se encontraron diferencias según el sexo, ni entre obesos y no obesos, diabéticos y no diabéticos, hipertensos y no hipertensos o hipercolesterolémicos y no hipercolesterolémicos en el análisis del polimorfismo rs17366568 para ninguna de las variables estudiadas.

En la tabla 4.27. se muestran los resultados de datos antropométricos y de adipocitoquinas, AGNE y marcadores de inflamación en función del genotipo del polimorfismo rs1501299.

Se observa que los niveles de adiponectina plasmáticos muestran una tendencia según el genotipo incrementando de los homocigotos GG a los homocigotos TT (p tendencia lineal=0,012), siendo significativos estos resultados al ajustar por sexo, edad, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física (p=0,009). Por otro lado, en los resultados de asociación con parámetros antropométricos se observa una tendencia según el genotipo en el peso, el IMC y la cintura, mostrando también los individuos TT mayores valores de los tres parámetros antropométricos (p tendencia lineal=0,001 para el peso, p tendencia lineal=0,005 para el IMC y p tendencia lineal<0,001 para la cintura), estas asociaciones se mantuvieron significativas, o en el límite de la significación en el caso del IMC, tras ajustar por la concentración de adiponectina (peso: p= 0,009; IMC: p=0,065 y cintura p=0,017) como por factores de confusión (peso: p= 0,013; IMC: p=0,064 y cintura p=0,002). No se encontró asociación con el resto de parámetros bioquímicos específicos estudiados.

Tabla 4.27. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina, AGNE y marcadores de inflamación (PCR, ICAM-1, VCAM-1, IL-6) según el genotipo del polimorfismo rs1501299 del gen ADIPOQ en la población estudiada.

	GG (n=315) Media ± DS	GT (n=239) Media ± DS	TT (n=59) Media ± DS	P¹
Edad (años)	66 ± 6	67 ± 6	67 ± 5	0,624
Peso (kg)	75,7 ± 11,7	76,4 ± 12,3	80,2 ± 12,1	0,004**
IMC(kg/m²)	30,1 ± 4,3	30,4 ± 4,5	31,5 ± 4,3	0,018*
Cintura (cm)	102,1 ± 11,7	102,6 ± 12,0	107,1 ± 12,5	0,001**
Adiponectina (µg/ml)	10,3 ± 5,6	10,2 ± 5,8	12,0 ± 6,4	0,030**
Leptina (ng/ml)	26,4 ± 23,0	26,2 ± 21,9	30,3 ± 25,7	0,299
AGNE (mg/dl)	16,9 ± 7,6	17,2 ± 7,1	18,1 ± 6,9	0,362
PCR (mg/L)#	3,6 ± 3,4	2,2 ± 1,4	3,6 ± 4,0	0,156
ICAM-1 (ng/mL)#	269,9 ± 140,3	264,1 ± 139,0	273,6 ± 152,8	0,972
VCAM-1 (ng/mL)#	1063,1 ± 385,0	1150,4 ± 466,1	1016,9 ± 399,5	0,427
IL-6 (pg/mL)#	3,5 ± 2,2	3,3 ± 1,3	2,5 ± 1,3	0,285

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados; PCR: proteína C reactiva; ICAM: molécula de adhesión intercelular; VCAM; molécula de adhesión celular vascular IL-6: interleuquina 6. #: medida realizada en una muestra n=150 (GG: 76, GT: 55, TT: 19) ¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba ANOVA. *: p valor >0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.

A continuación, se muestran en la tabla 4. los valores de datos bioquímicos generales obtenidos según el genotipo del polimorfismo rs1501299.

No se encontraron diferencias según el genotipo en estos parámetros.

Tabla 4.28. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y glucosa según el genotipo del polimorfismo rs1501299 del gen ADIPOQ en la población estudiada.

	GG (n=315) Media ± DS	GT (n=239) Media ± DS	TT (n=59) Media ± DS	P¹
CT (mg/dl)	206,3 ± 39,2	203,9 ± 38,9	212,8 ± 34,3	0,134
c-LDL (mg/dl)	128,1 ± 35,8	126,8 ± 34,9	132,2 ± 32,9	0,427
c-HDL (mg/dl)	53,1 ± 13,6	52,3 ± 12,4	52,7 ± 13,3	0,621
TG (mg/dl)	124,1 ± 61,1	130,1 ± 69,4	129,2 ± 67,1	0,486
Glucosa (mg/dl)	117,9 ± 37,4	121,6 ± 40,6	116,7 ± 37,1	0,286

CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos.

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba ANOVA.

Tampoco se observó heterogeneidad en los resultados en función del sexo, la obesidad, la DMT2, la hipercolesterolemia o la hipertensión, ni en datos antropométricos ni bioquímicos.

Respecto al polimorfismo rs2241766, los análisis también se realizaron agrupando a los individuos AA, al presentar una baja prevalencia, con los heterocigotos para compararlos con los homocigotos GG, para adquirir mayor poder estadístico.

En las tablas 4.29. y 4.30. se muestran los resultados obtenidos con datos antropométricos, adipocitoquinas, AGNE y marcadores de inflamación y con lípidos y glucosa respectivamente para el polimorfismo rs2241766.

Los resultados muestran que no se detectó ninguna asociación del polimorfismo rs2241766 con ninguna de las variables analizadas considerando el total de la muestra.

Tabla 4.29. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina, AGNE y marcadores de inflamación (PCR, ICAM-1, VCAM-1, IL-6) según el genotipo del polimorfismo rs2241766 del gen ADIPOQ en la población estudiada.

	TT (n=696) Media ± DS	TG+GG (n=347) Media ± DS	P¹
Edad (años)	67 ± 6	67 ± 6	0,877
Peso (kg)	76,7 ± 12,2	75,7 ± 11,6	0,216*
IMC(kg/m2)	30,4 ± 4,5	30,1 ± 4,2	0,307*
Cintura (cm)	102,9 ± 12,1	102,3 ± 11,7	0,411
Adiponectina (µg/ml)	10,4 ± 5,7	10,5 ± 5,9	0,803*
Leptina (ng/ml)	27,1 ± 23,2	25,7 ± 21,7	0,342*
AGNE (mg/dl)	17,3 ± 7,3	16,8 ± 7,2	0,307*
PCR (mg/L)#	3,1 ± 3,3	3,0 ± 2,2	0,957
ICAM-1 (ng/mL)#	277,9 ± 151,7	254,0 ± 114,9	0,408
VCAM-1 (ng/mL)#	1077,3 ± 421,9	1106,1 ± 412,8	0,700
IL-6 (pg/mL)#	3,2 ± 1,3	3,6 ± 2,6	0,318

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados; PCR: proteína C reactiva; ICAM: molécula de adhesión intercelular; VCAM; molécula de adhesión celular vascular IL-6: interleuquina 6. #: medida realizada en una muestra n=150 (TT: 92, TG+GG: 58) ¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.

Tabla 4.30. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y glucosa según el genotipo del polimorfismo rs2241766 del gen ADIPOQ en la población estudiada.

	TT (n=696) Media ± DS	TG+GG (n=347) Media ± DS	P¹
CT (mg/dl)	205,8 ± 38,1	206,4 ± 39,9	0,827
c-LDL (mg/dl)	128,3 ± 35,2	127,4 ± 35,4	0,700
c-HDL (mg/dl)	52,7 ± 13,0	52,8 ± 13,0	0,912
TG (mg/dl)	125,8 ± 64,6	129,4 ± 66,0	0,514
Glucosa (mg/dl)	118,4 ± 38,6	120,5 ± 38,5	0,408

CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos ¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student.

Sin embargo, al analizar los resultados por sexo se observó un efecto opuesto de dicho polimorfismo sobre la concentración de adiponectina y de AGNE en hombres y mujeres. En hombres, el genotipo TT se asoció con mayor concentración de adiponectina y menor de AGNE que los genotipos TG y GG, sin ser significativas las diferencias en el caso de los AGNE (adiponectina; TT: $8,1 \pm 4,4$, portador alelo G: $7,2 \pm 2,9$ $\mu\text{g/mL}$, $p=0,046$; AGNE; TT: $16,1 \pm 7,0$, portador alelo G: $17,0 \pm 7,3$ mg/dL , $p=0,255$). La asociación con los niveles de adiponectina se mantuvo tras ajustar por edad, consumo de tabaco, adherencia a la DM y actividad física (adiponectina, $p=0,026$, AGNE, $p=0,537$). Sin embargo, en mujeres el genotipo TT se asoció con menor concentración de adiponectina y mayor de AGNE que los genotipos TG y GG, sin ser significativas en este caso las diferencias de concentración de adiponectina según el genotipo (adiponectina; TT: $11,8 \pm 5,9$, portador alelo G: $12,3 \pm 6,3$ $\mu\text{g/mL}$, $p=0,254$; AGNE; TT: $18,0 \pm 7,5$, portador alelo G: $16,7 \pm 7,2$ mg/dL , $p=0,033$), pero la asociación con los AGNE se mantuvo tras ajustar por los factores de confusión (adiponectina, $p=0,430$, AGNE, $p=0,023$). Al analizar la interacción entre el polimorfismo rs2241766 y el sexo sobre la concentración de adiponectina y de AGNE se obtuvo una interacción significativa en ambos casos ($p=0,049$ para adiponectina y $p=0,029$ para AGNE). Estos datos se muestran en la figura 4.6.

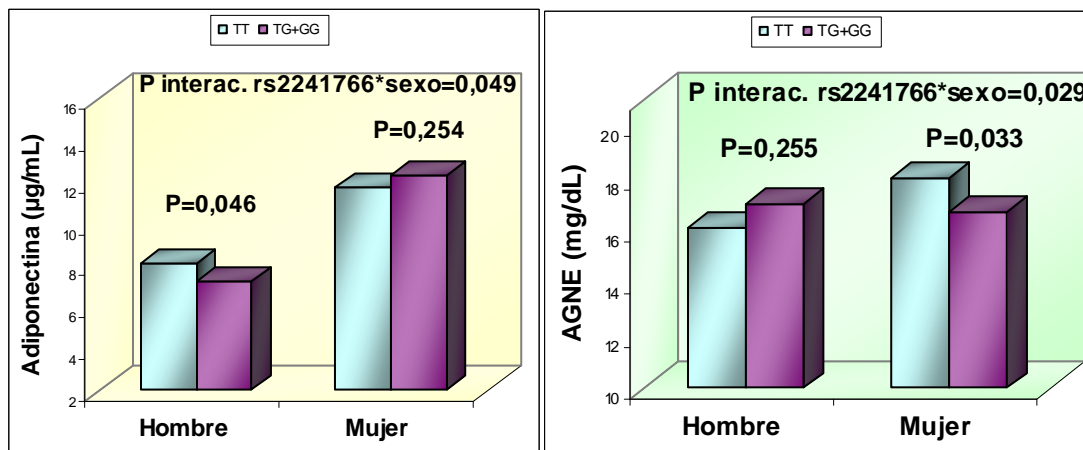


Figura 4.6. Media de concentración de adiponectina (a la izquierda) y de AGNE (a la derecha) en hombres y mujeres según el genotipo del polimorfismo rs2241766 del gen ADIPOQ. (P interac. :P interacción; P: p-valor de comparación de medias mediante una prueba t-Student).

Por otro lado, no se encontraron diferencias en las variables analizadas entre obesos y no obesos, diabéticos y no diabéticos, hipertensos y no hipertensos o hipercolesterolémicos y no hipercolesterolémicos.

En el caso del polimorfismo rs17366743, al presentar una baja prevalencia del genotipo CC, para los análisis estadísticos de este polimorfismo también se agrupó a los individuos heterocigotos con los del genotipo CC. Los resultados con variables relacionadas con obesidad y niveles de adiponectina, leptina, AGNE y marcadores de inflamación se muestran en la tabla 4.31.

Tabla 4.31. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina, AGNE y marcadores de inflamación según el genotipo del polimorfismo rs17366743 del gen ADIPOQ en la población estudiada.

	TT (n=968) Media ± DS	TC+CC (n=34) Media ± DS	P¹
Edad (años)	67 ± 6	67 ± 6	0,787
Peso (kg)	76,5 ± 12,0	75,0 ± 13,2	0,454
IMC(kg/m²)	30,4 ± 4,4	30,2 ± 4,3	0,842
Cintura (cm)	103,1 ± 11,9	100,8 ± 12,4	0,267*
Adiponectina (µg/ml)	10,4 ± 5,8	10,7 ± 4,8	0,753
Leptina (ng/ml)	26,7 ± 22,8	31,4 ± 28,1	0,247*
AGNE (mg/dl)	17,3 ± 7,2	18,0 ± 6,3	0,591
PCR (mg/L)#	3,0 ± 2,9	4,2 ± 2,4	0,496
ICAM-1 (ng/mL)#	270,1 ± 143,1	264,7 ± 63,9	0,934
VCAM-1 (ng/mL)#	1091,8 ± 424,4	1019,8 ± 265,5	0,658
IL-6 (pg/mL)#	3,2 ± 1,6	5,7 ± 4,5	0,008**

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados; PCR: proteína C reactiva; ICAM: molécula de adhesión intercelular; VCAM; molécula de adhesión celular vascular IL-6: interleuquina 6. #: medida realizada en una muestra n=150 (TT: 135, TC+CC: 15) ¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.**: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.

Los resultados muestran que los individuos portadores del alelo C presentan mayor concentración de IL-6 frente a los homocigotos TT, incluso tras ajustar por factores de confusión ($p=0,002$). No se detectaron diferencias según el genotipo con el resto de marcadores de inflamación o con los niveles de adipocitoquinas o de AGNE. Paralelamente, tampoco se detectaron diferencias en ninguno de los parámetros antropométricos analizados según el rs17366743.

Posteriormente en la tabla 4.32. se muestran los resultados obtenidos con niveles lipídicos y de glucosa con el polimorfismo rs17366743.

Tabla 4.32. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y glucosa según el genotipo del polimorfismo rs17366743 del gen ADIPOQ en la población estudiada.

	TT (n=968) Media ± DS	TC+CC (n=34) Media ± DS	p¹
CT (mg/dl)	206,2 ± 38,4	209,0 ± 45,0	0,682
c-LDL (mg/dl)	128,2 ± 35,2	128,0 ± 39,9	0,983
c-HDL (mg/dl)	52,8 ± 13,0	52,5 ± 12,2	0,886
TG (mg/dl)	127,4 ± 64,9	132,9 ± 79,5	0,856
Glucosa (mg/dl)	119,3 ± 37,7	133,6 ± 60,4	0,034**

CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos. ¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento con insulina o fármacos orales.**: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento con insulina o fármacos orales.

En este caso, se observa una asociación entre la variante genética rs17366743 y los niveles de glucosa siendo éstos mayores en los individuos portadores del alelo C, manteniéndose la significación estadística tras ajustar por variables de confusión ($p=0,027$). En cuanto al resto de variables analizadas no se encontraron diferencias estadísticamente significativas según el genotipo en ningún caso.

Al realizar los análisis en función del sexo no se mostraron diferencias entre hombres y mujeres, ni en función de la DMT2, la hipercolesterolemia o la hipertensión. En cambio, en función de la obesidad se observaron diferencias en los niveles de glucosa y leptina (Figura 4.7.). En no obesos, los portadores del alelo C presentaron mayor concentración de glucosa y de leptina que los individuos homocigotos TT, alcanzando la significación estadística en el caso de la leptina (glucosa; TT: 117,4±40,0 portador alelo C: 136,0±74,1

mg/dL, $p=0,072$; leptina; TT: $18,2\pm 15,5$, portador alelo C: $27,2\pm 25,5$ ng/mL, $p=0,023$). Tras ajustar por las variables de confusión se obtuvieron resultados significativos tanto para la glucosa ($p=0,040$) como para la leptina ($p=0,041$). Sin embargo, entre los obesos las diferencias en la concentración de glucosa y leptina según el genotipo no fueron significativas (glucosa; $P=0,254$; leptina; $p=0,757$). La interacción entre el polimorfismo rs17366743 y la obesidad sobre la concentración de glucosa y leptina no fue significativa en ningún caso ($p=0,073$ para la glucosa; $p=0,467$ para la leptina).

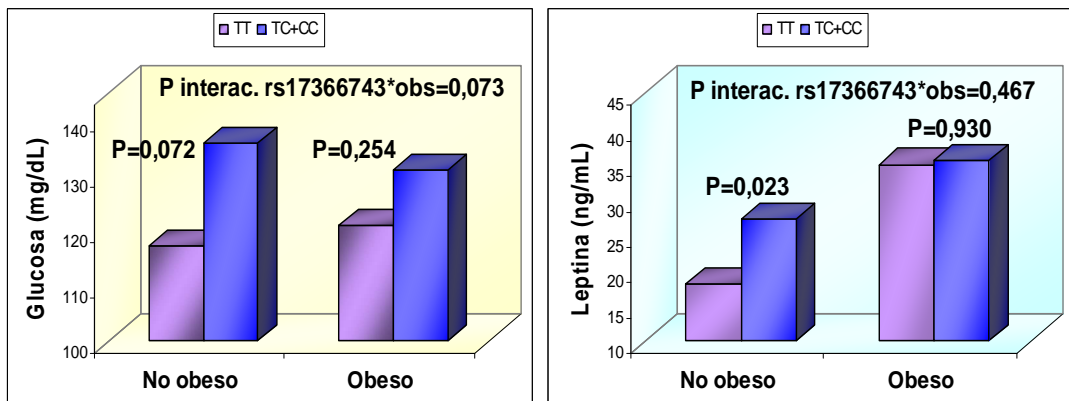


Figura 4.7. Media de concentración de glucosa (a la izquierda) y de leptina (a la derecha) en obesos y no obesos según el genotipo del polimorfismo rs17366743 del gen ADIPOQ. (P interac.: P interacción; P: p-valor de comparación de medias mediante una prueba t-Student).

Por otro lado, puesto que la adiponectina es secretada por el tejido adiposo y diversos polimorfismos de los estudiados han mostrado asociación con parámetros antropométricos y glucosa se estudió el riesgo de obesidad y DMT2 asociado a los polimorfismos seleccionados en el gen ADIPOQ. A continuación se presentan en la tabla 4.33. los resultados.

Se observa que el polimorfismo rs1501299 presentó diferencias en las frecuencias genotípicas entre obesos y no obesos, con una mayor prevalencia de individuos obesos entre los portadores del genotipo homocigoto TT. Aunque ni el polimorfismo rs1501299 ni el resto de polimorfismos estudiados alcanzaron la significación estadística en el riesgo de sufrir obesidad. Respecto al riesgo de DMT2, también con el polimorfismo rs1501299 se observó que los portadores del alelo T presentaban mayor riesgo de DMT2, quedándose en el límite de la significación al ajustar por sexo y edad ($p=0,055$). De manera paralela, para el rs17366743 se observó que los portadores del alelo C mostraban mayor riesgo de DMT2 frente a los homocigotos TT, quedándose también en el límite de la significación estadística incluso tras ajustar por sexo y edad ($p=0,056$).

Tabla 4.33. Análisis del riesgo de obesidad y diabetes según el genotipo de los diferentes polimorfismos analizados del gen ADIPOQ en la población estudiada.

Polimorfismo		Obeso %	No obeso %	P ¹	DMT2 %	No DMT2 %	P ¹
rs17300539	GG	77,6	79,4		77,7	79,1	
	GA	20,8	18,5	0,534	20,3	19,2	0,863
	AA	1,6	2,1		1,9	1,8	
	OR (IC 95%) P ²	1,11 (0,83-1,49) P=0,492			1,09 (0,81-1,46) P=0,592		
	OR (IC 95%) P ³	1,12 (0,83-1,50) P=0,477			1,05 (0,77-1,41) P=0,770		
rs17366568	GG	80,5	78,6		81,1	78,1	
	GA	18,3	20,0	0,740	17,6	20,7	0,448
	AA	1,2	1,3		1,3	1,2	
	OR (IC 95%) P ²	0,89 (0,66-1,20) P=0,441			0,83 (0,61-1,12) P=0,227		
	OR (IC 95%) P ³	0,88 (0,65-1,19) P=0,413			0,85 (0,62-1,16) P=0,311		
rs1501299	GG	49,7	54,3		48,7	54,9	
	GT	39,1	38,8	0,045	43,0	35,5	0,051
	TT	11,2	6,9		8,3	9,5	
	OR (IC 95%) P ²	1,20 (0,94-1,54) P=0,140			1,28 (1,00-1,65) P=0,047		
	OR (IC 95%) P ³	1,22 (0,95-1,56) P=0,121			1,28 (0,99-1,65) P=0,055		
rs2241766	TT	67,9	65,6		66,4	66,9	
	TG	28,2	30,6	0,708	31,3	28,0	0,056
	GG	3,9	3,8		2,4	5,1	
	OR (IC 95%) P ²	0,90 (0,70-1,17) P=0,429			1,02 (0,79-1,33) P=0,860		
	OR (IC 95%) P ³	0,89 (0,69-1,16) P=0,384			1,03 (0,79-1,34) P=0,816		
rs17366743	TT	96,6	96,6		95,4	97,6	
	TC	3,2	3,4	0,597	4,4	2,4	0,128
	CC	0,2	0		0,2	0	
	OR (IC 95%) P ²	0,99 (0,50-1,96) P=0,971			1,94 (0,96-3,91) P=0,061		
	OR (IC 95%) P ³	1,04 (0,52-2,07) P=0,916			2,00 (0,98-4,07) P=0,056		

P¹: p valor de comparación de frecuencias genotípicas entre obesos y no obesos obtenido mediante un test Chi-Cuadrado. OR: valor de odds ratio bajo un modelo dominante, referido a los portadores del alelo minoritario con respecto al genotipo homocigoto más prevalente, entre paréntesis se incluye el intervalo de confianza al 95% y p-valor obtenido al calcular la OR mediante regresión logística. ²: estimaciones brutas mediante regresión logística simple; ³: estimaciones ajustadas por edad y sexo mediante regresión logística múltiple.

Por otro lado, se analizó el desequilibrio de ligamiento existente entre los polimorfismos estudiados en el gen ADIPOQ (Figura 4.8.). Se observó un desequilibrio de ligamiento muy débil entre los polimorfismos situados en la región del promotor, rs17300539 y rs17366568 respectivamente. Además, el rs17300539 también se asoció de forma débil en su forma de segregación con el polimorfismo rs1501299, situado en el

intrón 2. Finalmente, también se observó un desequilibrio de ligamiento más fuerte entre el rs1501299 y el rs2241766.

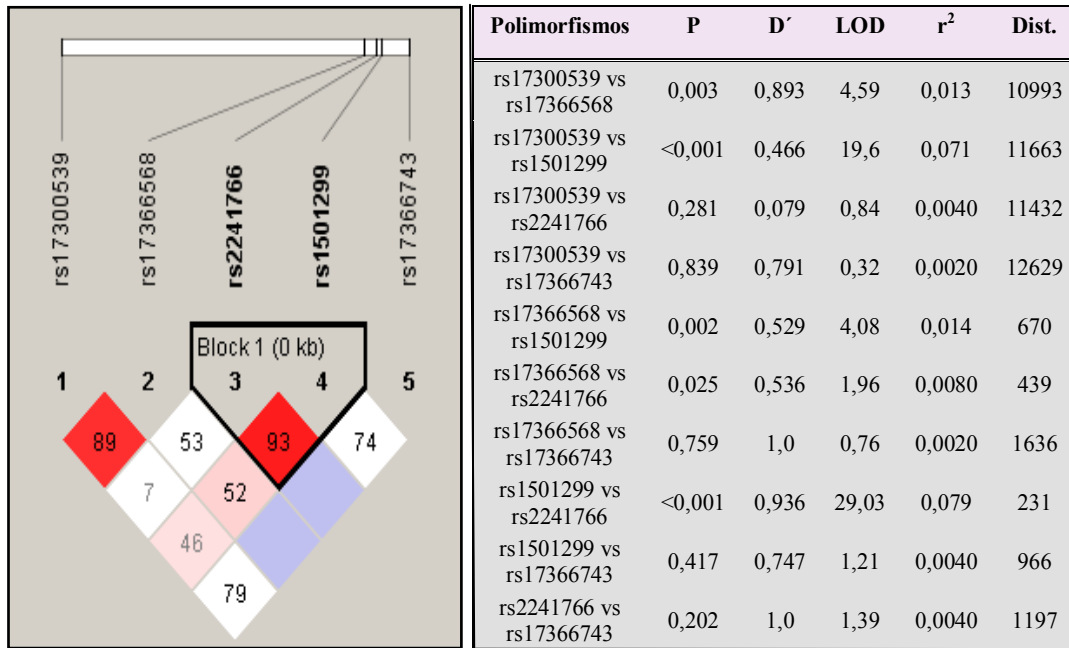


Figura 4.8. Gráfico de desequilibrio de ligamiento entre los polimorfismos rs17300539, rs17366568, rs1501299, rs2241766 y rs17366743 del gen ADIPOQ y tabla con los parámetros medidos para el desequilibrio de ligamiento entre polimorfismos. P: p-valor para comparar las frecuencias genotípicas de ambos polimorfismos mediante un test Chi-cuadrado; D': coeficiente de desequilibrio relativo al máximo; LOD: logaritmo (base 10) de probabilidad de ligamiento entre los loci; r²: coeficiente de correlación entre los dos loci; Distancia: distancia medida en pares de bases entre los loci.

Posteriormente, puesto que los polimorfismos rs17300539 (G>A) y el rs17366568 (G>A) presentaron un débil desequilibrio de ligamiento, se analizó las diferencias en parámetros antropométricos y niveles de adiponectina entre el haplotipo formado por los homocigotos GG para ambos polimorfismos frente al haplotipo formado por los portadores A también de ambos. Los resultados se muestran en la tabla 4.34.

Tabla 4.34. Valores medios de peso, IMC, cintura y adiponectina según el haplotipo formado por el doble homocigoto salvaje GG frente al haplotipo mutado portadores A de los polimorfismos rs17300539 y rs17366568 en la población estudiada

	GG/GG (n=625) Media ± DS	Port. A/ Port. A (n=25) Media ± DS	P¹
Peso (kg)	76,1 ± 11,8	80,1 ± 12,2	0,094
IMC(kg/m²)	30,3 ± 4,2	32,1 ± 5,3	0,034*
Cintura (cm)	102,8 ± 11,9	106,8 ± 16,2	0,107
Adiponectina (µg/ml)	10,2 ± 5,7	11,4 ± 6,9	0,260

IMC: Índice de masa corporal; Port: portadores; ¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y medicación.

Se observa que los individuos portadores del alelo A para ambos polimorfismos presentan mayor IMC frente al haplotipo doble GG/GG. Sin embargo, esta diferencia no se mostró independiente de la concentración de adiponectina, ya que tras ajustar por la concentración de ésta se perdió la significación (p=0,115), como tras ajustar por factores de confusión (p=0,225). No se detectaron diferencias entre obesos y no obesos según el haplotipo (p=0,182), ni diferencias en el riesgo de obesidad entre los portadores del haplotipo portadores del alelo A frente al haplotipo doble GG/GG (OR=1,75 IC 95% (0,76-4,02) p=0,182), ni tras ajustar por sexo y edad (OR=1,78 IC 95% (0,77-4,12) p=0,176).

A continuación, puesto que los polimorfismos rs17300539 (G>A) y rs1501299 (G>T) también se encuentran en desequilibrio de ligamiento y ambos mostraron, de manera independiente, asociación con los niveles de adiponectina, así como con datos de peso, IMC y cintura, se analizó el efecto del haplotipo homocigoto salvaje para ambos polimorfismos (GG y GG, respectivamente) frente al haplotipo formado por los portadores del alelo mutado A del polimorfismo rs17300539 y los homocigotos mutados TT del rs1501299 sobre éstos mismos parámetros. Los resultados se muestran en la tabla 4.35.

Se observa que los individuos portadores del haplotipo formado por los portadores A del rs17300539 y los homocigotos TT del rs1501299 presentan de manera significativa mayor peso, IMC, perímetro de la cintura e incluso mayor concentración de adiponectina. En este caso, la asociación del haplotipo con la adiponectina se mostró independiente de su impacto sobre los parámetros antropométricos, manteniéndose la significación tras ajustar por la concentración de adiponectina (peso: p<0,001; IMC: p=0,015; perímetro de la cintura; p=0,001). Además, estas diferencias tanto con parámetros antropométricos como con concentración de adiponectina según el haplotipo se mantuvieron significativas tras

ajustar por factores de confusión (peso: $p=0,003$; IMC: $p=0,013$; perímetro de la cintura; $p=0,001$; adiponectina: $p<0,001$).

Tabla 4.35. Valores medios de peso, IMC, cintura y adiponectina según el haplotipo formado por el doble homocigoto salvaje GG frente al haplotipo mutado portadores A-TT de los polimorfismos rs17300539 y rs1501299 en la población estudiada

	GG/GG (n=467) Media \pm DS	Port. A/ TT (n=52) Media \pm DS	p¹
Peso (kg)	75,5 \pm 11,3	81,4 \pm 12,7	0,001**
IMC(kg/m²)	30,0 \pm 4,3	31,7 \pm 4,4	0,007**
Cintura (cm)	102,1 \pm 11,7	108,7 \pm 13,7	<0,001**
Adiponectina (μg/ml)	10,1 \pm 5,4	12,9 \pm 6,5	0,001**

IMC: Índice de masa corporal; Port: portadores; ¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor $> 0,05$ de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física. **: p valor $< 0,05$ de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y medicación.

Paralelamente, se observó que en el polimorfismo rs17300539 los portadores del alelo mutado A frente a los individuos GG presentaban un incremento de peso del 2,5%, de cintura del 2,1%, de IMC del 2,3% y del 14,8% en la concentración de adiponectina. En el caso del polimorfismo rs1501299, la diferencia entre homocigotos TT y homocigotos GG fue del 5,9% en el peso, del 4,9% en la cintura, del 4,6% en el IMC y del 16,5% en los niveles de adiponectina. Al analizar estas diferencias según el haplotipo salvaje GG-GG frente al haplotipo mutado portadores A-TT se detectó un incremento en el peso del 7,8%, en la cintura del 6,5%, en el IMC del 5,7% y del 27,7% en la concentración de adiponectina, siendo mayor estas diferencias en el haplotipo que en cada polimorfismo de manera independiente (Figura 4.9.).

En cambio, no se detectaron diferencias en la prevalencia de obesos y no obesos según el haplotipo ($p=0,101$), ni diferencias en el riesgo de obesidad entre el haplotipo formado los portadores del alelo A del rs17300539 y los homocigotos TT del rs1501299 frente al haplotipo formado por los homocigotos GG de ambos polimorfismos (OR=1,62 IC 95% (0,91-2,91) $p=0,101$), quedándose en el límite al ajustar por sexo y edad (OR=1,67 IC 95% (0,93-2,99) $p=0,089$).

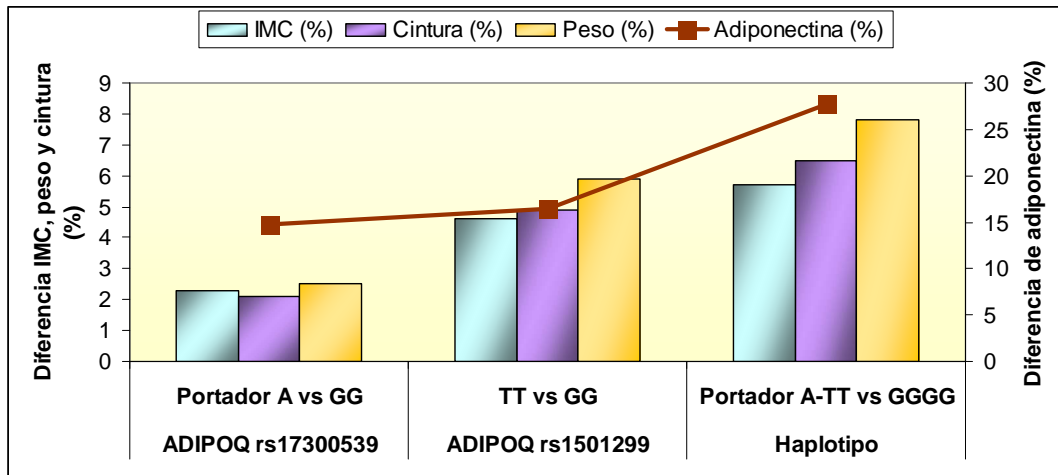


Figura 4.9. Efecto del genotipo portadores del alelo mutado A frente a los homocigotos salvajes del rs17300539 y del homocigoto mutado frente al salvaje del rs1501299 y del haplotipo de estos genotipos sobre el peso, IMC, cintura y los niveles plasmáticos de adiponectina en la población estudiada.

Por último, el polimorfismo rs1501299 (G>T) también mostró estar en desequilibrio de ligamiento con el rs2241766 (T>G), por ello se analizó también si existían diferencias tanto en los parámetros antropométricos como de adiponectina y glucosa según la combinación genotípica de ambos polimorfismos. En este caso, puesto que el haplotipo homocigoto mutado de ambos polimorfismos (TT para el rs1501299 y GG para el rs2241766) mostraba baja prevalencia, se analizaron las diferencias entre el haplotipo formado por los portadores del alelo mutado en ambos polimorfismos (portadores T y portadores G, respectivamente) frente al haplotipo GGTT, doble homocigoto salvaje. Pero los resultados no mostraron diferencias en los parámetros antropométricos ni en los niveles de adiponectina. Respecto a los niveles de glucosa los individuos con el haplotipo portadores T/portadores G mostraron mayor concentración, aunque sin alcanzar la significación ($p=0,063$), ni tras ajustar por factores de confusión ($p=0,110$) (Tabla 4.36.).

En este caso, puesto que el polimorfismo rs1501299 se asoció con DMT2 y el rs2241766 con los niveles de AGNE según el sexo, se analizó el riesgo de DMT2 en función del haplotipo formado por ambos polimorfismos. Sin embargo, no se encontraron diferencias en la prevalencia de diabéticos y no diabéticos según el haplotipo ($p=0,202$), ni diferencias en el riesgo de DMT2 entre el haplotipo formado los portadores del alelos mutados de los polimorfismos rs1501299 y rs2241766 simultáneamente (portadores T y portadores G respectivamente) frente al haplotipo formado por los homocigotos GG del rs1501299 y homocigotos TT del rs2241766 (OR=1,35 IC 95% (0,85-2,13) $p=0,202$), ni tras ajustar por sexo y edad (OR=1,34 IC 95% (0,84-2,14) $p=0,226$).

Tabla 4.36. Valores medios de peso, IMC, cintura, adiponectina y glucosa según el haplotipo formado por el doble homocigoto salvaje GGTT frente al haplotipo de los portadores de los alelos mutados de los polimorfismos rs1501299 (T) y rs2241766 (G) en la población estudiada

	GG/TT (n=288) Media ± DS	Port. T/ Port. G (n=98) Media ± DS	P¹
Peso (kg)	75,4 ± 11,7	75,0 ± 11,3	0,767
IMC(kg/m²)	29,9 ± 4,4	29,6 ± 4,4	0,580
Cintura (cm)	102,1 ± 11,9	102,9 ± 11,8	0,585
Adiponectina (µg/ml)	10,1 ± 5,2	10,3 ± 5,7	0,822
AGNE (mg/dl)	17,1 ± 7,9	17,1 ± 7,4	0,968
Glucosa (mg/dL)	117,7 ± 39,6	126,8 ± 46,5	0,063*

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados; Port: portadores; ¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y medicación. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y medicación.

4.2.5.1.2 Polimorfismo rs6666089 en el gen ADIPOR1

Las frecuencias genotípicas observadas de la muestra estudiada y según el sexo se muestran en la tabla 4.37. No existen diferencias entre sexo en cuanto a la distribución del genotipo (p=0,479).

Tabla 4.37. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs6666089 del gen ADIPOR1 en la población total y comparando por sexo.

Genotipos	Población total (n=599)	Hombres (n=214)	Mujeres (n=385)	p
GG (%)	48,6	47,7	49,1	
GA (%)	39,9	42,5	38,4	0,479
AA (%)	11,5	9,8	12,5	

P: Valor de P obtenido mediante un test χ^2 , al comparar las frecuencias genotípicas según el sexo.

La distribución de los genotipos se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg (p=0,066). Las frecuencias alélicas fueron de 0,685 para el alelo G y 0,315 para el alelo A.

Los resultados de valores antropométricos, adiponectina, leptina, AGNE y marcadores de inflamación según el genotipo de este polimorfismo se muestran en la tabla 4.38. Dada la baja prevalencia del alelo mutado, los análisis estadísticos se realizaron agrupando a los individuos AA con los heterocigotos para compararlos con los homocigotos GG, para adquirir mayor poder estadístico.

Tabla 4.38. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina, AGNE y marcadores de inflamación (PCR, ICAM-1, VCAM-1, IL-6) según el genotipo del polimorfismo rs6666089 del gen ADIPOR1 en la población estudiada.

	GG (n=291) Media ± DS	GA+AA (n=308) Media ± DS	P¹
Edad (años)	67 ± 6	67 ± 6	0,516
Peso (kg)	77,5 ± 11,9	76,1 ± 12,5	0,160*
IMC(kg/m2)	31,1 ± 4,6	30,5 ± 4,6	0,115*
Cintura (cm)	104,1 ± 11,7	103,2 ± 11,0	0,380
Adiponectina (µg/ml)	9,9 ± 5,0	9,9 ± 5,3	0,997
Leptina (ng/ml)	28,1 ± 24,9	26,4 ± 22,6	0,401
AGNE (mg/dl)	18,3 ± 7,8	17,9 ± 7,2	0,563
PCR (mg/L)#	3,4 ± 3,8	3,0 ± 2,4	0,624
ICAM-1 (ng/mL)#	269,4 ± 132,6	282,7 ± 155,0	0,661
VCAM-1 (ng/mL)#	1122,1 ± 369,3	1051,3 ± 447,8	0,365
IL-6 (pg/mL)#	3,4 ± 2,0	3,4 ± 1,8	0,988

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados; PCR: proteína C reactiva; ICAM: molécula de adhesión intercelular; VCAM; molécula de adhesión celular vascular IL-6: interleucina 6. #: medida realizada en una muestra n=150 (GG: 67, GA+AA: 83) ¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.**: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.

Los individuos portadores del alelo A presentan menores valores de peso e IMC respecto de los individuos GG, pero estas diferencias no alcanzaron la significación estadística ni tras ajustar por variables de confusión (peso; p=0,275, IMC; p=0,335). Tampoco se obtuvieron diferencias en las frecuencia genotípicas entre obesos y no obesos (p=0,361), ni asociación con el riesgo de obesidad entre los portadores del alelo A frente a los homocigotos GG (OR=0,79 IC95%(0,57-1,09) p=0,154), ni tras ajustar por sexo y edad (OR=0,80 IC95%(0,57-1,11) p=0,174).

En la tabla 4.39. se muestran los resultados de asociación según el genotipo con datos lipídicos y de glucosa. Se observa que los individuos portadores del alelo A presentan menores niveles de triglicéridos que los que poseen el genotipo GG, en cambio, al realizar los análisis ajustados por variables de confusión las diferencias según el genotipo dejan de ser estadísticamente significativas ($p=0,202$).

No existen diferencias según el genotipo en los niveles de glucosa ($p=0,650$). Sin embargo, puesto que este polimorfismo se ha asociado con una menor sensibilidad a la insulina, se analizaron las frecuencias genotípicas entre diabéticos y no diabéticos sin obtener diferencias significativas ($p=0,104$), así como el riesgo de DMT2 que presentaban los portadores del alelo A frente a los GG, pero no se obtuvo una asociación significativa ni con los datos en crudo ($OR=1,04$ IC95%(0,76-1,43) $p=0,806$), ni ajustados por sexo y edad ($OR=2,07$ IC95%(0,74-1,42) $p=0,888$).

Tabla 4.39. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y de glucosa según el genotipo del polimorfismo rs6666089 del gen ADIPOR1 en la población estudiada.

	GG (n=291) Media \pm DS	GA+AA (n=308) Media \pm DS	P¹
CT (mg/dl)	214,3 \pm 37,8	212,4 \pm 37,9	0,538
c-LDL (mg/dl)	135,3 \pm 35,5	136,0 \pm 34,1	0,809
c-HDL (mg/dl)	52,0 \pm 11,4	51,4 \pm 12,0	0,576
TG (mg/dl)	135,1 \pm 69,8	124,1 \pm 62,4	0,039*
Glucosa (mg/dl)	126,7 \pm 43,0	125,1 \pm 40,7	0,650

CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos.¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y medicación. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y medicación.

Paralelamente no se observó heterogeneidad en los resultados según el sexo, la obesidad, la hipercolesterolemia o la hipertensión.

4.2.5.1.3 Polimorfismo rs7799039 en el gen LEP

En la tabla 4.40. se muestran las frecuencias genotípicas observadas en la población estudiada y según el sexo. No existen diferencias entre sexo en cuanto a la distribución del genotipo ($p=0,445$).

Tabla 4.40. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs7799039 del gen LEP en la población total y comparando por sexo.

Genotipos	Población total (n=1020)	Hombres (n=380)	Mujeres (n=640)	p
GG (%)	30,1	30,8	29,7	0,445
GA (%)	49,2	46,8	50,6	
AA (%)	20,7	22,4	19,7	

P: Valor de P obtenido mediante un test χ^2 , al comparar las frecuencias genotípicas según el sexo.

La distribución de los genotipos se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0,826$). Las frecuencias alélicas fueron de 0,547 para el alelo G y 0,453 para el alelo A.

Los resultados del análisis de asociación entre el genotipo del polimorfismo con variables antropométricas, adipocitoquinas, AGNE y marcadores de inflamación se muestran en la tabla 4.41.

Tabla 4.41. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina, AGNE y marcadores de inflamación (PCR, ICAM-1, VCAM-1, IL-6) según el genotipo del polimorfismo rs7799039 del gen LEP en la población estudiada.

	GG (n=307) Media \pm DS	GA (n=502) Media \pm DS	AA (n=211) Media \pm DS	p ¹
Edad (años)	66 \pm 6	67 \pm 6	67 \pm 6	0,766
Peso (kg)	76,4 \pm 12,1	76,4 \pm 12,1	76,0 \pm 11,7	0,914
IMC(kg/m ²)	30,3 \pm 4,2	30,4 \pm 4,5	30,2 \pm 4,3	0,734
Cintura (cm)	102,4 \pm 11,3	103,1 \pm 11,9	102,2 \pm 12,9	0,601
Adiponectina (μ g/ml)	10,3 \pm 5,8	10,6 \pm 5,9	9,9 \pm 5,1	0,359
Leptina (ng/ml)	25,9 \pm 23,0	27,2 \pm 22,4	26,0 \pm 23,2	0,677
AGNE (mg/dl)	17,3 \pm 7,9	17,2 \pm 7,2	16,8 \pm 6,9	0,667
PCR (mg/L)#	2,8 \pm 2,3	2,8 \pm 2,4	4,3 \pm 4,8	0,246
ICAM-1 (ng/mL)#	265,5 \pm 129,5	269,8 \pm 142,6	274,5 \pm 151,5	0,975
VCAM-1 (ng/mL)#	1149,6 \pm 370,3	1084,2 \pm 435,4	1016,0 \pm 431,9	0,442
IL-6 (pg/mL)#	3,2 \pm 1,9	3,5 \pm 2,0	3,1 \pm 1,3	0,558

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados; PCR: proteína C reactiva; ICAM: molécula de adhesión intercelular; VCAM; molécula de adhesión celular vascular IL-6: interleuquina 6. #: medida realizada en una muestra n=150 (GG: 42, GA: 74, AA: 34) ¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba ANOVA.

No se encuentran diferencias según el genotipo del polimorfismo rs7799039 del gen de la LEP con ninguna de las variables estudiadas relacionadas con obesidad, ni con los niveles de adipocitoquinas, AGNE o marcadores de inflamación. Al analizar las frecuencias genotípicas entre obesos y no obesos según el genotipo del polimorfismo de la LEP no se observaron diferencias ($p=0,732$). Tampoco se observó diferencias en el riesgo de obesidad entre los individuos portadores del alelo mutado A frente a los homocigotos salvajes GG (OR=1,04 IC95%(0,80-1,36) $p=0,763$), ni al ajustar por sexo y edad (OR=1,03 IC95%(0,79-1,35) $p=0,821$).

En la tabla 4.42. se muestran los resultados de asociación según el genotipo del polimorfismo rs7799039 del gen de la LEP con niveles plasmáticos de lípidos y glucosa.

Tabla 4.42. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y glucosa según el genotipo del polimorfismo rs7799039 del gen LEP en la población estudiada.

	GG (n=307) Media ± DS	GA (n=502) Media ± DS	AA (n=211) Media ± DS	P¹
CT (mg/dl)	206,3 ± 36,1	207,7 ± 38,5	203,2 ± 42,9	0,370
c-LDL (mg/dl)	129,4 ± 33,7	129,7 ± 35,5	124,2 ± 36,4	0,150*
c-HDL (mg/dl)	52,6 ± 12,9	52,6 ± 12,9	53,0 ± 13,4	0,911
TG (mg/dl)	125,5 ± 65,0	126,9 ± 65,4	128,6 ± 66,1	0,937
Glucosa (mg/dl)	120,3 ± 38,3	116,5 ± 36,7	123,9 ± 42,8	0,058*

CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos.

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba ANOVA. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y medicación. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y medicación.

Se observa que los niveles de glucosa a pesar de estar en el límite de la significación estadística no muestran una tendencia lineal según el genotipo del polimorfismo rs7799039 (p tendencia lineal=0,297), sin variar el nivel de significación tras ajustar por variables de confusión ($p=0,054$). Al agrupar a los portadores de alelo A no se observaron diferencias en los niveles de glucosa frente a los homocigotos GG (portadores de alelo A: 118,7±38,7 mg/dL; GG: 120,3±38,3 mg/dL; $p=0,546$). Paralelamente, se analizó la asociación entre el polimorfismo rs7799039 del gen de la LEP con el riesgo de DMT2. No se encontraron diferencias en las frecuencias genotípicas entre diabéticos y no diabéticos ($p=0,519$), ni diferencias en el riesgo de DMT2 entre los portadores del alelo mutado A frente a los GG (OR=1,00 IC95%(0,77-1,31) $p=0,986$), ni al ajustar por sexo y edad (OR=1,01 IC95%(0,77-1,33) $p=0,948$).

Al realizar los análisis según el sexo, los hombres mostraron diferencias en la concentración de leptina según el genotipo (GG: 10,3±8,4 ng/mL; GA: 14,6±14,2 ng/mL; AA: 14,2±17,9 ng/mL $p=0,026$), observándose mayor concentración de leptina en los individuos AA y GA que en los GG (p tendencia lineal=0,052), manteniéndose en el límite de la significación estadística tras ajustar por variables de confusión ($p=0,055$). En cambio, en mujeres no se observaron estas diferencias en la concentración de leptina según el genotipo (GG: 35,3±23,9 ng/mL; GA: 34,2±23,1 ng/mL; AA: 33,3±23,2 ng/mL, $p=0,751$). La interacción gen*sexo para la determinación de la concentración de leptina no fue significativa (p interacción=0,150) (Figura 4.10.).

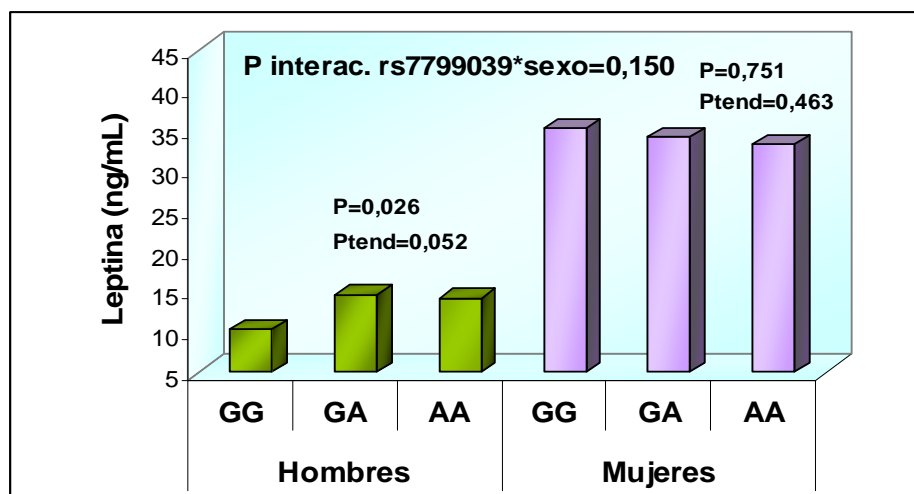


Figura 4.10. Media de concentración de leptina en hombres y mujeres según el genotipo del polimorfismo rs7799039 del gen LEP. (P interac.: p interacción; P: p-valor de comparación de medias mediante una prueba ANOVA; Ptend: p-valor obtenido de una prueba de tendencia lineal entre genotipos).

Paralelamente, también se observaron diferencias en la concentración de leptina en individuos no obesos según el genotipo del polimorfismo rs7799039 del gen LEP, siendo los homocigotos AA los que presentaban mayores niveles de leptina plasmática (GG: 15,7±13,4 ng/mL; GA: 18,2±14,1 ng/mL; AA: 21,4±20,8 ng/mL $p=0,017$), mostrando una tendencia lineal según el genotipo (p de tendencia=0,004), siendo significativas estas diferencias incluso tras ajustar por factores de confusión ($p=0,020$). En los individuos obesos las diferencias en la concentración de leptina según el genotipo no fueron significativas (GG: 36,1±26,0 ng/mL; GA: 35,8±25,4 ng/mL; AA: 31,0±24,8 ng/mL, $p=0,228$). En cambio, se observó una interacción significativa gen*obesidad en la concentración de leptina plasmática (p interacción=0,016) (Figura 4.11.).

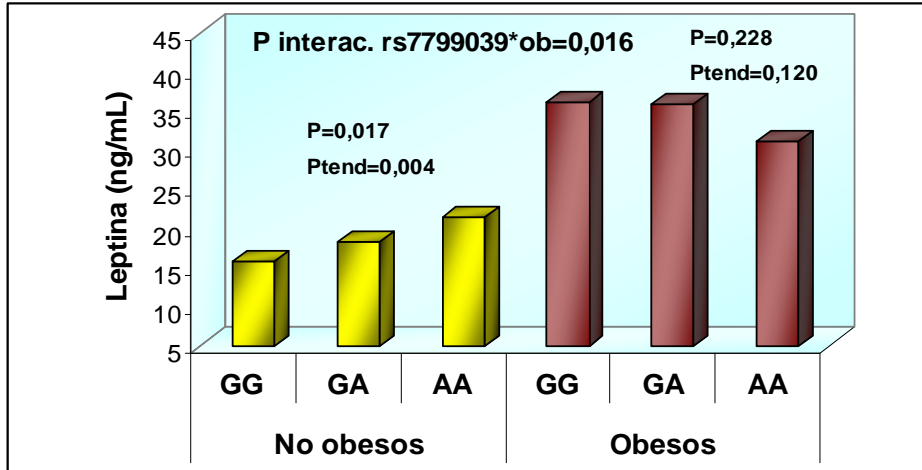


Figura 4.11. Media de concentración de leptina en no obesos y obesos según el genotipo del polimorfismo rs7799039 del gen LEP. (P interac.: p interacción P: p-valor de comparación de medias mediante una prueba ANOVA; Ptend: p-valor obtenido de una prueba de tendencia lineal entre genotipos).

Por otro lado, no se encontraron diferencias en función de la DMT2, la hipercolesterolemia o la hipertensión.

4.2.5.1.4 Polimorfismo rs1137101 en el gen RLEP

Las frecuencias genotípicas observadas en la población estudiada y en función el sexo se muestran en la tabla 4.43. No existen diferencias entre sexo en cuanto a la distribución del genotipo ($p=0,269$).

Tabla 4.43. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs1137101 del gen RLEP en la población total y comparando por sexo.

Genotipos	Población total (n=1013)	Hombres (n=379)	Mujeres (n=634)	p
AA (QQ) (%)	38,4	36,4	39,6	0,269
AG (QR) (%)	46,9	50,1	45,0	
GG (RR) (%)	14,7	13,5	15,5	

P: Valor de P obtenido mediante un test χ^2 , al comparar las frecuencias genotípicas según el sexo.

La distribución de los genotipos se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0,830$). Las frecuencias alélicas fueron de 0,618 para el Q y 0,382 para el R.

En la tabla 4.44. se muestran los resultados de asociación del polimorfismo rs1137101 (Q223R) del gen del RLEP con datos antropométricos, adipocitoquinas, AGNE y marcadores de inflamación.

Tabla 4.44. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina, AGNE y marcadores de inflamación (PCR, ICAM-1, VCAM-1, IL-6) según el genotipo del polimorfismo rs1137101 del gen RLEP en la población estudiada.

	QQ (n=389) Media \pm DS	QR (n=475) Media \pm DS	RR (n=149) Media \pm DS	P ¹
Edad (años)	67 \pm 6	66 \pm 6	67 \pm 6	0,920
Peso (kg)	75,6 \pm 12,1	77,2 \pm 12,0	75,8 \pm 12,0	0,112*
IMC(kg/m²)	30,1 \pm 4,7	30,4 \pm 4,3	30,8 \pm 4,1	0,282*
Cintura (cm)	102,1 \pm 11,6	103,5 \pm 12,1	101,9 \pm 12,4	0,204*
Adiponectina (μg/ml)	10,4 \pm 5,6	10,2 \pm 5,6	10,9 \pm 6,4	0,451
Leptina (ng/ml)	26,9 \pm 22,5	25,8 \pm 22,5	27,9 \pm 23,1	0,561
AGNE (mg/dl)	17,5 \pm 7,1	17,0 \pm 7,7	16,5 \pm 7,0	0,238
PCR (mg/L)#	4,0 \pm 3,7	2,7 \pm 1,8	2,3 \pm 1,5	0,089*
ICAM-1 (ng/mL)#	246,7 \pm 112,0	298,8 \pm 167,9	241,8 \pm 98,5	0,141
VCAM-1 (ng/mL)#	1059,1 \pm 425,6	1113,5 \pm 401,2	1093,6 \pm 448,1	0,792
IL-6 (pg/mL)#	3,5 \pm 2,1	3,2 \pm 1,9	3,2 \pm 1,1	0,787

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados; PCR: proteína C reactiva; ICAM: molécula de adhesión intercelular; VCAM; molécula de adhesión celular vascular IL-6: interleuquina 6. #: medida realizada en una muestra n=150 (QQ: 59, QR: 61, RR: 30) ¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba ANOVA. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.

No se alcanzaron diferencias significativas entre los parámetros antropométricos ni en los niveles de PCR según el genotipo del polimorfismo del gen del RLEP, ni al ajustar por factores de confusión (peso; $p=0,270$; IMC: $p=0,145$; cintura: $p=0,458$; PCR: $p=0,097$). Al agrupar a los portadores R estos presentaban mayor peso que los homocigotos QQ, aunque no llegaron a ser significativas estas diferencias (QQ: 75,6 \pm 12,1 kg; portadores R: 76,9 \pm 12,0 kg; $p=0,093$), ni al ajustar por factores de confusión ($p=0,141$). Paralelamente,

se estudió la prevalencia de este polimorfismo entre obesos y no obesos, así como el riesgo de obesidad asociado al mismo (Tabla 4.45.). Se observó que entre los portadores R había mayor prevalencia de individuos obesos, además tras ajustar por edad y sexo, se detectó que ser portador R confería mayor riesgo de obesidad frente a los homocigotos QQ ($p=0,043$).

Tabla 4.45. Análisis del riesgo de obesidad según el genotipo del polimorfismo rs1137101 del gen RLEP

Genotipo	Obeso %	No obeso %	P ¹	OR (IC 95%) P ² RR+RQ vs QQ	OR (IC 95%) P ³ RR+RQ vs QQ
QQ	35,6	41,2			
QR	48,3	45,2	0,163	1,27 (0,98-1,63) 0,068	1,30 (1,01-1,69) 0,043
RR	16,0	13,5			

P¹: p valor de comparación de frecuencias genotípicas entre obesos/ no obesos obtenido mediante un test Chi-Cuadrado. OR: valor de odds ratio referido a los portadores del alelo minoritario con respecto al genotipo homocigoto más prevalente, entre paréntesis se incluye el intervalo de confianza al 95% y p-valor obtenido al calcular la OR mediante regresión logística. ²: estimaciones brutas mediante regresión logística simple; ³: estimaciones ajustadas por edad y sexo mediante regresión logística múltiple.

Los resultados de asociación en función del genotipo del polimorfismo del gen RLEP con datos de lípidos y glucosa se muestran en la tabla 4.46.

Tabla 4.46. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y glucosa según el genotipo del polimorfismo rs1137101 del gen RLEP en la población estudiada.

	QQ (n=389) Media ± DS	QR (n=475) Media ± DS	RR (n=149) Media ± DS	P ¹
CT (mg/dl)	205,9 ± 38,1	208,8 ± 38,8	200,9 ± 40,2	0,092*
c-LDL (mg/dl)	128,4 ± 34,2	130,7 ± 35,8	123,2 ± 35,7	0,084*
c-HDL (mg/dl)	52,6 ± 13,1	52,8 ± 13,0	52,3 ± 12,8	0,918
TG (mg/dl)	128,0 ± 67,2	127,2 ± 64,9	120,9 ± 60,9	0,404
Glucosa (mg/dl)	120,2 ± 41,3	119,8 ± 36,7	116,1 ± 39,0	0,518

CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos.

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba ANOVA. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento hipolipemiente. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo edad, IMC, DMT2, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento hipolipemiente.

Los individuos con genotipo RR presentaban menores niveles de CT y de c-LDL que los QR y los RR, pero sin alcanzar diferencias significativas ($p=0,092$ y $p=0,084$ respectivamente), ni tras ajustar por variables de confusión (CT: $p=0,075$; c-LDL: $p=0,078$). No se observaron diferencias para el resto de variables estudiadas.

Al obtener los resultados según el sexo, se observaron diferencias en el IMC según el genotipo en el caso de los hombres, presentando mayor IMC los homocigotos RR (QQ: $28,8\pm 3,9$ Kg/m², QR: $29,6\pm 3,8$ Kg/m², RR: $30,4\pm 3,9$ Kg/m², $p=0,024$), con una tendencia lineal de incremento del IMC (p tendencia lineal= $0,011$). Tras ajustar por las variables de confusión estas asociaciones permanecieron estadísticamente significativas ($p=0,031$). Estas diferencias no se observaron en mujeres (QQ: $30,8\pm 4,9$ Kg/m², QR: $30,9\pm 4,4$ Kg/m², RR: $30,9\pm 4,3$ Kg/m², $p=0,968$), ni tampoco una tendencia en el IMC según el genotipo (p de tendencia= $0,821$). La interacción gen*sexo sobre el IMC no fue significativa (p interacción= $0,125$).

Al analizar el riesgo de obesidad entre los portadores R frente a los homocigotos QQ según el sexo, no se evidenció ningún impacto sobre el riesgo de obesidad ni en hombres (OR= $1,43$ IC95% $(0,93-2,20)$ $p=0,105$), ni en mujeres (OR= $1,22$ IC95% $(0,89-1,69)$ $p=0,215$), ni tras ajustar por edad en ninguno de los dos géneros (hombres: OR= $1,43$ IC95% $(0,93-2,20)$ $p=0,107$; mujeres OR= $1,23$ IC95% $(0,90-1,70)$ $p=0,201$).

No se detectaron diferencias entre obesos y no obesos, diabéticos y no diabéticos, hipercolesterolémicos y no hipercolesterolémicas ni entre hipertensos y no hipertensos.

4.2.5.2 Estudio de polimorfismos en genes relacionados con la ingesta energética y su asociación con obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular

En esta sección se estudia los polimorfismos rs4684677 situado en el gen GHRL, el rs572169 del gen GHSR, el rs1058046 del gen del PYY, el rs17782313 situado en el gen MC4R, para el gen CNR1 se engloban el rs806381 y el rs6454674, el rs925946 del gen BDNF y el rs2880411 situado en el NPY2R.

4.2.5.2.1 Polimorfismo rs4684677 en el gen GHRL

En la tabla 4.47. se muestran las frecuencias genotípicas observadas en la población estudiada y según el sexo. No existen diferencias entre sexo en cuanto a la distribución del genotipo ($p=0,560$).

Tabla 4.47. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs4684677 del gen GHRL en la población total y comparando por sexo.

Genotipos	Población total (n=896)	Hombres (n=337)	Mujeres (n=559)	p
TT (%)	91,1	90,5	91,4	
TA (%)	8,6	8,9	8,4	0,560
AA (%)	0,3	0,6	0,2	

P: Valor de P obtenido mediante un test χ^2 , al comparar las frecuencias genotípicas según el sexo.

La distribución de los genotipos se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0,415$). La frecuencia para el alelo T fue de 0,954 y para el alelo A fue de 0,046.

En la tabla 4.48. se muestran los resultados de asociación entre el polimorfismo rs4684677 (Leu90Gln) del gen GHRL con variables antropométricas, adipocitoquinas y AGNE. Debido a la escasa prevalencia del genotipo AA se agruparon con los heterocigotos para obtener mayor potencia estadística en los análisis realizados.

Tabla 4.48. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs4684677 del gen GHRL en la población estudiada.

	TT (n=816) Media \pm DS	TA+AA (n=80) Media \pm DS	P ¹
Edad (años)	67 \pm 6	66 \pm 6	0,348
Peso (kg)	76,0 \pm 12,0	75,1 \pm 10,7	0,522
IMC(kg/m ²)	30,3 \pm 4,3	29,6 \pm 4,0	0,211*
Cintura (cm)	102,6 \pm 12,0	101,1 \pm 10,1	0,325
Adiponectina (μ g/ml)	10,3 \pm 5,4	10,7 \pm 7,6	0,571
Leptina (ng/ml)	26,8 \pm 22,9	24,8 \pm 23,8	0,470
AGNE (mg/dl)	17,0 \pm 7,3	16,6 \pm 7,4	0,669

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student.

*: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.

Los individuos portadores del alelo A presentan menor IMC respecto los TT, aunque estos resultados no alcanzaron la significación estadística, ni tras ajustar por variables de confusión ($p=0,199$).

Tras la obtención de estos resultados se analizó las frecuencias genotípicas en obesos y no obesos, así como el riesgo riesgo de obesidad asociado al genotipo de la variante genética. Para la obtención de la OR se agruparon a los portadores del alelo A y se compararon con los individuos TT, los resultados se muestran en la tabla 4.49. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la prevalencia de los genotipos entre obesos y no obesos, de modo que en obesos se encontraron mayor porcentaje de individuos con genotipo TT. Además, se mostró en individuos portadores del alelo A menor riesgo de obesidad, incluso tras ajustar por edad y sexo.

Tabla 4.49. Análisis del riesgo de obesidad según el genotipo del polimorfismo rs4684677 del gen GHRL

Genotipo	Obeso %	No obeso %	P ¹	OR (IC 95%) P ² AA+TA vs TT	OR (IC 95%) P ³ AA+TA vs TT
TT	93,5	88,9			
TA	6,5	10,5	0,023	0,55 (0,34-0,90)	0,015
AA	0	0,7			

P¹: p valor de comparación de frecuencias genotípicas entre obesos/ no obesos obtenido mediante un test Chi-Cuadrado. OR: valor de odds ratio referido a los portadores del alelo minoritario con respecto al genotipo homocigoto más prevalente, entre paréntesis se incluye el intervalo de confianza al 95% y p-valor obtenido al calcular la OR mediante regresión logística. ²: estimaciones brutas mediante regresión logística simple; ³: estimaciones ajustadas por edad y sexo mediante regresión logística múltiple.

En la tabla 4.50. se muestran los resultados de asociación según el genotipo del polimorfismo rs4684677 (Leu90Gln) del gen de la GHRL con niveles plasmáticos de lípidos, glucosa y presión arterial.

Se observa que los portadores del alelo A presentan mayores niveles de c-HDL que los individuos TT, estas diferencias según el genotipo alcanzaron la significación estadística al ajustar por variables de confusión ($p=0,022$), observándose que al ajustar solo por sexo los resultados de asociación entre el genotipo y los niveles de c-HDL ya alcanzaban la significación ($p=0,050$). No se observaron diferencias en el resto de variables analizadas tanto en los análisis en crudo como en los ajustados.

Tabla 4.50. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG), glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del polimorfismo rs4684677 del gen GHRL en la población estudiada.

	TT (n=816) Media ± DS	TA+AA (n=80) Media ± DS	P¹
CT (mg/dl)	204,5 ± 38,1	207,8 ± 38,8	0,480
c-LDL (mg/dl)	126,7 ± 35,0	124,5 ± 34,2	0,599
c-HDL (mg/dl)	52,6 ± 12,6	55,4 ± 16,9	0,077**
TG (mg/dl)	128,2 ± 65,9	133,1 ± 64,3	0,264
Glucosa (mg/dl)	119,3 ± 39,4	121,6 ± 35,3	0,622
PAS (mmHg)	146,2 ± 20,1	147,4 ± 20,3	0,640
PAD (mmHg)	81,3 ± 10,2	81,4 ± 11,3	0,896

CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica;

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, HTA, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento hipolipemiente. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, HTA, IMC, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento hipolipemiente.

Al obtener los resultados según el sexo, se observó que el efecto del polimorfismo sobre los niveles de c-HDL solo se mantuvo en mujeres. En hombres no se obtuvieron diferencias según el genotipo en la concentración de c-HDL (TT: 48,6±10,8 mg/dL, TA+AA: 48,3±14,8 mg/dL; p=0,944). En cambio, en mujeres las portadoras del alelo A presentaban mayor concentración de c-HDL frente a las TT, con diferencias significativas (TT: 54,9±13,0 mg/dL, TA+AA: 59,8±16,8 mg/dL; p=0,018), incluso tras ajustar por factores de confusión (p=0,036). La interacción gen*sexo para la determinación de la concentración del c-HDL no fue significativa (p interacción=0,283).

No se obtuvo heterogeneidad en los resultados en función de la obesidad, la DMT2, la hipercolesterolemia y la hipertensión.

4.2.5.2.2 Polimorfismo rs572169 en el gen GHSR

Las frecuencias genotípicas observadas en la población estudiada y en hombres y mujeres se muestran en la tabla 4.51. No existen diferencias entre sexo en cuanto a la distribución del genotipo (p=0,387).

Tabla 4.51. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs572169 del gen GHSR en la población total y comparando por sexo.

Genotipos	Población total (n=644)	Hombres (n=234)	Mujeres (n=409)	p
GG (%)	53,9	51,7	55,3	0,387
GA (%)	39,0	42,3	37,2	
AA (%)	7,1	6,0	7,6	

P: Valor de P obtenido mediante un test χ^2 , al comparar las frecuencias genotípicas según el sexo.

Las frecuencias genotípicas se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0,947$). La frecuencia alélicas obtenidas fueron para el alelo G de 0,734 y para el alelo A de 0,266.

En las tablas 4.52. y 4.53. se muestran los resultados del análisis de asociación del polimorfismo rs572169 del gen GHSR con datos antropométricos, de adipocitoquinas y AGNE, y por otro lado con datos de lípidos, glucosa y presión arterial respectivamente. Los análisis se realizaron agrupando a los portadores del alelo A, debido a la baja prevalencia que este presentaba en la población, frente a los homocigotos GG, para obtener mayor potencia estadística.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas según el genotipo en ninguna de las variables estudiadas, tanto al realizar los análisis en crudo como ajustados. Tampoco se detectó asociación del polimorfismo estudiado en el gen GHSR con la obesidad, ya que no se observó heterogeneidad en las frecuencias genotípicas entre obesos y no obesos ($p=0,597$), y los portadores del alelo A frente a los homocigotos GG no mostraron diferencias en el riesgo de obesidad, ni en el análisis en crudo (OR=0,86 IC95%(0,63-1,17) $p=0,326$), ni ajustado por edad y sexo (OR=0,87 IC95%(0,63-1,19) $p=0,372$).

Paralelamente, para el polimorfismo rs572169 del gen GHSR no se observaron diferencias en los análisis de asociación con las variables objeto de estudio en función del género, la obesidad, la DMT2, la hipercolesterolemia o la hipertensión.

Tabla 4.52. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs572169 del gen GHSR en la población estudiada.

	GG (n=347) Media ± DS	GA+AA (n=297) Media ± DS	P¹
Edad (años)	66 ± 6	67 ± 6	0,137
Peso (kg)	76,2 ± 12,3	76,0 ± 11,2	0,771
IMC(kg/m2)	30,4 ± 4,5	30,0 ± 4,2	0,276
Cintura (cm)	102,2 ± 11,9	102,8 ± 11,7	0,559
Adiponectina (µg/ml)	10,7 ± 5,9	10,4 ± 5,8	0,639
Leptina (ng/ml)	25,5 ± 21,3	27,4 ± 25,0	0,302
AGNE (mg/dl)	17,0 ± 7,1	16,9 ± 7,1	0,789

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student.

Tabla 4.53. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG), glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del rs572169 del gen GHSR en la población estudiada.

	GG (n=347) Media ± DS	GA+AA (n=297) Media ± DS	P¹
CT (mg/dl)	207,5 ± 40,1	207,0 ± 37,8	0,862
c-LDL (mg/dl)	129,7 ± 35,6	128,5 ± 35,5	0,679
c-HDL (mg/dl)	52,2 ± 12,8	53,5 ± 14,0	0,233
TG (mg/dl)	131,6 ± 71,4	123,5 ± 65,3	0,165*
Glucosa (mg/dl)	120,7 ± 40,4	118,1 ± 39,1	0,411
PAS (mmHg)	145,4 ± 18,7	147,8 ± 20,8	0,126*
PAD (mmHg)	80,8 ± 10,3	81,6 ± 10,9	0,366

CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica;

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y medicación. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por por sexo, edad, IMC, DMT2, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y medicación

4.2.5.2.3 Polimorfismo rs1058046 en el gen PYY

En la tabla 4.54. se muestran las frecuencias genotípicas observadas en la población estudiada y según el sexo para el polimorfismo rs1058046 (T72R). No existen diferencias entre hombres y mujeres en la distribución del genotipo ($p=0,761$).

Tabla 4.54. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs1058046 del gen PYY en la población total y comparando por sexo.

Genotipos	Población total (n=1004)	Hombres (n=373)	Mujeres (n=631)	p
CC (TT) (%)	13,4	14,2	13,0	
GC (RT) (%)	45,3	44,0	46,1	0,761
GG (RR) (%)	41,2	41,8	40,9	

P: Valor de P obtenido mediante un test χ^2 , al comparar las frecuencias genotípicas según el sexo.

La distribución de los genotipos se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0,573$). Las frecuencias alélicas fueron de 0,361 para el T y 0,629 para el R.

Los resultados de los análisis de asociación del polimorfismo con datos antropométricos, adiponectina, leptina y AGNE se muestran en la tabla 4.55.

Tabla 4.55. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs1058046 del gen PYY en la población estudiada.

	TT (n=135) Media \pm DS	TR (n=455) Media \pm DS	RR (n=414) Media \pm DS	p ¹
Edad (años)	67 \pm 5	66 \pm 6	67 \pm 6	0,338
Peso (kg)	75,7 \pm 10,0	76,1 \pm 12,2	76,6 \pm 12,3	0,674
IMC(kg/m ²)	29,8 \pm 3,9	30,3 \pm 4,3	30,5 \pm 4,6	0,319
Cintura (cm)	102,6 \pm 12,0	102,6 \pm 12,2	103,1 \pm 11,7	0,815
Adiponectina (μ g/ml)	11,0 \pm 5,9	10,3 \pm 5,7	10,4 \pm 5,7	0,494
Leptina (ng/ml)	26,2 \pm 25,9	26,5 \pm 22,3	27,0 \pm 22,6	0,918
AGNE (mg/dl)	17,2 \pm 7,2	17,3 \pm 7,7	17,2 \pm 7,0	0,984

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba ANOVA.

No se encuentran diferencias según el genotipo del polimorfismo T72R del gen del PYY con ninguna de las variables antropométricas estudiadas, ni con los niveles de adipocitoquinas y AGNE. Al analizar las frecuencias genotípicas entre obesos y no obesos según el genotipo del polimorfismo del PYY no se observaron diferencias ($p=0,585$). Paralelamente, se agrupó a los portadores T para analizar el riesgo de obesidad entre los individuos portadores T frente a los homocigotos RR, pero no se evidenció diferencias en el riesgo de obesidad según el genotipo ($OR=0,93$ $IC95\%(0,73-1,20)$ $p=0,594$), ni al ajustar por sexo y edad ($OR=0,94$ $IC95\%(0,73-1,21)$ $p=0,606$).

En la tabla 4.56. se muestran los resultados de asociación según el genotipo del polimorfismo T72R del gen PYY con concentraciones de lípidos, glucosa y presión arterial.

Tabla 4.56. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG), glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del polimorfismo rs1058046 del gen PYY en la población estudiada.

	TT (n=135) Media \pm DS	TR (n=455) Media \pm DS	RR (n=414) Media \pm DS	p¹
CT (mg/dl)	207,7 \pm 38,8	207,5 \pm 37,9	205,2 \pm 39,8	0,656
c-LDL (mg/dl)	132,7 \pm 34,0	129,5 \pm 34,0	125,9 \pm 37,1	0,113*
c-HDL (mg/dl)	52,2 \pm 11,3	53,1 \pm 13,2	53,0 \pm 13,4	0,799
TG (mg/dl)	117,3 \pm 55,9	126,3 \pm 63,4	130,1 \pm 69,0	0,221*
Glucosa (mg/dl)	115,8 \pm 36,1	121,5 \pm 39,5	119,2 \pm 38,4	0,311
PAS (mmHg)	146,3 \pm 21,6	146,5 \pm 19,1	146,4 \pm 20,5	0,994
PAD (mmHg)	80,4 \pm 11,3	81,3 \pm 10,2	81,7 \pm 10,6	0,476

CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica; ¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba ANOVA. *: p valor $> 0,05$ de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, HTA, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y tratamiento hipolipemiente. **: p valor $< 0,05$ de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, HTA, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y tratamiento hipolipemiente.

Las diferencias en las concentraciones de c-LDL y triglicéridos no alcanzaron la significación estadística ni en los análisis en crudo ni en los ajustados por variables de confusión (c-LDL: $p=0,225$; triglicéridos: $p=0,442$). Tampoco se observaron diferencias según el genotipo en los niveles de glucosa ($p=0,311$). Sin embargo, puesto que este polimorfismo se ha asociado también con el riesgo de diabetes se analizaron las frecuencias genotípicas entre diabéticos y no diabéticos sin obtener diferencias significativas ($p=0,224$). También se analizó el riesgo de DMT2 que presentaban los portadores del alelo

T frente a los homocigotos RR, pero no se observaron diferencias en el riesgo de DMT2 según el genotipo ni en el análisis en crudo (OR=1,04 IC95%(0,81-1,34) p=0,762), ni ajustado por edad y sexo (OR=1,06 IC95%(0,82-1,37) p=0,664). No se detectaron diferencias según la obesidad, diabetes, hipercolesterolemia o hipertensión.

4.2.5.2.4 Polimorfismo rs17782313 en el gen MC4R

Las frecuencias genotípicas observadas en la población estudiada y en hombres y mujeres se muestran en la tabla 4.57. No se detectaron diferencias según el sexo en la distribución del genotipo (p=0,568).

Tabla 4.57. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs17782313 del gen MC4R en la población total y comparando por sexo.

Genotipos	Población total (n=1019)	Hombres (n=377)	Mujeres (n=642)	p
TT (%)	61,1	59,2	62,3	0,568
TC (%)	34,5	36,6	33,3	
CC (%)	4,3	4,2	4,4	

P: Valor de P obtenido mediante un test χ^2 , al comparar las frecuencias genotípicas según el sexo.

La distribución de genotipos observada en la muestra estudiada se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg (p=0,516). La frecuencia alélicas obtenidas fueron para el alelo T de 0,784 y para el alelo C de 0,216.

Puesto que el polimorfismo rs17782313 del gen MC4R presenta una baja prevalencia del genotipo CC, los análisis estadísticos de este polimorfismo se realizaron agrupando a los individuos heterocigotos con los homocigotos CC para compararlos frente a los que presentaban un genotipo TT. Los resultados de asociación con datos antropométricos y niveles de adipocitoquinas y AGNE se muestran en la tabla 4.58.

Los resultados muestran que los individuos portadores del alelo mutado C presentaban mayor peso que los homocigotos salvajes TT, estas diferencias se mantuvieron significativas incluso tras ajustar por variables confusorias (p=0,034). Igualmente, los portadores del alelo C también presentaban mayor perímetro de cintura que los individuos TT, aunque sin alcanzar la significación estadística estos resultados ni en el análisis en crudo (p=0,055) ni al ajustar por factores de confusión (p=0,125). Paralelamente, los portadores del alelo C también mostraron mayores niveles de AGNE plasmáticos, tanto al analizar los resultados en crudo (p=0,011) como ajustados (p=0,012).

Tabla 4.58. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs17782313 del gen MC4R en la población estudiada.

	TT (n=623) Media ± DS	TC+CC (n=396) Media ± DS	P¹
Edad (años)	66 ± 6	67 ± 6	0,287
Peso (kg)	75,7 ± 12,3	77,3 ± 11,7	0,035**
IMC(kg/m2)	30,2 ± 4,5	30,6 ± 4,2	0,158*
Cintura (cm)	102,2 ± 12,1	103,7 ± 11,6	0,055*
Adiponectina (µg/ml)	10,7 ± 6,0	10,1 ± 5,4	0,143*
Leptina (ng/ml)	26,3 ± 22,2	27,3 ± 23,6	0,514
AGNE (mg/dl)	16,7 ± 7,5	17,9 ± 6,8	0,011**

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.

Posteriormente, se estudió la prevalencia de este polimorfismo entre obesos y no obesos, así como el riesgo de obesidad asociado al mismo (Tabla 4.59.). Los individuos CC mostraron mayor porcentaje de individuos obesos, mientras que entre los TT se observó una menor prevalencia de obesos. Además, se detectó que los portadores del alelo C presentaban mayor riesgo de obesidad que los homocigotos TT, quedándose en el límite de la significación estadística esta asociación (p=0,099), incluso tras ajustar por sexo y edad (p=0,081).

Tabla 4.59. Análisis del riesgo de obesidad según el genotipo del polimorfismo rs17782313 del gen MC4R.

Genotipo	Obeso %	No obeso %	P¹	OR (IC 95%) P² CC+CT vs TT	OR (IC 95%) P³ CC+CT vs TT
TT	58,6	63,6			
TC	35,7	33,4	0,053	1,24 (0,96-1,59) 0,099	1,26 (0,97-1,62) 0,081
CC	5,7	3,0			

P¹: p valor de comparación de frecuencias genotípicas entre obesos/ no obesos obtenido mediante un test Chi-Cuadrado. OR: valor de odds ratio referido a los portadores del alelo minoritario con respecto al genotipo homocigoto más prevalente, entre paréntesis se incluye el intervalo de confianza al 95% y p-valor obtenido al calcular la OR mediante regresión logística. ²: estimaciones brutas mediante regresión logística simple; ³: estimaciones ajustadas por edad y sexo mediante regresión logística múltiple.

Los resultados de asociación en función del genotipo del polimorfismo del gen MC4R con datos de lípidos, glucosa y tensión arterial se muestran en la tabla 4.60.

Tabla 4.60. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG), glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del rs17782313 del gen MC4R en la población estudiada.

	TT (n=623) Media ± DS	TC+CC (n=396) Media ± DS	P¹
CT (mg/dl)	205,1 ± 37,3	206,9 ± 40,9	0,473
c-LDL (mg/dl)	127,5 ± 34,3	128,2 ± 36,6	0,758
c-HDL (mg/dl)	53,0 ± 13,5	52,4 ± 12,3	0,426
TG (mg/dl)	123,4 ± 61,8	133,3 ± 70,0	0,025**
Glucosa (mg/dl)	118,9 ± 38,1	119,1 ± 38,9	0,921
PAS (mmHg)	147,3 ± 20,3	145,6 ± 19,7	0,186
PAD (mmHg)	81,7 ± 10,7	81,0 ± 10,2	0,269

CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica.

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, HTA, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y tratamiento hipolipemiente. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, HTA, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y tratamiento hipolipemiente.

Respecto a los datos de lípidos, se observa que de nuevo los portadores del alelo C presentan, en este caso, mayores niveles de triglicéridos que los individuos TT (p=0,025). Se mantuvo la significación estadística tras ajustar por variables de confusión (p=0,043).

No se obtuvo heterogeneidad en los resultados según el sexo, ni entre obesos y no obesos, diabéticos y no diabéticos, hipercolesterolémicos y no hipercolesterolémicos, ni entre hipertensos y no hipertensos.

4.2.5.2.5 Polimorfismos del gen CNR1

En el gen CNR1 se analizaron los polimorfismos rs806381 y el rs6454674. En la tabla 4.61. se muestran las frecuencias genotípicas de los dos polimorfismos observadas en el total de la población y en función del sexo. No se observaron diferencias en las frecuencias genotípicas según el sexo en ninguno de los dos polimorfismos.

Tabla 4.61. Frecuencias genotípicas de los polimorfismos rs806381 y rs6454674 del gen CNR1 en la población total y comparando por sexo.

Polimorfismos	Genotipos	Población total	Hombres	Mujeres	P
rs806381		n=816	n=377	n=642	
	GG (%)	10,2	8,9	10,9	0,568
	GA (%)	44,4	46,5	43,1	
AA (%)	45,5	44,6	46,0		
rs6454674		n=692	n=262	n=430	
	GG (%)	9,0	8,4	9,3	0,887
	GT (%)	41,5	42,4	40,9	
TT (%)	49,6	49,2	49,8		

P: Valor de P obtenido mediante un test χ^2 , al comparar las frecuencias genotípicas según el sexo.

Las frecuencias genotípicas de los polimorfismos rs806381 y el rs6454674 se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0,699$ y $p=0,85$, respectivamente). Las frecuencias alélicas fueron: G 0,324 y A 0,676 para el polimorfismo rs806381 y G 0,297 y T 0,703 para el rs6454674.

En las tablas 4.62. y 4.63. se muestran los resultados del análisis de asociación entre los polimorfismos rs806381 y rs6454674 del gen CNR1 y variables antropométricas, niveles plasmáticos de adipocitoquinas y AGNE respectivamente.

Tabla 4.62. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs806381 del gen CNR1 en la población estudiada.

	GG (n=83) Media ± DS	GA (n=362) Media ± DS	AA (n=371) Media ± DS	P¹
Edad (años)	66 ± 5	67 ± 6	66 ± 6	0,122
Peso (kg)	77,8 ± 10,8	76,0 ± 11,4	75,6 ± 11,5	0,300
IMC(kg/m2)	31,2 ± 4,2	30,0 ± 4,0	30,1 ± 4,3	0,041**
Cintura (cm)	103,6 ± 11,6	103,2 ± 11,9	101,9 ± 11,4	0,260
Adiponectina (µg/ml)	10,4 ± 5,9	10,5 ± 6,1	10,5 ± 5,7	0,972
Leptina (ng/ml)	34,2 ± 29,5	25,1 ± 21,5	26,1 ± 21,7	0,005**
AGNE (mg/dl)	18,6 ± 7,9	17,1 ± 7,7	17,0 ± 7,1	0,192*

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba ANOVA.

*: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.

Tabla 4.63. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs6454674 del gen CNR1 en la población estudiada.

	GG (n=62) Media ± DS	GT (n=287) Media ± DS	TT (n=343) Media ± DS	P¹
Edad (años)	67 ± 6	67 ± 6	66 ± 6	0,404
Peso (kg)	77,7 ± 11,7	75,7 ± 11,4	75,5 ± 11,5	0,374
IMC(kg/m2)	31,1 ± 4,2	29,9 ± 4,0	30,0 ± 4,1	0,113*
Cintura (cm)	104,3 ± 14,1	102,9 ± 12,2	101,5 ± 10,8	0,129
Adiponectina (µg/ml)	9,8 ± 5,1	10,8 ± 6,2	10,5 ± 5,7	0,482
Leptina (ng/ml)	34,0 ± 29,2	25,6 ± 22,8	25,5 ± 21,8	0,027**
AGNE (mg/dl)	18,2 ± 7,0	16,8 ± 7,6	16,7 ± 7,2	0,317

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba ANOVA.

*: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.

Se observa una asociación entre los polimorfismos rs806381 y rs6454674 y los niveles de leptina, detectándose un incremento de la concentración de leptina de los homocigotos mutados a los homocigotos salvajes GG en ambos polimorfismos, siendo significativa esta tendencia para el rs806381 (rs806381: $p=0,005$ y p tendencia lineal= $0,002$; rs6454674: $p=0,027$ y p tendencia lineal= $0,311$). Se mantuvo la significación estadística para ambos polimorfismos tras ajustar por variables de confusión ($p=0,004$ y $p=0,016$, respectivamente).

Además, se observan diferencias en el valor de IMC según el genotipo en los 2 polimorfismos de manera que los homocigotos mutados presentan un valor de IMC similar a los heterocigotos y menor al de los homocigotos salvajes, pero sin embargo, solo se alcanzó la significación estadística en estas diferencias en el caso del polimorfismo rs806381 (rs806381: $p=0,041$ y p tendencia lineal= $0,018$; rs6454674: $p=0,113$ y p tendencia lineal= $0,639$), tras ajustar por las variables de confusión se mantuvieron estas diferencias para el rs806381 ($p=0,028$) y se quedaron en el límite de la significación para el rs645674 ($p=0,051$).

También se estudió el riesgo de obesidad asociado a los portadores del alelo minoritario con respecto a los homocigotos mutados. En el caso del rs806381 se detectaron diferencias según el genotipo entre obesos y no obesos ($p=0,049$), con una mayor prevalencia de obesos entre los individuos GG. Para el rs6454674 no se observaron diferencias en función de la obesidad ($p=0,443$). Igualmente, en los 2 casos los portadores del alelo minoritario mostraron mayor riesgo de obesidad, pero no se alcanzó la significación estadística, ni tras ajustar por edad y sexo (Tabla 4.64.).

Tabla 4.64. Análisis del riesgo de obesidad según el genotipo de los polimorfismos rs806381 y rs6454674 del gen CNR1

Genotipo	Obeso %	No obeso %	P ¹	OR (IC 95%) P ² 12+22 vs 11	OR (IC 95%) P ³ 12+22 vs 11
rs806381					
GG	12,9	7,7			
GA	42,8	45,9	0,049	1,09 (0,83-1,44) 0,550	1,10 (0,83-1,45) 0,514
AA	44,3	46,4			
rs6454674					
GG	10,4	7,7			
GT	41,5	41,4	0,443	1,12 (0,83-1,51) 0,465	1,12 (0,83-1,52) 0,454
TT	48,1	50,9			

11: homocigoto mayoritario; 12; heterocigoto; 22: homocigoto minoritario P¹: p valor de comparación de frecuencias genotípicas entre obesos/ no obesos obtenido mediante un test Chi-Cuadrado. OR: valor de odds ratio referido a los portadores del alelo minoritario con respecto al genotipo homocigoto más prevalente, entre paréntesis se incluye el intervalo de confianza al 95% y p-valor obtenido al calcular la OR mediante regresión logística. ²: estimaciones brutas mediante regresión logística simple; ³: estimaciones ajustadas por edad y sexo mediante regresión logística múltiple.

A continuación, se muestran en las tablas 4.65. y 4.66. los resultados del análisis de asociación entre datos lipídicos, glucosa y presión arterial con los polimorfismos rs806381 y rs6454674 del gen CNR1 respectivamente.

Tabla 4.65. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG), glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del polimorfismo rs806381 del gen CNR1 en la población estudiada.

	GG (n=83) Media ± DS	GA (n=362) Media ± DS	AA (n=371) Media ± DS	P¹
CT (mg/dl)	212,5 ± 43,7	205,4 ± 36,0	204,8 ± 40,3	0,264
c-LDL (mg/dl)	129,6 ± 38,4	128,3 ± 33,9	126,6 ± 35,5	0,719
c-HDL (mg/dl)	53,2 ± 11,9	52,2 ± 12,5	52,6 ± 13,6	0,804
TG (mg/dl)	126,2 ± 50,2	126,2 ± 62,4	132,6 ± 73,1	0,544
Glucosa (mg/dl)	111,7 ± 29,8	120,7 ± 40,1	118,9 ± 40,0	0,173
PAS (mmHg)	145,7 ± 19,0	147,0 ± 20,3	146,8 ± 20,0	0,853
PAD (mmHg)	81,6 ± 9,8	81,6 ± 10,8	81,6 ± 10,3	0,996

CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica;

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba ANOVA.

Tabla 4.66. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG), glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del polimorfismo rs6454674 del gen CNR1 en la población estudiada.

	GG (n=62) Media ± DS	GT (n=287) Media ± DS	TT (n=343) Media ± DS	P¹
CT (mg/dl)	209,9 ± 41,5	204,1 ± 36,7	203,4 ± 39,2	0,481
c-LDL (mg/dl)	125,0 ± 35,5	127,1 ± 34,9	125,3 ± 34,3	0,798
c-HDL (mg/dl)	53,8 ± 13,0	52,1 ± 13,0	53,1 ± 13,3	0,531
TG (mg/dl)	129,8 ± 51,1	127,5 ± 65,8	132,5 ± 72,3	0,555
Glucosa (mg/dl)	115,0 ± 34,7	119,1 ± 37,7	119,4 ± 41,1	0,716
PAS (mmHg)	147,3 ± 18,2	146,7 ± 19,9	145,9 ± 19,7	0,799
PAD (mmHg)	82,1 ± 9,4	81,6 ± 10,9	81,5 ± 10,4	0,919

CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica;

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba ANOVA.

Para los polimorfismos estudiados en el gen CNR1 no se observaron diferencias en los niveles de lípidos, glucosa o presión arterial en función del genotipo de los individuos.

Posteriormente al realizar los análisis estratificados por sexo, se evidenció en ambos polimorfismos que en mujeres, al igual que ocurría en la muestra total, se mostraban diferencias según el genotipo en los niveles de leptina y en el peso. Así, para el polimorfismo rs806381, las mujeres homocigotas GG presentaban niveles más elevados de leptina y mayor peso que las heterocigotas o las homocigotas AA (leptina; GG: $44,9 \pm 29,2$ ng/mL, GA: $32,2 \pm 22,0$ ng/mL, AA: $33,5 \pm 22,1$ ng/mL, $p=0,001$; peso; GG: $78,0 \pm 10,7$ Kg, GA: $72,6 \pm 11,0$ Kg, AA: $72,8 \pm 10,5$ Kg, $p=0,003$), siendo significativas estas diferencias tras ajustar por variables de confusión (leptina: $p<0,001$; peso: $p=0,001$). En hombres no se observaron diferencias significativas en la concentración de leptina ni en el peso, aunque los homocigotos GG mostraban menor concentración de leptina y menor peso respecto a los otros genotipos, a diferencia de las mujeres (leptina; GG: $9,5 \pm 5,9$ ng/mL, GA: $13,7 \pm 14,9$ ng/mL, AA: $12,6 \pm 12,4$ ng/mL, $p=0,246$; peso; GG: $77,4 \pm 11,4$ Kg, GA: $81,3 \pm 10,0$ Kg, AA: $80,7 \pm 11,5$ Kg, $p=0,242$), sin ser significativo tras ajustar por las variables de confusión (leptina; $p=0,370$; peso; $p=0,544$). Las interacciones gen*sexo para la determinación tanto de la concentración de leptina como del peso fueron significativas (leptina: p interacción= $0,005$; peso: p interacción= $0,024$) (Figura 4.12.).

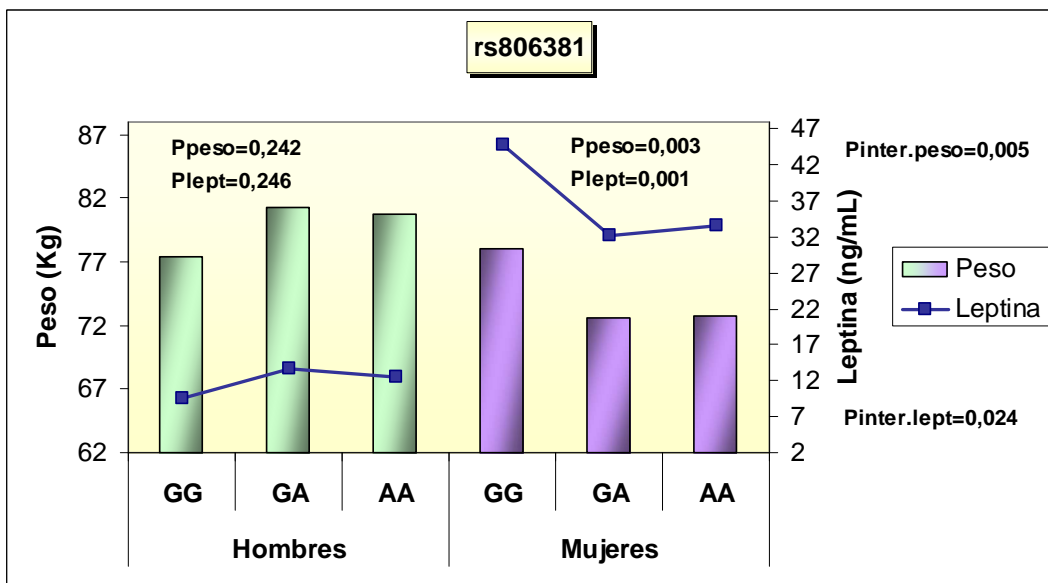


Figura 4.12. Media de concentración de leptina y peso en hombres y mujeres según el genotipo del polimorfismo rs806381 del gen CNR1. (lept.: leptina; P: p-valor de comparación de medias mediante una prueba ANOVA; P inter.: P interacción para el peso y la leptina).

Paralelamente, el polimorfismo rs6454674 también mostró solo en mujeres las mismas asociaciones con la concentración de leptina y el peso (leptina; GG: $46,3 \pm 28,8$ ng/mL, GT: $32,6 \pm 22,8$ ng/mL, TT: $33,0 \pm 22,7$ ng/mL, $p=0,003$; peso; GG: $77,3 \pm 11,5$ Kg, GT: $73,3 \pm 11,1$ Kg, TT: $72,2 \pm 10,3$ Kg, $p=0,022$), manteniéndose tras ajustar por las variables de confusión (leptina: $p=0,001$; peso: $p=0,011$). Igual que en el polimorfismo anterior, estas diferencias no se observaron en hombres, y se mantuvo la misma tendencia opuesta a la observada en mujeres en los niveles de leptina y peso según el genotipo, detectado también en el polimorfismo anterior (leptina; GG: $9,9 \pm 4,2$ ng/mL, GT: $14,3 \pm 17,7$ ng/mL, TT: $12,7 \pm 12,0$ ng/mL, $p=0,403$; peso; GG: $78,5 \pm 12,4$ Kg, GT: $79,5 \pm 10,8$ Kg, TT: $81,1 \pm 11,4$ Kg, $p=0,417$), sin ser significativo tras ajustar por las variables de confusión (leptina; $p=0,199$; peso; $p=0,697$). En cambio, para el polimorfismo rs6454674 sólo se alcanzó la significación estadística de la interacción gen*sexo para la determinación de la concentración de leptina (leptina: p interacción= $0,006$; peso: p interacción= $0,095$) (Figura 4.13.)

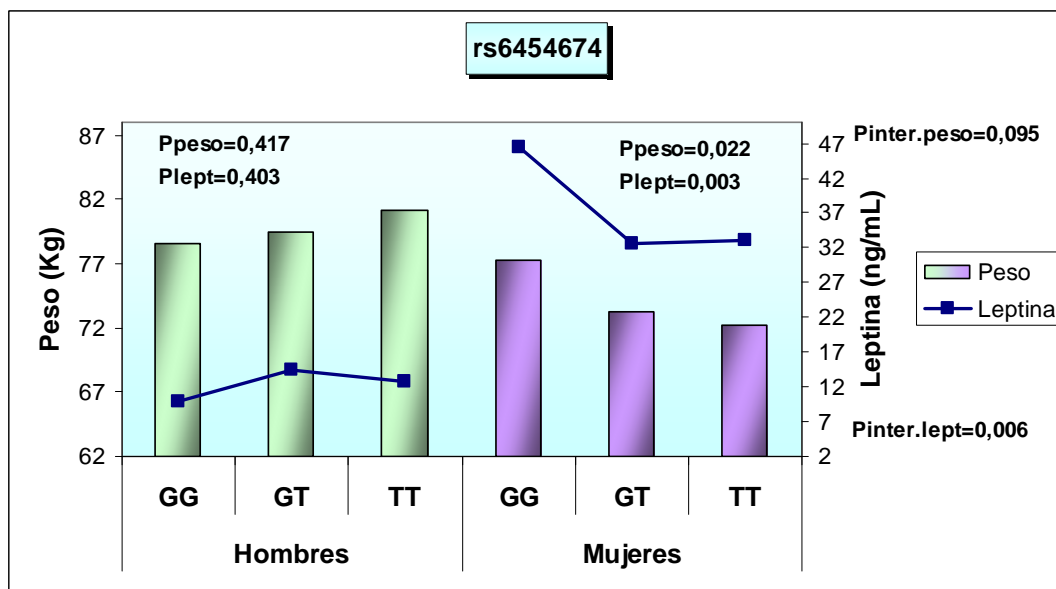


Figura 4.13. Media de concentración de leptina y peso en hombres y mujeres según el genotipo del polimorfismo rs6454674 del gen CNR1. (lept: leptina; P: p-valor de comparación de medias mediante una prueba ANOVA; P inter.: P interacción para el peso y la leptina).

No se observó heterogeneidad en los resultados entre obesos y no obesos, diabéticos y no diabéticos, hipertensos y no hipertensos o hipercolesterolémicos y no hipercolesterolémicos.

Por otro lado, se analizó el desequilibrio de ligamiento existente entre los polimorfismos estudiados en el gen CNR1 (Figura 4.14.). Se mostró que los polimorfismos rs806381 y rs6454674 se encuentran en fuerte desequilibrio de ligamiento.

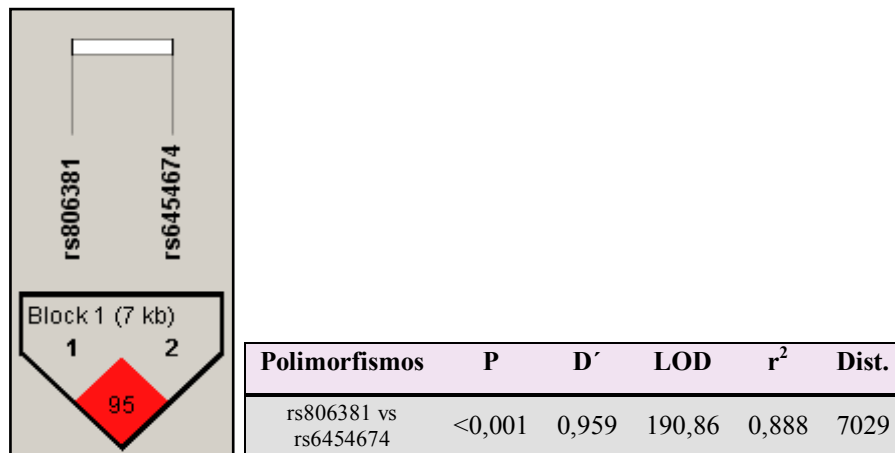


Figura 4.14. Gráfico de desequilibrio de ligamiento entre los polimorfismos rs806381 y rs6454674 del gen CNR1 y tabla con los parámetros medidos para el desequilibrio de ligamiento entre polimorfismos. P: p-valor para comparar las frecuencias genotípicas de ambos polimorfismos mediante un test Chi-cuadrado; D': coeficiente de desequilibrio relativo al máximo; LOD: logaritmo (base 10) de probabilidad de ligamiento entre los loci; r²: coeficiente de correlación entre los dos loci; Distancia: distancia medida en pares de bases entre los loci.

Los dos polimorfismos analizados en el gen CNR1 mostraron asociación con el IMC y con los niveles de leptina plasmática, por ello, se analizó si existían diferencias en estos parámetros al comparar los individuos con el haplotipo homocigoto salvaje para ambos polimorfismos (GG y GG) frente a los individuos que poseían el haplotipo homocigoto mutado de ambos polimorfismos (AA y TT). Se detectaron diferencias significativas tanto en el IMC como en la leptina, incluso tras ajustar por variables de confusión (IMC: p=0,012; leptina: p=0,009), siendo el haplotipo GG/GG el que presenta mayores valores tanto de IMC como de leptina. Los resultados se muestran en la tabla 4.67.

Tabla 4.67. Valores medios de IMC y leptina plasmática según el haplotipo salvaje y mutado de los polimorfismos rs806381 y rs6454674 del gen CNR1 en la población estudiada

	GG/GG (n=50) Media ± DS	AA/TT (n=290) Media ± DS	P¹
IMC(kg/m²)	31,3 ± 4,1	30,1 ± 4,1	0,046**
Leptina (ng/ml)	35,9 ± 30,5	26,7 ± 22,6	0,015**

IMC: Índice de masa corporal

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.

Paralelamente, se analizó las frecuencias entre obesos y no obesos según el haplotipo formado por ambos polimorfismos, quedándose estas diferencias en el límite de la significación (p=0,087). También las diferencias en el riesgo de obesidad entre los individuos con haplotipo formado por los homocigotos GG para ambos polimorfismos frente al haplotipo AA/TT se quedaron en el límite de la significación (OR=1,70 IC95% (0,92-3,13) p=0,087), incluso al ajustar por sexo y edad (OR=1,71 IC95% (0,92-3,16) p=0,091).

Además, se observó para el polimorfismo rs806381 un incremento de 3,7% en el IMC y de 31,0% en los niveles de leptina de los homocigotos mutados AA a los homocigotos salvajes GG. Para el polimorfismo rs6454674 el incremento de IMC y leptina de los homocigotos mutados TT a los individuos GG fue de 3,6% y 33,3% respectivamente. Al analizar estas diferencias al comparar el haplotipo doble mutado AATT frente al doble salvaje GGGG se observaron mayores diferencias, el IMC incrementó un 4,0% y la concentración de leptina un 35% (Figura 4.15.).

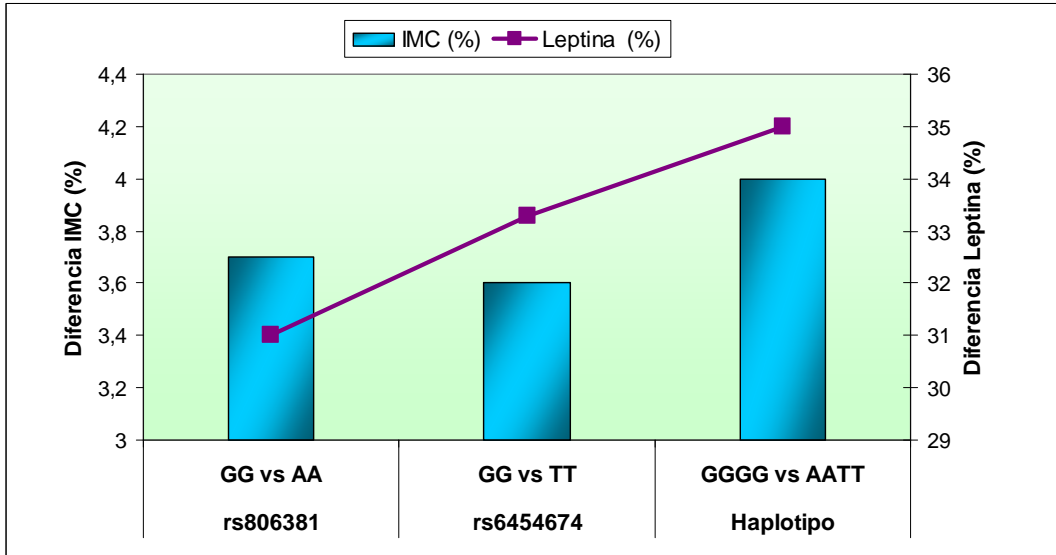


Figura 4.15. Efecto del genotipo homocigoto mutado frente al homocigoto salvaje y del haplotipo de estos genotipos sobre el IMC y los niveles plasmáticos de leptina, de los polimorfismos rs806381 y rs6454674 del CNR1 en la población estudiada.

4.2.5.2.6 Polimorfismo rs925946 en el gen BDNF

Las frecuencias genotípicas observadas en la población estudiada y en hombres y mujeres se muestran en la tabla 4.68. No se muestran diferencias entre hombres y mujeres en la distribución del genotipo ($p=0,454$).

Tabla 4.68. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs925946 del gen BDNF en la población total y comparando por sexo.

Genotipos	Población total (n=919)	Hombres (n=343)	Mujeres (n=576)	P
GG (%)	54,5	53,6	55,0	0,454
GT (%)	39,2	38,0	41,1	
TT (%)	6,3	5,2	6,9	

P: Valor de P obtenido mediante un test χ^2 , al comparar las frecuencias genotípicas según el sexo.

Las frecuencias genotípicas se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0,532$). La frecuencia alélicas obtenidas fueron para el alelo G de 0,741 y para el alelo T de 0,259.

En las tablas 4.69. y 4.70. se muestran los resultados del análisis de asociación del polimorfismo rs925946 del gen BDNF con datos antropométricos, de adipocitoquinas y AGNE, y por otro lado con datos de lípidos, glucosa y presión arterial, respectivamente. Los análisis se realizaron agrupando a los portadores del alelo T, debido a la baja prevalencia que este presentaba en la población, frente a los homocigotos GG, para obtener mayor potencia estadística.

No se encontró variabilidad según el genotipo del polimorfismo rs925946 del gen BDNF con datos antropométricos, con niveles de adiponectina, leptina o AGNE. Tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas según el genotipo con respecto a los niveles plasmáticos de lípidos o glucosa.

En cambio, los portadores del alelo mutado T mostraban mayores niveles de presión arterial, tanto sistólica como diastólica, que los individuos con genotipo GG, siendo significativas estas diferencias en el caso de la presión arterial diastólica ($p=0,032$). Pero al ajustar por factores de confusión estas diferencias no fueron significativas ni para la presión sistólica ($p=0,125$), ni para la diastólica ($p=0,145$).

Tabla 4.69. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs925946 del gen BDNF en la población estudiada.

	GG (n=501) Media ± DS	GT+TT (n=418) Media ± DS	p¹
Edad (años)	67 ± 6	66 ± 6	0,104
Peso (kg)	76,3 ± 12,3	76,2 ± 11,6	0,876
IMC(kg/m²)	30,3 ± 4,3	30,2 ± 4,3	0,833
Cintura (cm)	102,9 ± 12,3	102,5 ± 11,7	0,665
Adiponectina (µg/ml)	10,3 ± 5,5	10,6 ± 6,0	0,476
Leptina (ng/ml)	26,4 ± 21,9	26,6 ± 23,6	0,913
AGNE (mg/dl)	17,3 ± 7,6	17,2 ± 6,7	0,787

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student.

Tabla 4.70. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG), glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del rs925946 del gen BDNF en la población estudiada.

	GG (n=501) Media ± DS	GT+TT (n=418) Media ± DS	P¹
CT (mg/dl)	204,8 ± 37,3	207,8 ± 39,2	0,245
c-LDL (mg/dl)	127,4 ± 35,0	128,7 ± 35,2	0,582
c-HDL (mg/dl)	52,3 ± 12,4	53,3 ± 13,6	0,229
TG (mg/dl)	128,6 ± 64,1	126,6 ± 67,8	0,570
Glucosa (mg/dl)	120,4 ± 39,5	118,1 ± 38,0	0,388
PAS (mmHg)	144,9 ± 19,8	147,0 ± 19,5	0,107*
PAD (mmHg)	80,7 ± 10,1	82,2 ± 11,1	0,032*

CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica;

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento hipertensivo. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento hipertensivo .

Puesto que este polimorfismo se ha relacionado con obesidad, y tras los resultados obtenidos detectando una asociación en los análisis en crudo con presión arterial, se analizó el riesgo de obesidad y de hipertensión que poseían los portadores del alelo T frente a los homocigotos GG (Tabla 4.71.). Se observó que entre los homocigotos TT había mayor prevalencia de obesos y de hipertensos frente a los que no padecían estas patologías, aunque las diferencias según el genotipo se quedaron en el límite de la significación estadística tanto entre obesos y no obesos ($p=0,061$) como para hipertensión y no hipertensos ($p=0,067$). Paralelamente, no se evidenció que los portadores del alelo T presentaran mayor riesgo de obesidad, ni al realizar el análisis en crudo ($p=0,661$) ni ajustado por sexo y edad ($p=0,611$). Sin embargo, los portadores del alelo T si que presentaron mayor riesgo de hipertensión frente a los homocigotos GG, tanto en los análisis en crudo ($p=0,027$) como en los ajustados por sexo y edad ($p=0,017$).

Tabla 4.71. Análisis del riesgo de obesidad e hipertensión según el genotipo del polimorfismo rs925946 del gen BDNF.

Polimorfismo	Obeso %	No obeso %	P ¹	HTA %	No HTA %	P ¹
rs925946	GG	53,6	55,0		52,6	61,8
	GT	38,1	40,5	0,061	40,7	34,1
	TT	8,3	4,5		6,8	4,0
OR (IC 95%) P²	1,06 (0,82-1,38) P=0,661			1,46 (1,04-2,05) P=0,027		
OR (IC 95%) P³	1,07 (0,82-1,39) P=0,611			1,52 (1,08-2,14) P=0,017		

HTA: hipertenso; P¹: p valor de comparación de frecuencias genotípicas entre obesos y no obesos obtenido mediante un test Chi-Cuadrado. OR: valor de odds ratio referido a los portadores del alelo minoritario con respecto al genotipo homocigoto más prevalente, entre paréntesis se incluye el intervalo de confianza al 95% y p-valor obtenido al calcular la OR mediante regresión logística. ²: estimaciones brutas mediante regresión logística simple; ³: estimaciones ajustadas por edad y sexo mediante regresión logística múltiple.

Por otro lado, no se encontraron diferencias entre hombres y mujeres, ni entre diabéticos y no diabéticos según el genotipo del polimorfismo rs925946 del gen BDNF.

4.2.5.2.7 Polimorfismo rs2880411 en el gen NPY2R

En la tabla 4.72. se muestran las frecuencias genotípicas observadas en la población estudiada y según el sexo para el polimorfismo rs2880411 del gen NPY2R. No existen diferencias entre hombres y mujeres en la distribución del genotipo (p=0,930).

Tabla 4.72. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs2880411 del gen NPY2R en la población total y comparando por sexo.

Genotipos	Población total (n=779)	Hombres (n=384)	Mujeres (n=390)	p
TT (%)	72,7	72,1	73,3	
TG (%)	24,2	24,7	23,6	0,930
GG (%)	3,1	3,1	3,1	

P: Valor de P obtenido mediante un test χ^2 , al comparar las frecuencias genotípicas según el sexo.

La distribución de los genotipos se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg (p=0,243). Las frecuencias alélicas fueron de 0,849 para el T y 0,151 para el G.

Puesto que el polimorfismo rs2880411 del gen NPY2R presenta una baja prevalencia del genotipo GG, los análisis estadísticos de este polimorfismo se realizaron agrupando a los individuos heterocigotos con los homocigotos GG para compararlos frente a los que presentaban un genotipo TT. Los resultados de los análisis de asociación del polimorfismo con datos antropométricos, adiponectina, leptina y AGNE se muestran en la tabla 4.73.

Tabla 4.73. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs2880411 del gen NPY2R en la población estudiada.

	TT (n=568) Media ± DS	TG+GG (n=211) Media ± DS	p¹
Edad (años)	67 ± 6	66 ± 5	0,481
Peso (kg)	75,8 ± 11,5	76,9 ± 12,5	0,241
IMC(kg/m2)	30,2 ± 4,2	30,6 ± 4,4	0,254
Cintura (cm)	102,8 ± 11,5	102,6 ± 12,4	0,896
Adiponectina (µg/ml)	10,5 ± 5,8	10,7 ± 6,0	0,717
Leptina (ng/ml)	26,9 ± 22,5	27,1 ± 24,1	0,913
AGNE (mg/dl)	17,3 ± 7,2	17,7 ± 8,1	0,594

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student.

No se encuentran diferencias según el genotipo del polimorfismo rs2880411 del gen del NPY2R con ninguna de las variables antropométricas estudiadas, ni con los niveles de adipocitoquinas y AGNE. Paralelamente, se analizó las frecuencias genotípicas entre obesos y no obesos según el genotipo del polimorfismo de NPY2R, pero no se observaron diferencias ($p=0,930$). Tampoco se observó diferencias en el riesgo de obesidad entre los individuos portadores del alelo mutado G frente a los homocigotos salvajes TT ($OR=0,94$ $IC95\%(0,69-1,29)$ $p=0,708$), ni al ajustar por sexo y edad ($OR=0,95$ $IC95\%(0,69-1,31)$ $p=0,756$).

Los resultados de asociación en función del genotipo del polimorfismo del gen NPY2R con datos de lípidos, glucosa y presión arterial se muestran en la tabla 4.74.

Tabla 4.74. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG), glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del rs2880411 del gen NPY2R en la población estudiada.

	TT (n=568) Media ± DS	TG+GG (n=211) Media ± DS	p¹
CT (mg/dl)	203,9 ± 36,9	212,5 ± 41,8	0,006**
c-LDL (mg/dl)	125,2 ± 34,2	133,7 ± 36,4	0,003**
c-HDL (mg/dl)	52,7 ± 13,1	52,4 ± 12,4	0,757
TG (mg/dl)	131,6 ± 68,4	130,1 ± 65,1	0,919
Glucosa (mg/dl)	119,0 ± 39,5	123,0 ± 42,2	0,225
PAS (mmHg)	146,8 ± 19,3	147,0 ± 20,3	0,915
PAD (mmHg)	81,5 ± 10,6	82,0 ± 9,8	0,560

CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica;

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, HTA, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento hipolipemiente. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, HTA, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento hipolipemiente.

Los resultados muestran que los portadores de alelo mutado G tienen mayores niveles de CT que los homocigotos salvajes TT. Además se observa el mismo efecto en la concentración de c-LDL, donde igualmente los portadores de alelo G tienen niveles más elevados. Tras ajustar por variables de confusión las diferencias tanto para el CT como para el c-LDL según el genotipo continuaron siendo estadísticamente significativas (CT: p=0,006; c-LDL: p=0,005).

Al analizar los datos según la obesidad, se observó en obesos que el genotipo del polimorfismo rs2880411 influyó en el IMC, donde los portadores del alelo G presentaban mayor IMC que los TT, sin detectarse estas diferencias entre los no obesos (no obeso: TT: 26,8±2,3 Kg/m²; TG+GG: 27,0±1,9 Kg/m², p=0,528; obeso: TT: 33,4±2,9 Kg/m²; TG+GG: 34,3±3,0 Kg/m², p=0,012) quedándose en el límite de la significación al ajustar por las variables de confusión (p=0,074). La interacción gen*obesidad no fue significativa para la determinación del IMC (p interacción=0,322).

Por otro lado, no se encontraron diferencias según el sexo, ni entre diabéticos y no diabéticos, y ni hipertensos y no hipertensos.

4.2.5.3 Estudio de polimorfismos en genes relacionados con diabetes y su asociación con obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular

En este apartado se estudian polimorfismos los cuales se han visto asociados con la DMT2. Las variaciones analizadas en este apartado son el rs5219 del gen KCNJ11 y el rs757110 del gen ABCC8, del gen ENPP1 el polimorfismos rs1044498, el rs7961581 situado en una región entre el TSPAN8 y el LGR5.

4.2.5.3.1 Polimorfismo rs5219 en el gen KCNJ11

Las frecuencias genotípicas observadas en la población estudiada y en función el sexo para el polimorfismo rs5219 (E23K) del gen KCNJ11 se muestran en la tabla 4.75. No existen diferencias entre sexo en cuanto a la distribución del genotipo ($p=0,725$).

Tabla 4.75. Frecuencias genotípicas del polimorfismo E23K, rs5219 del gen KCNJ11 en la población total y comparando por sexo.

Genotipos	Población total (n=1032)	Hombres (n=386)	Mujeres (n=646)	p
CC (EE) (%)	37,7	37,0	38,1	0,725
CT (EK) (%)	49,3	50,8	48,5	
TT (KK) (%)	13,0	12,2	13,5	

P: Valor de P obtenido mediante un test χ^2 , al comparar las frecuencias genotípicas según el sexo.

La distribución de los genotipos se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0,104$). Las frecuencias alélicas fueron de 0,624 para el E y 0,376 para el K.

Los resultados de asociación del polimorfismos analizado con datos antropométricos, de adipocitoquinas y AGNE se muestran en la tabla 4.76. Posteriormente, en la tabla 4.77. se muestran con niveles de colesterol, triglicéidos, glucosa y presión arterial.

Tabla 4.76. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs5219 del gen KCNJ11 en la población estudiada.

	EE (n=389) Media ± DS	EK (n=509) Media ± DS	KK (n=134) Media ± DS	P¹
Edad (años)	67 ± 6	66 ± 6	66 ± 6	0,098
Peso (kg)	76,6 ± 12,7	75,9 ± 11,3	76,7 ± 12,4	0,601
IMC(kg/m2)	30,4 ± 4,5	30,1 ± 4,2	30,5 ± 4,6	0,484
Cintura (cm)	102,9 ± 11,6	102,9 ± 12,3	101,3 ± 11,8	0,401
Adiponectina (µg/ml)	10,8 ± 5,8	10,2 ± 5,6	10,3 ± 6,2	0,344
Leptina (ng/ml)	27,0 ± 22,9	25,9 ± 22,4	28,1 ± 24,2	0,563
AGNE (mg/dl)	17,1 ± 7,1	17,2 ± 7,4	17,0 ± 7,4	0,945

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba ANOVA.

Tabla 4.77. Niveles plasmáticos de colesterol total, triglicéridos, glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del polimorfismo rs5219 del gen KCNJ11 en la población estudiada.

	EE (n=389) Media ± DS	EK (n=509) Media ± DS	KK (n=134) Media ± DS	P¹
CT (mg/dl)	204,3 ± 40,6	205,5 ± 36,8	210,1 ± 37,7	0,325
TG (mg/dl)	129,0 ± 72,1	123,2 ± 58,2	135,8 ± 67,4	0,240
Glucosa (mg/dl)	119,5 ± 38,4	119,2 ± 37,7	114,6 ± 39,9	0,418
PAS (mmHg)	148,1 ± 21,6	145,3 ± 19,1	145,2 ± 18,7	0,083*
PAD (mmHg)	82,4 ± 10,8	80,5 ± 10,3	81,9 ± 10,3	0,030**

CT: colesterol total; TG: triglicéridos; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica.

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba ANOVA.

*: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento anhipertensivo.**: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento anhipertensivo.

Se observa que los individuos EE presentan mayores niveles de PAS que los heterocigotos y los homocigotos KK, sin observarse una tendencia en los resultados (p tendencia lineal=0,146). Tampoco las diferencias fueron significativas tras ajustar por factores de confusión (p=0,146). En el caso de la PAD, si se obtuvieron resultados significativos, incluso tras ajustar (p=0,002), aunque ambos homocigotos mostraron niveles

similares de PAD, sin detectarse con ello una tendencia según el genotipo (p tendencia lineal=0,680). Por otro lado, no se encontró asociación entre el polimorfismo E23K con datos antropométricos ni con datos bioquímicos.

Paralelamente, se analizó el riesgo de DMT2 asociado al polimorfismo E23K en la población estudiada, así como el riesgo de HTA dado los resultados obtenidos. Para ello se agrupó a los individuos portadores de K para analizar el riesgo frente a los individuos EE, bajo un modelo de herencia dominante. No se encontraron diferencias en la prevalencia de diabéticos ni hipertensos según el genotipo, ni diferencias en el riesgo de padecer ninguna de las patologías estudiadas entre los portadores de alelo que codifica para el aminoácido K frente a los homocigotos salvajes EE, tanto en los análisis en crudo como en los ajustados por edad y sexo (Tabla 4.78.).

Tabla 4.78. Análisis del riesgo de DMT2 e hipertensión según el genotipo del polimorfismo rs5219 del gen KCNJ11.

Polimorfismo	DMT2 %	No DMT2 %	P ¹	HTA %	No HTA %	P ¹
rs5219	EE	37,3	38,3	38,2	36,3	
	EK	50,4	48,4	49,0	50,5	0,784
	KK	12,2	13,3	12,8	13,2	0,892
OR (IC 95%) P ²	1,04 (0,81-1,35) P=0,742			0,92 (0,67-1,28) P=0,633		
OR (IC 95%) P ³	1,07 (0,83-1,39) P=0,602			0,94 (0,68-1,31) P=0,719		

DMT2: diabetes mellitus tipo II; HTA: hipertensión; P¹: p valor de comparación de frecuencias genotípicas entre obesos y no obesos obtenido mediante un test Chi-Cuadrado. OR: valor de odds ratio referido a los portadores del alelo minoritario con respecto al genotipo homocigoto más prevalente, entre paréntesis se incluye el intervalo de confianza al 95% y p-valor obtenido al calcular la OR mediante regresión logística. ²: estimaciones brutas mediante regresión logística simple; ³: estimaciones ajustadas por edad y sexo mediante regresión logística múltiple.

Por otro lado, no se encontraron diferencias entre hombres y mujeres, ni obesos y no obesos según el genotipo del polimorfismo rs5219 del gen KCNJ11.

4.2.5.3.2 Polimorfismo rs757110 en el gen ABCC8

Las frecuencias genotípicas observadas en la población estudiada y en hombres y mujeres se muestran en la tabla 4.79. No existen diferencias entre sexo en cuanto a la distribución del genotipo (p=0,903).

Tabla 4.79. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs757110 del gen ABCC8 en la población total y comparando por sexo.

Genotipos	Población total (n=885)	Hombres (n=334)	Mujeres (n=551)	P
TT (%)	38,3	39,2	37,7	0,903
TG (%)	49,4	48,8	49,7	
GG (%)	12,3	12,0	12,5	

P: Valor de P obtenido mediante un test χ^2 , al comparar las frecuencias genotípicas según el sexo.

Las frecuencias genotípicas se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0,079$). La frecuencia alélicas obtenidas fueron para el alelo T de 0,630 y para el alelo G de 0,370.

En las tablas 4.80. y 4.81. se muestran los resultados del análisis de asociación del polimorfismo rs757110 del gen ABCC8 con datos antropométricos, de adipocitoquinas y AGNE, y seguidamente con datos de lípidos generales, glucosa y presión arterial, respectivamente.

Tabla 4.80. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs757110 del gen ABCC8 en la población estudiada.

	TT (n=339) Media \pm DS	TG (n=437) Media \pm DS	GG (n=109) Media \pm DS	P ¹
Edad (años)	67 \pm 6	66 \pm 6	67 \pm 6	0,223
Peso (kg)	76,6 \pm 12,6	75,5 \pm 11,4	76,2 \pm 12,0	0,494
IMC(kg/m ²)	30,3 \pm 4,4	30,0 \pm 4,2	30,5 \pm 4,4	0,464
Cintura (cm)	102,6 \pm 11,6	102,3 \pm 12,1	101,5 \pm 11,3	0,717
Adiponectina (μ g/ml)	10,6 \pm 5,5	10,2 \pm 5,7	10,2 \pm 6,1	0,652
Leptina (ng/ml)	26,3 \pm 22,6	26,5 \pm 22,9	27,7 \pm 24,9	0,853
AGNE (mg/dl)	16,9 \pm 7,1	16,9 \pm 7,4	16,8 \pm 7,5	0,985

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba ANOVA.

Tabla 4.81. Niveles plasmáticos de colesterol total, triglicéridos, glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del polimorfismo rs757110 del gen ABCC8 en la población estudiada.

	TT (n=339) Media ± DS	TG (n=437) Media ± DS	GG (n=109) Media ± DS	p¹
CT (mg/dl)	203,2 ± 40,8	205,6 ± 35,8	210,6 ± 38,0	0,208
TG (mg/dl)	131,9 ± 74,3	123,7 ± 58,9	137,3 ± 68,9	0,281
Glucosa (mg/dl)	120,3 ± 39,6	120,8 ± 40,1	114,6 ± 37,4	0,336
PAS (mmHg)	147,7 ± 21,0	145,2 ± 19,5	145,4 ± 18,1	0,231*
PAD (mmHg)	82,4 ± 10,8	80,8 ± 10,5	80,5 ± 9,9	0,072**

CT: colesterol total; TG: triglicéridos; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica;

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba ANOVA.

*: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento anihipertensivo.**: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento anihipertensivo.

De manera similar a lo observado en el polimorfismo del gen KCNJ11, para el rs757110 del gen ABCC8 los individuos heterocigotos y homocigotos GG presentan niveles similares e inferiores de PAD a los que muestran los que poseen el genotipo TT, aunque sin mostrar una tendencia lineal (PAS: p de tendencia lineal=0,505; PAD: p de tendencia lineal=0,256). Estos resultados fueron significativos tras ajustar por las variables de confusión en el caso de la PAD (p=0,020). Para el resto de variables analizadas tampoco se encontró asociación con el polimorfismo del gen ABCC8.

De nuevo, se agrupó a los portadores del alelo mutado G junto a los heterocigotos, siguiendo un modelo de herencia dominante, para analizar el riesgo tanto DMT2 como de hipertensión (Tabla 4.82.). Para el polimorfismo rs757110 del gen ABCC8 tampoco se encontró diferencias según el genotipo entre diabéticos y no diabéticos, ni entre hipertensos y no hipertensos. Paralelamente, no se observó que los portadores del alelo G presentaran mayor riesgo de DMT2 ni de hipertensión, ni tras ajustar por sexo y edad, en la muestra estudiada.

Tabla 4.82. Análisis del riesgo de DMT2 e hipertensión según el genotipo del polimorfismo rs757110 del gen ABCC8.

Polimorfismo	DMT2 %	No DMT2 %	P ¹	HTA %	No HTA %	P ¹
rs757110	TT	38,2	38,8		39,5	34,2
	TG	50,4	48,8	0,873	48,9	51,6
	GG	11,5	12,4		11,6	14,3
OR (IC 95%) P²	1,03 (0,78-1,35) P=0,849			0,79 (0,56-1,14) P=0,206		
OR (IC 95%) P³	1,06 (0,81-1,40) P=0,674			0,79 (0,55-1,14) P=0,210		

DMT2: diabetes mellitus tipo II; HTA: hipertensión; P¹: p valor de comparación de frecuencias genotípicas entre obesos y no obesos obtenido mediante un test Chi-Cuadrado. OR: valor de odds ratio referido a los portadores del alelo minoritario con respecto al genotipo homocigoto más prevalente, entre paréntesis se incluye el intervalo de confianza al 95% y p-valor obtenido al calcular la OR mediante regresión logística. ²: estimaciones brutas mediante regresión logística simple; ³: estimaciones ajustadas por edad y sexo mediante regresión logística múltiple.

No se detectó heterogeneidad en los resultados según el sexo, ni entre obesos y no obesos.

Por otro lado, puesto que ambos genes residen adyacentes uno al lado del otro en el cromosoma 11 se analizó el desequilibrio de ligamiento existente entre los polimorfismos estudiados en los genes KCNJ11 y ABCC8 (Figura 4.16.). Se mostró que los polimorfismos rs5219 y rs757110 presentan un fuerte desequilibrio de ligamiento.

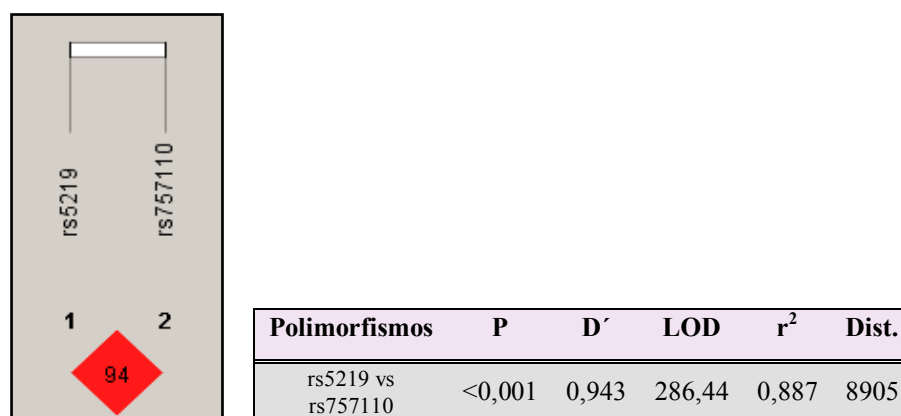


Figura 4.16. Gráfico de desequilibrio de ligamiento entre los polimorfismos rs5219 del gen KCNJ11 y el rs757110 del gen ABCC8 y tabla con los parámetros medidos para el desequilibrio de ligamiento entre polimorfismos. P: p-valor para comparar las frecuencias genotípicas de ambos polimorfismos mediante un test Chi-cuadrado; D': coeficiente de desequilibrio relativo al máximo; LOD: logaritmo (base 10) de probabilidad de ligamiento entre los loci; r²: coeficiente de correlación entre los dos loci; Dist: distancia medida en pares de bases entre los loci.

Los polimorfismos rs5219 del gen KCNJ11 y rs757110 del gen ABCC8 mostraron asociación con los niveles de PAD y PAS, aunque en esta última no se llegó a alcanzar la significación. Por ello, se analizó si existían diferencias en los niveles de PAS y PAD según la combinación genotípica de ambos polimorfismos, así como en la concentración de glucosa, al ser polimorfismos asociados con el riesgo de DMT2. Dado que el haplotipo homocigoto mutado de ambos polimorfismos (KK para el rs5219 y GG para el rs757110) mostraba baja prevalencia en la población, se analizaron las diferencias entre el haplotipo formado por el doble homocigoto salvaje de en ambos polimorfismos (EE/TT) frente al haplotipo formado por los portadores del alelo mutado (portadores K y portadores G, respectivamente). Los resultados se muestran en la tabla 4.83.

Tabla 4.83. Valores medios de PAS y PAD según el haplotipo formado por el haplotipo doble homocigoto por el haplotipo formado por los portadores de los alelos mutados de los polimorfismos rs5219 y rs757110 en la población estudiada

	EE/TT (n=320) Media ± DS	Port. K /Port. G (n=529) Media ± DS	P¹
Glucosa (mg/dl)	119,7 ± 37,2	119,1 ± 39,2	0,821
PAS (mmHg)	147,9 ± 21,3	145,3 ± 19,1	0,075
PAD (mmHg)	82,6 ± 10,9	80,7 ± 10,4	0,012*

PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica; Port: portadores; ¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento anihipertensivo. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento anihipertensivo.

Se observaron diferencias en los niveles PAD según el haplotipo que presentaban los individuos, siendo los portadores del haplotipo CCTT, doble homocigoto salvaje, los que mostraron mayores niveles de PAD, pero estas diferencias no alcanzaron la significación estadística tras ajustar por las variables de confusión (p=0,152).

Paralelamente, se analizó el riesgo tanto de DMT2 como de HTA entre los individuos que presentaban el haplotipo formado por los portadores del alelo mutado en ambos polimorfismos (portadores K y portadores G, respectivamente) frente al haplotipo CCTT. Aunque no se detectaron diferencias en el riesgo de estas patologías según el haplotipo formado por los polimorfismos rs5219 del gen KCNJ11 y el rs757110 del ABCC8 (Tabla 4.84).

Tabla 4.84. Análisis del riesgo de DMT2 e hipertensión según el haplotipo formado por los portadores de los alelos mutados frente al haplotipo doble homocigoto salvaje de los polimorfismos rs5219 y rs757110 en la población estudiada.

Haplotipo	DMT2 %	No DMT2 %	P ¹	HTA %	No HTA %	P ¹
Port. K Port. G EE/TT	65,2 37,5	61,8 38,2	0,821	61,1 38,9	66,4 33,6	0,225
OR (IC 95%) P ²	1,03 (0,78-1,37) P=0,821			0,96 (0,90-1,02) P=0,225		
OR (IC 95%) P ³	1,07 (0,80-1,42) P=0,647			0,79 (0,54-1,15) P=0,225		

DMT2: diabetes mellitus tipo II; HTA: hipertensión; Port: portadores. P¹: p valor de comparación de frecuencias haplotípicas entre obesos y no obesos obtenido mediante un test Chi-Cuadrado. OR: valor de odds ratio al comparar el haplotipo formado por los portadores de los alelos mutados (portadores K y portadores G) frente al haplotipo doble homocigoto salvaje (CC/TT), entre paréntesis se incluye el intervalo de confianza al 95% y p-valor obtenido al calcular la OR mediante regresión logística. ²: estimaciones brutas mediante regresión logística simple; ³: estimaciones ajustadas por edad y sexo mediante regresión logística múltiple.

4.2.5.3.3 Polimorfismo rs1044498 en el gen ENPP1

En la tabla 4.85. se muestran las frecuencias genotípicas observadas en la población estudiada y según el sexo para el polimorfismo rs1044498 (K121Q) del gen ENPP1. No se encontraron diferencias entre hombres y mujeres en la distribución del genotipo (p=0,781).

Tabla 4.85. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs1044498 del gen ENPP1 en la población total y comparando por sexo.

Genotipos	Población total (n=993)	Hombres (n=384)	Mujeres (n=390)	p
AA (KK) (%)	65,1	63,7	65,9	0,781
AC (KQ) (%)	31,2	32,5	30,4	
CC (QQ) (%)	3,7	3,7	3,7	

P: Valor de P obtenido mediante un test χ^2 , al comparar las frecuencias genotípicas según el sexo.

La distribución de los genotipos se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg (p=0,978). Las frecuencias alélicas fueron de 0,818 para el alelo que codifica para el aminoácido K y de 0,182 para el que codifica para Q.

Puesto que la prevalencia del polimorfismo K121Q es muy baja en la población, se agrupó a los portadores Q para la realización de los análisis estadísticos y así compararlos frente a los homocigotos KK. Los resultados de los análisis de asociación del polimorfismo con datos antropométricos, adiponectina, leptina y AGNE se muestran en la tabla 4.86.

Tabla 4.86. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs1044498 del gen ENPP1 en la población estudiada.

	KK (n=646) Media ± DS	KQ+QQ (n=347) Media ± DS	p¹
Edad (años)	67 ± 6	67 ± 6	0,881
Peso (kg)	76,2 ± 11,9	76,7 ± 12,1	0,501
IMC(kg/m2)	30,2 ± 4,5	30,5 ± 4,2	0,449
Cintura (cm)	102,1 ± 11,7	104,1 ± 12,3	0,011**
Adiponectina (µg/ml)	10,3 ± 5,8	10,5 ± 5,4	0,591
Leptina (ng/ml)	27,0 ± 23,1	25,4 ± 21,7	0,300
AGNE (mg/dl)	17,3 ± 7,6	16,8 ± 6,9	0,343

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.

Los portadores del alelo 121Q presentan mayor perímetro de la cintura que los homocigotos KK, alcanzando la significación estadística tanto en el modelo crudo como ajustado (p ajustada=0,012). Con ello se estudió el riesgo de obesidad asociado al alelo 121Q. Pero no se observaron diferencias en las frecuencias entre obesos y no obesos según el genotipo (p=0,171). Los portadores del alelo 121Q mostraron mayor riesgo de obesidad, aunque sin llegar a la significación (OR=1,22 IC95%(0,94-1,59) p=0,136), ni al ajustar por sexo y edad (OR=1,25 IC95%(0,96-1,62) p=0,103).

En la tabla 4.87. se muestran los resultados de asociación según el genotipo del polimorfismo rs1044498 del gen ENPP1 con niveles plasmáticos de colesterol total, triglicéridos, glucosa y presión arterial.

Tabla 4.87. Niveles plasmáticos de colesterol total, triglicéridos, glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del rs1044498 del gen ENPP1 en la población estudiada.

	KK (n=646) Media ± DS	KQ+QQ (n=347) Media ± DS	p¹
CT (mg/dl)	206,6 ± 38,8	204,0 ± 37,5	0,325
TG (mg/dl)	127,3 ± 63,6	126,3 ± 67,7	0,544
Glucosa (mg/dl)	118,9 ± 39,6	119,1 ± 36,5	0,966
PAS (mmHg)	145,2 ± 20,4	148,3 ± 19,4	0,020*
PAD (mmHg)	81,2 ± 10,8	81,6 ± 10,2	0,548

CT: colesterol total; TG: triglicéridos; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica;

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento antihipertensivo. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento antihipertensivo.

Los resultados muestran los niveles de PAS son mayores en los portadores 121Q que en los individuos KK, pero al ajustar por las variables de confusión se pierde la significación en estas diferencias (p=0,080). Para los niveles de PAD no se detectó heterogeneidad según el genotipo de los individuos. Tampoco se observaron diferencias en el resto de variables analizadas entre los portadores Q y los KK.

Dado que el polimorfismo K121Q se ha asociado con DMT2, se estudió el riesgo asociado a esta patología en la muestra estudiada. Las frecuencias genotípicas no diferían entre diabéticos y no diabéticos (p=0,845), ni se detectó un mayor riesgo de DMT2 entre los portadores Q que en los individuos KK (OR=1,08 IC95%(0,83-1,40) p=0,587), ni tras ajustar por sexo y edad (OR=1,05 IC95%(0,80-1,37) p=0,728).

Tampoco se observaron diferencias según el sexo, ni en función de la obesidad ni la hipertensión.

4.2.5.3.4 Polimorfismo rs7961581 en el gen TSPAN8/LGR5

Las frecuencias genotípicas observadas en la población estudiada y según el sexo para el polimorfismo rs7961581 situado en una región integénica entre el TSPAN8 y el LGR5 se muestran en la tabla 4.88. No existen diferencias entre hombres y mujeres en la distribución del genotipo (p=0,512).

Tabla 4.88. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs7961581 del gen TSPAN8/LGR5 en la población total y comparando por sexo.

Genotipos	Población total (n=1022)	Hombres (n=381)	Mujeres (n=641)	p
CC (%)	11,5	10,8	12,0	0,512
CT (%)	41,6	43,8	40,0	
TT (%)	46,9	45,4	47,7	

P: Valor de P obtenido mediante un test χ^2 , al comparar las frecuencias genotípicas según el sexo.

La distribución de los genotipos se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0,112$). Las frecuencias alélicas fueron de 0,323 para el C y 0,677 para el T.

Los resultados de los análisis de asociación del polimorfismo con datos antropométricos, adiponectina, leptina y AGNE se muestran en la tabla 4.89.

Tabla 4.89. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs7961581 del gen TSPAN8/LGR5 en la población estudiada.

	CC (n=118) Media \pm DS	CT (n=425) Media \pm DS	TT (n=479) Media \pm DS	P ¹
Edad (años)	68 \pm 6	66 \pm 6	66 \pm 6	0,875
Peso (kg)	73,2 \pm 10,8	76,4 \pm 12,6	76,9 \pm 11,6	0,010**
IMC(kg/m ²)	29,3 \pm 4,0	30,4 \pm 4,6	30,4 \pm 4,2	0,042**
Cintura (cm)	100,6 \pm 10,2	102,7 \pm 13,2	103,1 \pm 11,0	0,136*
Adiponectina (μ g/ml)	10,6 \pm 5,9	10,4 \pm 5,4	10,4 \pm 6,0	0,936
Leptina (ng/ml)	23,5 \pm 18,6	27,0 \pm 24,3	26,1 \pm 22,0	0,313
AGNE (mg/dl)	16,9 \pm 8,1	17,6 \pm 7,7	16,8 \pm 6,8	0,295

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba ANOVA. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.

Se observa una influencia del polimorfismo rs7961581 en las variables antropométricas, ya que los individuos con genotipo CC presentan menor peso, IMC y perímetro de la cintura con respecto a los heterocigotos y los homocigotos TT, mostrando

una tendencia lineal en los tres parámetros (peso: $p=0,003$; IMC: $p=0,015$; cintura: $p=0,047$). Las diferencias se mantuvieron significativas para el peso y el IMC tras realizar los análisis ajustados por las variables de confusión (peso: $p=0,018$; IMC: $p=0,035$). Pese a la obtención de estos resultados, no se encontraron diferencias en la prevalencia entre obesos y no obesos según el genotipo ($p=0,410$), ni un mayor impacto de obesidad entre los portadores del alelo C frente a los que poseían un genotipo TT, ni en el análisis en crudo ni tras ajustar por sexo y edad (crudo: $OR=1,04$ $IC95\%(0,81-1,33)$ $p=0,744$; ajustado: $OR=1,06$ $IC95\%(0,83-1,36)$ $p=0,634$).

En la tabla 4.90. se muestran los resultados de asociación según el genotipo del polimorfismo rs7961581 con niveles plasmáticos de colesterol total, triglicéridos, glucosa y presión arterial.

Tabla 4.90. Niveles plasmáticos de colesterol total, triglicéridos, glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del polimorfismo rs7961581 del gen TSPAN8/LGR5 en la población estudiada.

	CC (n=118) Media ± DS	CT (n=425) Media ± DS	TT (n=479) Media ± DS	P¹
CT (mg/dl)	205,2 ± 38,7	206,7 ± 39,6	205,2 ± 38,1	0,848
TG (mg/dl)	127,4 ± 67,4	124,5 ± 61,5	130,0 ± 67,8	0,538
Glucosa (mg/dl)	122,0 ± 42,7	120,5 ± 39,1	117,4 ± 36,8	0,341
PAS (mmHg)	147,7 ± 21,6	147,1 ± 20,7	145,4 ± 19,2	0,344
PAD (mmHg)	80,8 ± 10,7	81,7 ± 10,6	81,1 ± 10,5	0,567

CT: colesterol total; TG: triglicéridos; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica;

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba ANOVA.

Aunque se observa un descenso en los niveles de glucosa desde los homocigotos CC hacia los homocigotos TT, tanto las diferencias como la tendencia según el genotipo en los niveles de glucosa no alcanzaron la significación estadística ($p=0,341$; p tendencia lineal=0,241). Tampoco se obtuvieron diferencias en el resto de parámetros de lípidos analizados y ni en la presión arterial.

Paralelamente, se analizó si existía relación entre el polimorfismo rs7961581 y el riesgo a DMT2 en la población estudiada (Tabla 4.91.). Se observó que entre los individuos CC había mayor porcentaje de diabéticos que de no diabéticos, pese a no alcanzar la significación las diferencias de prevalencia de DMT2 según el genotipo ($p=0,171$). Junto a estos resultados, se mostró que los portadores del alelo C presentaban mayor riesgo de DMT2 que los homocigotos TT, quedándose en límite de la significación tanto en el análisis

en crudo ($p=0,069$) como en el ajustado por sexo y edad ($p=0,095$), manteniéndose también en el límite tras añadir entre las variables de confusión el peso y el IMC ($p=0,085$).

Tabla 4.91. Análisis del riesgo de DMT2 según el genotipo del polimorfismo rs7961581 del gen TSPAN8/LGR5.

Genotipo	DMT2 %	No DMT2 %	P ¹	OR (IC 95%) P ² CC+TC vs TT	OR (IC 95%) P ³ CC+TC vs TT
CC	12,6	10,5			
CT	43,5	39,9	0,171	1,26 (0,98-1,61) 0,069	1,24 (0,96-1,60) 0,095
TT	43,9	49,6			

DMT2: Diabetes Mellitus tipo II. P¹: p valor de comparación de frecuencias genotípicas entre obesos/ no obesos obtenido mediante un test Chi-Cuadrado. OR: valor de odds ratio referido a los portadores del alelo minoritario con respecto al genotipo homocigoto más prevalente, entre paréntesis se incluye el intervalo de confianza al 95% y p-valor obtenido al calcular la OR mediante regresión logística. ²: estimaciones brutas mediante regresión logística simple; ³: estimaciones ajustadas por edad y sexo mediante regresión logística múltiple.

Los resultados fueron homogéneos entre hombres y mujeres, hipercolesterolémicos y no hipercolesterolémicos y entre hipertensos y no hipertensos.

4.2.5.4 Estudio de polimorfismos en genes relacionados con el metabolismo lipídico y su asociación con obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular

En este apartado se estudian los polimorfismos rs1761667 y rs2151916 situados en el gen CD36, el rs3812316 del gen MLXIPL, el polimorfismo rs17145738 situado en una región intergénica próxima al gen MLXIPL, el rs3754686 del gen MCM6 y por último el polimorfismo rs7120118 del gen NR1H3.

4.2.5.4.1 Polimorfismos del gen CD36

En el gen CD36 se analizaron los polimorfismos rs1761667 y el rs2151916. En la tabla 4.92. se muestran las frecuencias genotípicas de los dos polimorfismos observadas en el total de la población y en función del sexo. No se observaron diferencias en las frecuencias genotípicas según el sexo en ninguno de los dos polimorfismos.

Tabla 4.92. Frecuencias genotípicas de los polimorfismos rs1761667 y rs2151916 del gen CD36 en la población total y comparando por sexo.

Polimorfismos	Genotipos	Población total	Hombres	Mujeres	P
rs1761667		n=1036	n=386	n=650	0,366
	GG (%)	18,9	18,7	19,1	
	GA (%)	47,6	50,3	46,0	
	AA (%)	33,5	31,1	34,9	
rs2151916		n=848	n=320	n=528	0,582
	TT (%)	44,3	44,7	44,1	
	TC (%)	44,2	45,3	43,6	
	CC (%)	11,4	10,0	12,3	

P: Valor de P obtenido mediante un test χ^2 , al comparar las frecuencias genotípicas según el sexo.

Las frecuencias genotípicas de los polimorfismos rs1761667 y el rs2151916 se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0,374$ y $p=0,811$ respectivamente). Las frecuencias alélicas fueron G 0,427 y A 0,573 para el polimorfismo rs1761667 y para el rs2151916 fueron T 0,665 y C 0,335.

En las tablas 4.93. y 4.94. se muestran los resultados del análisis de asociación entre los polimorfismos rs1761667 y rs2151916 del gen CD36 y variables antropométricas, niveles plasmáticos de adipocitoquinas y AGNE respectivamente.

Tabla 4.93. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs1761667 del gen CD36 en la población estudiada.

	GG (n=196) Media \pm DS	GA (n=493) Media \pm DS	AA (n=347) Media \pm DS	P ¹
Edad (años)	67 \pm 6	67 \pm 6	66 \pm 6	0,298
Peso (kg)	76,9 \pm 11,2	76,0 \pm 12,0	76,6 \pm 12,6	0,672
IMC(kg/m ²)	30,3 \pm 4,1	30,2 \pm 4,4	30,5 \pm 4,6	0,770
Cintura (cm)	102,8 \pm 11,9	102,9 \pm 12,0	102,4 \pm 11,5	0,859
Adiponectina (μ g/ml)	10,6 \pm 5,4	10,1 \pm 5,9	10,8 \pm 5,7	0,297
Leptina (ng/ml)	25,0 \pm 21,3	25,8 \pm 22,2	28,6 \pm 24,0	0,134
AGNE (mg/dl)	18,2 \pm 7,8	16,9 \pm 7,4	16,9 \pm 6,8	0,090*

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba ANOVA. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.

Tabla 4.94. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs2151916 del gen CD36 en la población estudiada.

	TT (n=376) Media ± DS	TC (n=375) Media ± DS	CC (n=97) Media ± DS	P¹
Edad (años)	66 ± 5	67 ± 6	68 ± 5	0,356
Peso (kg)	75,9 ± 12,2	76,1 ± 11,8	75,7 ± 10,9	0,946
IMC(kg/m²)	30,2 ± 4,4	30,2 ± 4,3	30,0 ± 4,0	0,877
Cintura (cm)	102,2 ± 11,5	102,9 ± 12,3	101,9 ± 13,1	0,683
Adiponectina (µg/ml)	10,2 ± 5,6	10,3 ± 5,8	10,8 ± 5,3	0,694
Leptina (ng/ml)	27,5 ± 24,4	26,2 ± 22,5	24,2 ± 19,8	0,444
AGNE (mg/dl)	16,8 ± 6,7	17,2 ± 7,8	17,0 ± 7,7	0,765

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba ANOVA.

En el polimorfismo rs1761667 se observa como los homocigotos GG presentan mayores niveles de AGNE que los heterocigotos y que los homocigotos AA, aunque no se alcanzó la significación estadística ($p=0,090$), ni tras ajustar por factores de confusión ($p=0,138$), pero se observa una tendencia lineal en la concentración de ácidos grasos según el genotipo, justo en el límite de la significación (p tendencia lineal= $0,053$). Para el polimorfismo rs2151916 no se observaron éstas diferencias. Con respecto a las demás variables analizadas, no se obtuvo asociación con ninguna de ellas para ninguno de los dos polimorfismos.

A continuación, se muestran en las tablas 4.95. y 4.96. los resultados del análisis de asociación entre datos lipídicos y glucosa con los polimorfismos rs1761667 y el rs2151916 del gen CD36 respectivamente.

Los resultados muestran diferencias en los niveles c-LDL, siendo significativas en ambos polimorfismos tras ajustar por las variables de confusión ($p=0,036$ y $p=0,015$ respectivamente), pero no se observa una tendencia en dichos niveles ligada al alelo mutado en cada caso (p tendencia lineal= $0,849$ y p tendencia lineal= $0,101$, respectivamente).

Tabla 4.95. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y glucosa según el genotipo del polimorfismo rs1761667 del gen CD36 en la población estudiada.

	GG (n=196) Media ± DS	GA (n=493) Media ± DS	AA (n=347) Media ± DS	P¹
CT (mg/dl)	203,6 ± 41,9	208,7 ± 37,8	203,8 ± 38,2	0,126
c-LDL (mg/dl)	125,7 ± 36,5	131,1 ± 34,7	125,1 ± 35,1	0,034**
c-HDL (mg/dl)	53,6 ± 13,2	52,1 ± 12,7	53,3 ± 13,4	0,292
TG (mg/dl)	126,3 ± 64,8	128,6 ± 65,8	124,8 ± 63,6	0,723
Glucosa (mg/dl)	120,5 ± 41,7	120,1 ± 39,0	117,2 ± 36,4	0,491

CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos.

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba ANOVA.

*: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, HTA, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento hipolipemiente. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, HTA, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento hipolipemiente.

Tabla 4.96. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG), glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del polimorfismo rs2151916 del gen CD36 en la población estudiada.

	TT (n=376) Media ± DS	TC (n=375) Media ± DS	CC (n=97) Media ± DS	P¹
CT (mg/dl)	202,8 ± 37,3	207,0 ± 39,9	205,8 ± 37,4	0,311
c-LDL (mg/dl)	124,6 ± 34,5	130,0 ± 35,7	124,4 ± 35,8	0,091**
c-HDL (mg/dl)	52,9 ± 13,0	51,9 ± 12,8	55,1 ± 14,6	0,091*
TG (mg/dl)	126,4 ± 63,4	127,6 ± 66,7	135,0 ± 77,2	0,751
Glucosa (mg/dl)	118,9 ± 36,2	120,6 ± 41,7	119,1 ± 40,5	0,831

CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos.

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba ANOVA.

*: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, HTA, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento hipolipemiente. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, HTA, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento hipolipemiente.

Paralelamente, se analizó si estos polimorfismos presentaban asociación con DMT2, dada la asociación con AGNE. En ambos casos no se observaron diferencias en la prevalencia de diabéticos y no diabéticos según el genotipo de los polimorfismos rs1761667 y rs2151916 (p=0,131 y p=0,888 respectivamente). Posteriormente, se agrupó a los

portadores del alelo minoritario para analizar el riesgo de DMT2 frente a los homocigotos más prevalentes para los polimorfismos rs1761667 y rs2151916. Para el polimorfismo rs1761667 los portadores del alelo G mostraron mayor riesgo de DMT2, quedándose en el límite de la significación ($p=0,052$), incluso tras ajustar por sexo y edad ($p=0,83$) (Tabla 4.97.).

Tabla 4.97. Análisis del riesgo de DMT2 según el genotipo de los polimorfismos rs1761667 y rs2151916 del gen CD36.

Genotipo	DMT2 %	No DMT2 %	P ¹	OR (IC 95%) P ² 12+22 vs 11	OR (IC 95%) P ³ 12+22 vs 11
rs1761667					
GG	19,3	18,9			
GA	50,4	45,1	0,131	1,30 (0,99-1,69) 0,052	1,27 (0,97-1,65) 0,083
AA	30,3	36,0			
rs2151916					
TT	43,8	45,0			
TC	45,1	43,4	0,888	1,05 (0,80-1,38) 0,733	1,05 (0,79-1,38) 0,755
CC	11,1	11,6			

DMT2: Diabetes Mellitus tipo 2; P¹: p valor de comparación de frecuencias genotípicas entre obesos/ no obesos obtenido mediante un test Chi-Cuadrado. OR: valor de odds ratio referido a los portadores del alelo minoritario con respecto al genotipo homocigoto más prevalente, entre paréntesis se incluye el intervalo de confianza al 95% y p-valor obtenido al calcular la OR mediante regresión logística. ²: estimaciones brutas mediante regresión logística simple; ³: estimaciones ajustadas por edad y sexo mediante regresión logística múltiple.

Al realizar los análisis en función del sexo, las diferencias observadas en los niveles de AGNE en el polimorfismo rs1761667 fueron detectadas en mujeres pero no en los hombres. En los hombres no se observó heterogeneidad en los niveles de AGNE según el genotipo (GG: 16,3±6,0 mg/dL, GA: 16,4±7,6 mg/dL, AA: 16,6±6,9 mg/dL, $p=0,955$, p tendencia lineal=0,773, p ajustada=0,999). Pero en mujeres, las homocigotas GG mostraron mayores niveles de AGNE en comparación con la que poseían el genotipo heterocigoto u homocigoto AA (GG: 19,3±8,5 mg/dL, GA: 17,2±7,3 mg/dL, AA: 17,1±6,8 mg/dL, $p=0,017$, p tendencia lineal=0,04.) (Figura 4.17.) . Tras ajustar por las variables de confusión se mantuvieron significativas estas diferencias ($p=0,053$). Aunque no se detectó una interacción gen*sexo para la determinación de la concentración de AGNE (p interacción=0,310), ni al añadir entre las variables de confusión los niveles de c-LDL (p interacción=0,272).

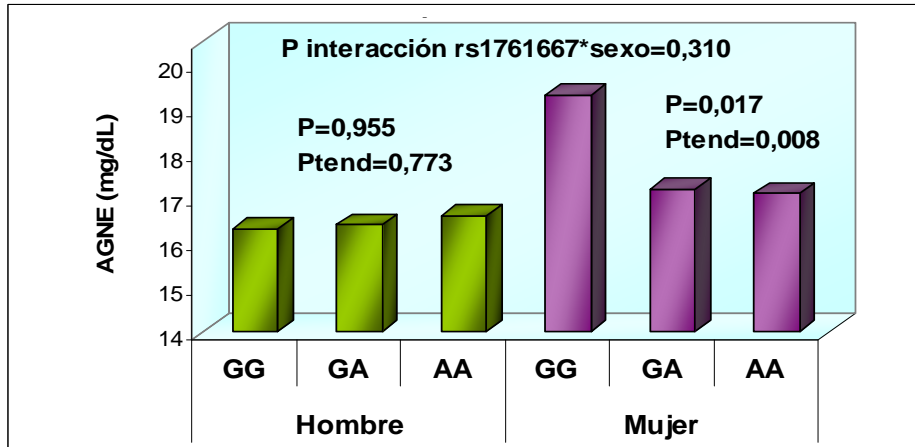


Figura 4.17. Media de concentración de AGNE en hombres y en mujeres según el genotipo del polimorfismo rs1761667 del gen CD36. P: p-valor de comparación de medias mediante una prueba ANOVA; Ptend: p-valor obtenido de una prueba de tendencia lineal entre genotipos.

No se observaron diferencias en función de la obesidad, la DMT2, la hipercolesterolemia o la hipertensión.

Por otro lado, se analizó el desequilibrio de ligamiento existente entre los polimorfismos rs1761667 y rs2151916 del gen CD36 (Figura 4.18.). Se observó que ambos polimorfismos del gen CD36 presentan un débil desequilibrio de ligamiento

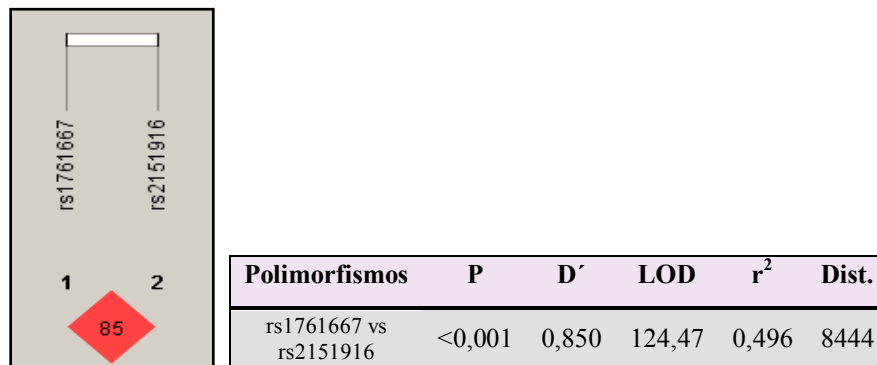


Figura 4.18. Gráfico de desequilibrio de ligamiento entre los polimorfismos rs1761667 y rs2151916 del gen CD36 y tabla con los parámetros medidos para el desequilibrio de ligamiento entre polimorfismos. P: p-valor para comparar las frecuencias genotípicas de ambos polimorfismos mediante un test Chi-cuadrado; D': coeficiente de desequilibrio relativo al máximo; LOD: logaritmo (base 10) de probabilidad de ligamiento entre los loci; r²: coeficiente de correlación entre los dos loci; Dist: distancia medida en pares de bases entre los loci.

Los polimorfismos rs1761667 y rs2151916 del gen CD36 mostraron asociación con los niveles de c-LDL, sin observarse una tendencia según el genotipo. Además, con el rs1761667 se observaron diferencias según el genotipo en los niveles de AGNE, aunque sin alcanzar la significación estadística. Por ello, se analizó si existían diferencias en los niveles de c-LDL y AGNE según la combinación genotípica de ambos polimorfismos. Se comparó el haplotipo formado por los homocigotos de mayor prevalencia en ambos polimorfismos, los individuos AA del rs1761667 y los TT del rs2151916, frente al haplotipo formado por los homocigotos de menor prevalencia, los individuos GG del rs1761667 y los CC del rs2151916. Los resultados se muestran en la tabla 4.98.

Tabla 4.98. Valores medios de AGNE y c-LDL según el haplotipo formado por los homocigotos de mayor prevalencia (AA y TT) frente al haplotipo formado por los homocigotos de menor prevalencia (GG y CC) de los polimorfismos rs1711667 y rs2151916 del gen CD36 respectivamente en la población estudiada

	AA/TT (n=255) Media ± DS	GG/CC (n=82) Media ± DS	P¹
AGNE (mg/dl)	16,9 ± 6,9	17,3 ± 8,1	0,659*
c-LDL (mg/dl)	124,1 ± 34,8	125,6 ± 37,0	0,746*

AGNE: ácidos grasos no esterificados; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; Port: portadores; ¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento hipolipemiente. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento hipolipemiente.

Al comparar ambos haplotipos no se observaron diferencias significativas en los niveles de AGNE ni de c-LDL, ni en los datos en crudo ni tras ajustar por las variables de confusión (AGNE: p=0,832; c-LDL: p=0,563). Paralelamente, se analizó el riesgo de DMT2 según el haplotipo de ambos polimorfismos. No se observaron diferencias entre diabéticos y no diabéticos según el haplotipo (p=0,465), ni diferencias en el riesgo de DMT2 entre el haplotipo GG/CC frente al haplotipo AA/TT (OR=1,21 IC 95% (0,73-1,99) p=0,465), ni tras ajustar por sexo y edad (OR=1,17 IC 95% (0,70-1,97) p=0,543).

4.2.5.4.2 Polimorfismos del gen MLXIPL

Las frecuencias genotípicas del polimorfismo rs3812316 situado en el gen MLXIPL y del rs17145738 situado en una región próxima a los genes MLXIPL y TBL2 observadas en el total de la población y en hombres y mujeres se muestran en la tabla 4.99. No se observaron diferencias en las frecuencias genotípicas según el sexo en ninguno de los dos polimorfismos.

Tabla 4.99. Frecuencias genotípicas de los polimorfismos rs3812316 y rs17145738 del gen MLXIPL en la población total y comparando por sexo.

Polimorfismos	Genotipos	Población total	Hombres	Mujeres	P
rs3812316		n=1028	n=383	n=645	
	CC (%)	84,1	86,9	82,5	0,163
	CG (%)	14,7	12,0	16,3	
	GG (%)	1,2	1,0	1,2	
rs17145738		n=1016	n=375	n=641	
	CC (%)	84,1	86,1	82,8	0,382
	CT (%)	14,8	12,8	15,9	
	TT (%)	1,2	1,1	1,2	

P: Valor de P obtenido mediante un test χ^2 , al comparar las frecuencias genotípicas según el sexo.

La distribución de genotipos observada para los polimorfismos rs3812316 y rs17145738 en la muestra estudiada se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0,068$ para ambos polimorfismos). La frecuencia alélicas obtenidas en el caso del rs3812316 fueron de 0,915 para el alelo C y de 0,085 para el alelo G, y en el rs17145738 fueron para el alelo C de 0,917 y para el alelo T de 0,083.

Ambos polimorfismos presentaban muy baja prevalencia en la población, por ello se agrupó en ambos casos a los homocigotos mutados con los heterocigotos para llevar a cabo los análisis de asociación del genotipo con las variables objeto de estudio, para obtener mayor rigor estadístico. Los resultados de los análisis de los polimorfismos rs3812316 y rs17145738 del gen MLXIPL con datos antropométricos, adipocitoquinas y AGNE se muestran en las tablas 4.100 y 4.101. respectivamente.

Los resultados muestran que en ambos polimorfismos los homocigotos CC presentan de manera significativa mayor peso y menor perímetro de la cintura que los portadores del alelo minoritario (G y T, respectivamente), aunque estas diferencias no mantuvieron la significación tras ajustar por las variables de confusión (rs3812316: peso: $p=0,165$; cintura: $p=0,105$; rs17145738: peso: $p=0,222$; cintura: $p=0,200$). Además, se observa una asociación con los niveles de adiponectina plasmática, donde los homocigotos CC, a diferencia del peso y el perímetro de la cintura, muestran menor concentración de adiponectina que los individuos portadores del alelo minoritario (G y T, respectivamente), aunque estas diferencias solo alcanzaron la significación en el caso del polimorfismo rs3812316, manteniéndose tras ajustar por los factores de confusión ($p=0,049$).

Tabla 4.100. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs3812316 del gen MLXIPL en la población estudiada.

	CC (n=865) Media ± DS	CG+GG (n=163) Media ± DS	P¹
Edad (años)	67 ± 6	66 ± 6	0,205
Peso (kg)	76,7 ± 12,0	74,4 ± 12,0	0,026*
IMC(kg/m2)	30,4 ± 4,4	29,8 ± 4,4	0,071*
Cintura (cm)	103,2 ± 11,8	100,6 ± 12,5	0,012*
Adiponectina (µg/ml)	10,3 ± 5,7	11,4 ± 6,1	0,026**
Leptina (ng/ml)	26,3 ± 22,7	27,7 ± 23,4	0,480
AGNE (mg/dl)	17,2 ± 7,4	16,8 ± 6,7	0,501

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.**: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.

Tabla 4.101. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs17145738 del gen MLXIPL en la población estudiada.

	CC (n=854) Media ± DS	CT+TT (n=162) Media ± DS	P¹
Edad (años)	67 ± 6	66 ± 6	0,140
Peso (kg)	76,6 ± 12,0	74,6 ± 12,0	0,049*
IMC(kg/m2)	30,4 ± 4,4	29,8 ± 4,4	0,128
Cintura (cm)	103,1 ± 11,8	100,7 ± 12,5	0,024*
Adiponectina (µg/ml)	10,3 ± 5,6	11,2 ± 6,1	0,078*
Leptina (ng/ml)	26,5 ± 22,7	27,4 ± 23,1	0,653
AGNE (mg/dl)	17,3 ± 7,3	16,7 ± 6,7	0,371

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.**: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.

En las tablas 4.102. y 4.103. se muestran los resultados del análisis de asociación de los polimorfismos rs3812316 y rs17145738 del gen MLXIPL con datos de lípidos y glucosa en cada caso.

Tabla 4.102. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y glucosa según el genotipo del rs3812316 del gen MLXIPL en la población estudiada.

	CC (n=865) Media ± DS	CG+GG (n=163) Media ± DS	p¹
CT (mg/dl)	205,5 ± 38,8	208,5 ± 37,2	0,369
c-LDL (mg/dl)	127,2 ± 35,4	131,9 ± 33,1	0,120*
c-HDL (mg/dl)	52,5 ± 13,1	54,3 ± 12,8	0,109*
TG (mg/dl)	129,3 ± 64,7	116,1 ± 66,7	0,001**
Glucosa (mg/dl)	119,0 ± 38,2	119,0 ± 41,1	0,771

CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos.

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student.*: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, HTA, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento hipolipemiente.**: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, HTA, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento hipolipemiente.

Tabla 4.103. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y glucosa según el genotipo del rs17145738 del gen MLXIPL en la población estudiada.

	CC (n=854) Media ± DS	CT+TT (n=162) Media ± DS	p¹
CT (mg/dl)	205,4 ± 38,3	208,2 ± 41,3	0,397
c-LDL (mg/dl)	127,2 ± 35,1	131,3 ± 35,6	0,181*
c-HDL (mg/dl)	52,5 ± 13,1	54,0 ± 13,1	0,182*
TG (mg/dl)	128,9 ± 64,0	115,4 ± 66,7	0,001**
Glucosa (mg/dl)	118,9 ± 38,1	119,8 ± 41,9	0,798

CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos.

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student.*: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, HTA, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento hipolipemiente.**: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, HTA, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento hipolipemiente.

También se encontró una asociación en ambos polimorfismos con los niveles de triglicéridos, de modo, que los homocigotos CC presentaban mayor concentración de triglicéridos que los portadores del alelo minoritario en cada polimorfismo (G y T, respectivamente), siendo significativas las diferencias al ajustar por variables de confusión (rs3812316: $p=0,002$; rs17145738: $p=0,001$).

Tras la detección de esta asociación entre el polimorfismo rs3812316 y la concentración de triglicéridos se analizó si podría influir en la asociación con la concentración de adiponectina, observándose una pérdida de la significación estadística al incluir los triglicéridos entre los factores de confusión en la asociación entre el rs3812316 y la concentración de adiponectina ($p=0,135$).

Tras la obtención de estas asociaciones se estudió el riesgo de obesidad según el genotipo de ambos polimorfismos. No se observaron diferencias según el genotipo en función de la obesidad para ninguno de los polimorfismos. En ambos casos se detectó que los homocigotos CC de ambos polimorfismos presentaban mayor riesgo de obesidad que los portadores de los alelos minoritarios (G y T, respectivamente), quedándose próximo a la significación estadística en ambos polimorfismos tras ajustar por sexo y edad (rs3812316: $p=0,098$; rs17145738: $p=0,072$) (Tabla 4.104.).

Tabla 4.104. Análisis del riesgo de obesidad e hipercolesterolemia según el genotipo de los polimorfismos rs3812316 y rs17145738 del gen MLXIPL.

Genotipo	Obeso %	No obeso %	P ¹	OR (IC 95%) P ² 11 vs 12+22	OR (IC 95%) P ³ 11 vs 12+22
rs3812316					
CC	85,7	82,6			
CG	13,5	16,0	0,327	1,27 (0,90-1,77) 0,171	1,33 (0,95-1,87) 0,098
GG	0,8	1,4			
rs17145738					
CC	85,9	82,2			
CT	13,3	16,4	0,239	1,32 (0,94-1,85) 0,108	1,37 (0,97-1,93) 0,072
TT	0,8	1,4			

P¹: p valor de comparación de frecuencias genotípicas entre obesos y no obesos obtenido mediante un test Chi-Cuadrado. OR: valor de odds ratio referido a los homocigotos CC frente a los portadores del alelo minoritario, entre paréntesis se incluye el intervalo de confianza al 95% y p-valor obtenido al calcular la OR mediante regresión logística. ²: estimaciones brutas mediante regresión logística simple; ³: estimaciones ajustadas por edad y sexo mediante regresión logística múltiple.

No se observó heterogeneidad en los resultados según el género, ni entre diabéticos y no diabéticos, ni hipertensos y no hipertensos, hipercolesterolémicos y no hipercolesterolémicos.

Por otro lado, se analizó el desequilibrio de ligamiento que podría existir entre el polimorfismo rs3812316 del gen MLXIPL y el rs17145738 situado en una región intergénica próxima al MLXIPL (Figura 4.19.). Se mostró que los polimorfismos rs3812316 y rs17145738 presentan un fuerte desequilibrio de ligamiento entre ellos.

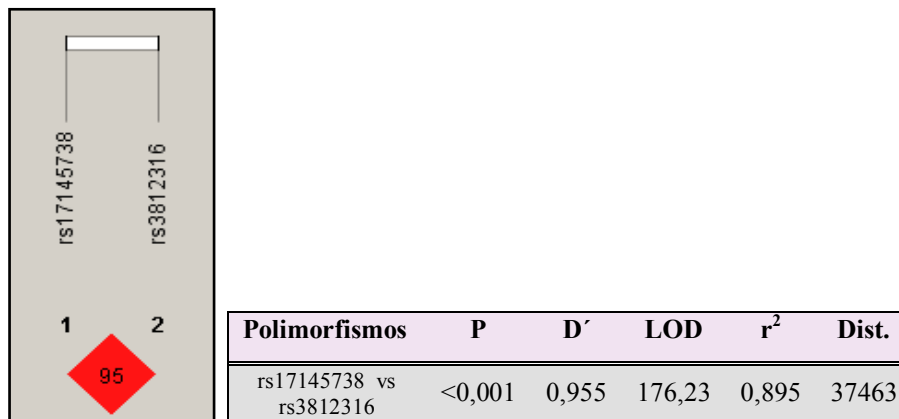


Figura 4.19. Gráfico de desequilibrio de ligamiento entre los polimorfismos rs3812316 y rs17145738 y tabla con los parámetros medidos para el desequilibrio de ligamiento entre polimorfismos. P: p-valor para comparar las frecuencias genotípicas de ambos polimorfismos mediante un test Chi-cuadrado; D': coeficiente de desequilibrio relativo al máximo; LOD: logaritmo (base 10) de probabilidad de ligamiento entre los loci; r²: coeficiente de correlación entre los dos loci; Distancia: distancia medida en pares de bases entre los loci.

En ambos polimorfismos se detectaron diferencias según el genotipo con datos de peso, cintura y niveles de triglicéridos, y en el caso del rs3812316 también se observaron diferencias en los niveles de adiponectina según el genotipo. Dado estos resultados, se analizó si la combinación genotípica de ambos polimorfismos mostraba también diferencias significativas en estos parámetros. Para ello se comparó el haplotipo formado por el genotipo homocigoto salvaje en ambos polimorfismos (CC y CC), siendo éstos los alelos de riesgo, frente al haplotipo formado por los portadores de los alelos mutados en ambos casos (portadores del alelo T y portadores del alelo G). Los resultados se muestran en la tabla 4.105.

Tabla 4.105. Valores medios de peso, cintura, adiponectina y triglicéridos según el haplotipo formado por el doble homocigoto salvaje frente a los portadores de los alelos mutados de los polimorfismos rs3812316 y rs17145738 en la población estudiada

	CC/CC (n=838) Media ± DS	Port. G/ Port. T (n=153) Media ± DS	P¹
Peso (kg)	76,7 ± 12,0	74,5 ± 12,2	0,034*
Cintura (cm)	103,2 ± 11,9	100,5 ± 12,7	0,013*
Adiponectina (µg/ml)	10,3 ± 5,6	11,3 ± 6,2	0,044*
TG (mg/dl)	129,1 ± 64,0	116,3 ± 67,8	0,001**

TG: triglicéridos; Port: portadores; ¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y medicación. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y medicación.

Se observa que los portadores del haplotipo CCCC presentan mayor peso, cintura y niveles de triglicéridos, pero menor concentración de adiponectina plasmática comparado con los individuos que poseen el haplotipo formado por los portadores de los alelos mutados. Aunque estas diferencias solo se mantuvieron significativas tras ajustar por las variables de confusión para los niveles de triglicéridos (peso: p=0,218; perímetro de la cintura: p=0,140; adiponectina: p=0,079; triglicéridos: p=0,002).

Además, se observó para el polimorfismo rs17145738 un incremento de los individuos CC a los portadores del alelo T del peso del 2,7%, de cintura del 2,4% y de triglicéridos del 2,2%, mientras que se detectó un descenso del 8,0% de adiponectina. Para el polimorfismo rs3812316 las diferencias entre los CC y los portadores del alelo G fueron de 3,0% en el peso, un 2,6% en la cintura y un 4,3% en los niveles de triglicéridos, el descenso de adiponectina fue del 9,6%. Al analizar estas diferencias comparando el haplotipo CCCC frente al formado por los portadores de los alelos mutados se observaron diferencias similares a las detectadas en el polimorfismo rs3812316 con un incremento en el peso del 3,0%, en la cintura del 2,7% y en los triglicéridos del 4,3% y un descenso del 9,7% en la adiponectina. Estas diferencias se muestran en la figura 4.20.

Sin embargo, no se detectaron diferencias en la prevalencia entre obesos y no obesos según el haplotipo (p=0,115), ni diferencias en el riesgo de obesidad entre el haplotipo formado por el genotipo homocigoto salvaje de ambos polimorfismos (CC y CC), siendo los alelos de riesgo, frente al haplotipo formado por los portadores de los alelos mutados en ambos casos (portadores del alelo T y portadores del alelo G) (OR=1,32 IC 95% (0,93-1,87) p=0,115), quedándose en el límite de la significación al ajustar por sexo y edad (OR=1,38 IC 95% (0,97-1,97) p=0,070).

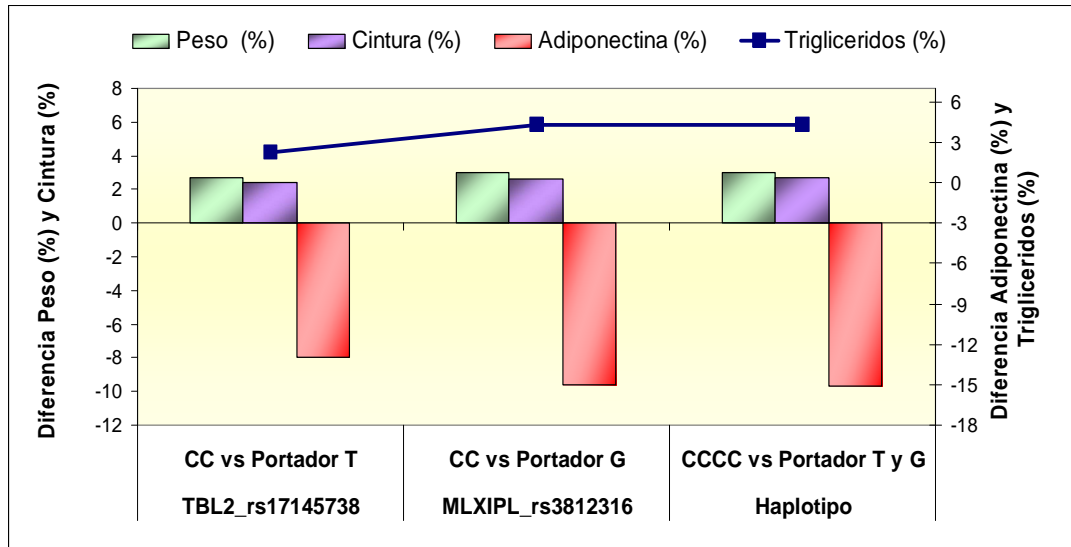


Figura 4.20. Efecto del genotipo homocigoto salvaje frente al portador del alelo mutado y del haplotipo de estos genotipos sobre el peso, la cintura, los niveles plasmáticos de adiponectina y triglicéridos de los polimorfismos rs17145738 y rs3812316 en la población estudiada.

4.2.5.4.3 Polimorfismo rs3754686 del gen MCM6

En la tabla 4.106. se muestran las frecuencias genotípicas observadas en la población estudiada y en hombres y mujeres. No existen diferencias según el sexo en la distribución del genotipo ($p=0,568$).

Tabla 4.106. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs3754686 del gen MCM6 en la población total y comparando por sexo.

Genotipos	Población total (n=981)	Hombres (n=365)	Mujeres (n=616)	p
AA (%)	26,7	26,6	26,8	0,568
AG (%)	47,7	49,6	46,6	
GG (%)	25,6	23,8	26,6	

P: Valor de P obtenido mediante un test χ^2 , al comparar las frecuencias genotípicas según el sexo.

Las frecuencias genotípicas observadas en la población total se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0,152$). La frecuencia para el alelo A fue de 0,506 y para el alelo G fue de 0,494.

Los resultados del análisis de asociación del polimorfismo rs3754686 con datos antropométricos, adiponectina, leptina y AGNE se muestran en la tabla 4.107.

Tabla 4.107. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs3754686 del gen MCM6 en la población estudiada.

	AA (n=262) Media \pm DS	AG (n=468) Media \pm DS	GG (n=251) Media \pm DS	P ¹
Edad (años)	67 \pm 6	67 \pm 6	66 \pm 6	0,658
Peso (kg)	75,0 \pm 11,8	76,7 \pm 12,4	77,0 \pm 11,35	0,109*
IMC(kg/m2)	29,7 \pm 4,3	30,4 \pm 4,5	30,7 \pm 4,1	0,022*
Cintura (cm)	101,3 \pm 11,6	102,8 \pm 11,8	103,8 \pm 12,5	0,056*
Adiponectina (μg/ml)	10,2 \pm 5,4	10,4 \pm 5,7	10,9 \pm 6,3	0,334
Leptina (ng/ml)	24,7 \pm 20,1	27,5 \pm 24,1	27,0 \pm 22,2	0,274
AGNE (mg/dl)	17,4 \pm 7,3	17,2 \pm 7,4	17,1 \pm 7,4	0,899

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba ANOVA. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.

Los individuos homocigotos GG presentan mayor peso, IMC y cintura que los heterocigotos y los homocigotos salvajes AA, observándose una tendencia lineal en el incremento de estos parámetros según el genotipo (peso: p tendencia lineal=0,036; IMC: p tendencia lineal=0,007; cintura: p tendencia lineal=0,024). Las diferencias según el genotipo fueron significativas en el caso del IMC ($p=0,022$), quedándose en el límite de la significación estadística tras ajustar por factores de confusión ($p=0,059$).

Tras la obtención de estos resultados, se estudió la prevalencia de este polimorfismo entre obesos y no obesos, así como el riesgo de obesidad asociado al mismo (Tabla 4.108.). Se observaron diferencias en la prevalencia de obesidad según el genotipo ($p=0,017$), con un mayor porcentaje de individuos obesos entre los homocigotos GG. Además, se detectó que los portadores del alelo G presentaban mayor riesgo de obesidad que los homocigotos AA ($p=0,008$), incluso tras ajustar por sexo y edad ($p=0,008$).

Tabla 4.108. Análisis del riesgo de obesidad según el genotipo del polimorfismo rs3754686 del gen MCM6.

Genotipo	Obeso %	No obeso %	P ¹	OR (IC 95%) P ² GG+AG vs AA	OR (IC 95%) P ³ GG+AG vs AA
AA	22,9	30,4			
AG	48,7	46,5	0,017	1,47 (1,11-1,96)	0,008
GG	28,5	23,1			

P¹: p valor de comparación de frecuencias genotípicas entre obesos/ no obesos obtenido mediante un test Chi-Cuadrado. OR: valor de odds ratio referido a los portadores del alelo minoritario con respecto al genotipo homocigoto más prevalente, entre paréntesis se incluye el intervalo de confianza al 95% y p-valor obtenido al calcular la OR mediante regresión logística. ²: estimaciones brutas mediante regresión logística simple; ³: estimaciones ajustadas por edad y sexo mediante regresión logística múltiple.

Los resultados de asociación en función del genotipo del polimorfismo del gen MCM6 con datos de lípidos y glucosa se muestran en la tabla 4.109.

Tabla 4.109. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y glucosa según el genotipo del polimorfismo rs3754686 del gen MCM6 en la población estudiada.

	AA (n=262) Media ± DS	AG (n=468) Media ± DS	GG (n=251) Media ± DS	P ¹
CT (mg/dl)	205,7 ± 40,2	206,5 ± 38,6	202,3 ± 37,4	0,372
c-LDL (mg/dl)	126,5 ± 36,1	129,0 ± 35,6	126,0 ± 33,4	0,481
c-HDL (mg/dl)	52,9 ± 13,4	52,9 ± 12,8	51,7 ± 12,5	0,466
TG (mg/dl)	130,9 ± 74,1	125,6 ± 60,1	124,8 ± 64,6	0,504
Glucosa (mg/dl)	117,4 ± 38,1	120,6 ± 39,7	118,6 ± 36,7	0,543

CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos.

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba ANOVA.

No se observaron diferencias según el genotipo del polimorfismo rs3754686 del gen MCM6 con niveles de lípidos o glucosa. Al realizar estos análisis estratificado por sexo no se obtuvo heterogeneidad en los resultados. Tampoco se encontraron diferencias entre obesos y no obesos, diabéticos y no diabéticos, hipertensos y no hipertensos o hipercolesterolémicos y no hipercolesterolémicos.

4.2.5.4.4 Polimorfismo rs7120118 en el gen NR1H3

Las frecuencias genotípicas observadas en la población estudiada y según el sexo para el polimorfismo rs7120118 del gen NR1H3 se muestran en la tabla 4.110. No existen diferencias entre hombres y mujeres en las frecuencias de los genotipos (p=0,568).

Tabla 4.110. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs7120118 del gen NR1H3 en la población total y comparando por sexo.

Genotipos	Población total (n=638)	Hombres (n=245)	Mujeres (n=393)	P
CC (%)	3,9	5,3	3,1	
CT (%)	35,3	34,3	35,9	0,568
TT (%)	60,8	60,4	61,1	

P: Valor de P obtenido mediante un test χ^2 , al comparar las frecuencias genotípicas según el sexo.

La distribución de los genotipos se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0,278$). Las frecuencias alélicas fueron de 0,216 para el C y 0,784 para el T.

Dado que el polimorfismo rs7120118 del gen NR1H3 presenta una baja prevalencia del genotipo CC, los análisis estadísticos de este polimorfismo se realizaron agrupando a los individuos heterocigotos con los homocigotos CC para compararlos frente a los que presentaban un genotipo TT. Los resultados de los análisis de asociación del polimorfismo con datos antropométricos, adiponectina, leptina y AGNE se muestran en la tabla 4.111.

Tabla 4.111. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs7120118 del gen NR1H3 en la población estudiada.

	CC+CT (n=250) Media \pm DS	TT (n=388) Media \pm DS	P ¹
Edad (años)	66 \pm 6	67 \pm 6	0,202
Peso (kg)	76,9 \pm 12,0	75,0 \pm 10,9	0,041 *
IMC(kg/m ²)	30,3 \pm 4,4	29,9 \pm 3,9	0,153
Cintura (cm)	103,4 \pm 12,3	101,6 \pm 11,6	0,068
Adiponectina (μ g/ml)	10,6 \pm 6,0	10,6 \pm 5,8	0,953
Leptina (ng/ml)	27,3 \pm 25,5	26,1 \pm 22,1	0,543
AGNE (mg/dl)	17,1 \pm 7,5	16,7 \pm 6,9	0,420

IMC: Índice de masa corporal; AGNE: ácidos grasos no esterificados

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student. *: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física. **: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, DMT2, hipercolesterolemia, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea y actividad física.

Los resultados muestran que los individuos homocigotos TT presentan menor peso que los individuos portadores del alelo C, aunque estas resultados no fueron significativos tras ajustar por factores de confusión ($p=0,075$). No se observaron diferencias para el resto de variables analizadas

En la tabla 4.112. se muestran los resultados de asociación según el genotipo del polimorfismo del gen NR1H3 con datos de lípidos y glucosa

Tabla 4.112. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y glucosa según el genotipo del rs7120118 del gen NR1H3 en la población estudiada.

	CC+CT (n=250) Media ± DS	TT (n=388) Media ± DS	p¹
CT (mg/dl)	203,4 ± 37,5	204,8 ± 38,7	0,650
c-LDL (mg/dl)	124,8 ± 35,0	127,4 ± 34,3	0,356
c-HDL (mg/dl)	53,8 ± 13,2	51,8 ± 12,6	0,059**
TG (mg/dl)	129,8 ± 65,9	128,6 ± 68,3	0,816
Glucosa (mg/dl)	118,9 ± 38,2	117,5 ± 38,4	0,674

CT: colesterol total; c-LDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad; TG: triglicéridos.

¹: p valor de comparación de medias en un modelo no ajustado mediante una prueba t-Student.*: p valor > 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, HTA, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento hipolipemiente.**: p valor < 0,05 de comparación de medias tras ajustar por sexo, edad, IMC, DMT2, HTA, tabaco, adherencia a la dieta mediterránea, actividad física y tratamiento hipolipemiente.

Los individuos portadores del alelo C presentan mayores niveles de c-HDL frente a los individuos homocigotos TT, alcanzando la significación estadística estos resultados tras ajustar por las variables de confusión ($p=0,026$), observándose que al ajustar solo por sexo los resultados de asociación entre el genotipo y los niveles de c-HDL ya alcanzaban la significación ($p=0,043$). Para el resto de datos lipídicos y de glucosa no se obtuvieron diferencias según el genotipo.

No se detectaron diferencias en los resultados en función del sexo, la obesidad, la DMT2, la hipercolesterolemia o la hipertensión.

4.2.6 Estudio de posibles interacciones gen*ambiente sobre la obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular

En este apartado se analizarán las interacciones que presentan los polimorfismos estudiados en la población PREDIMED del nodo de Valencia con el consumo de tabaco, la realización de actividad física y la adherencia a la DM o con la frecuencia de consumo de alguno de sus componentes, incluidos en el cuestionario de 14 puntos, o con el consumo de lácteos en el caso del MCM6.

4.2.6.1 Estudio de interacciones gen*tabaco

En este apartado se examinarán las interacciones gen*tabaco que presentan los polimorfismos rs4684677 del gen GHRL, el rs17782313 del gen MC4R y el rs925946 del gen BDNF con el consumo de tabaco con factores parámetros relacionados con la obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular en la población del estudio PREDIMED del nodo de Valencia.

4.2.6.1.1 Interacción entre el polimorfismo rs4684677 del gen de la GHRL con el consumo de tabaco sobre la concentración de c-HDL y el IMC

En esta población se ha observado que el consumo de tabaco se asoció con menor concentración de c-HDL y menor IMC respecto a los no fumadores (apartado 4.2.3.2.1.). Por otro lado, los portadores del alelo A del polimorfismo rs4684677 del gen GHRL mostraron menor riesgo de obesidad y mayor concentración de c-HDL (apartado 4.2.5.2.1.). Por ello, se analizó la posible interacción entre esta variante genética y el consumo de tabaco sobre la concentración de c-HDL y el IMC (Figura 4.21.).

Se observó que en no fumadores los portadores del alelo A presentaron mayor concentración de c-HDL y menor IMC, quedándose en el límite de la significación en el caso del IMC (c-HDL: TT: $52,9 \pm 12,3$ mg/dL, TA+AA: $56,9 \pm 16,8$ mg/dL, $p=0,018$; IMC: TT: $30,5 \pm 4,3$ Kg/m², TA+AA: $29,4 \pm 4,1$ Kg/m², $p=0,054$). Sin embargo, en fumadores no se encontraron dichas asociaciones (c-HDL: TT: $49,5 \pm 14,3$ mg/dL, TA+AA: $47,7 \pm 19,9$ mg/dL, $p=0,686$; IMC: TT: $28,9 \pm 4,0$ Kg/m², TA+AA: $30,6 \pm 3,6$ Kg/m², $p=0,123$). La interacción entre el rs4684677 y el consumo de tabaco para la determinación de la concentración de c-HDL no fue estadísticamente significativa (P interacción rs4684677*tabaco=0,175), en cambio, la determinación del IMC sí mostró una interacción significativa (p interacción rs4684677*tabaco=0,037).

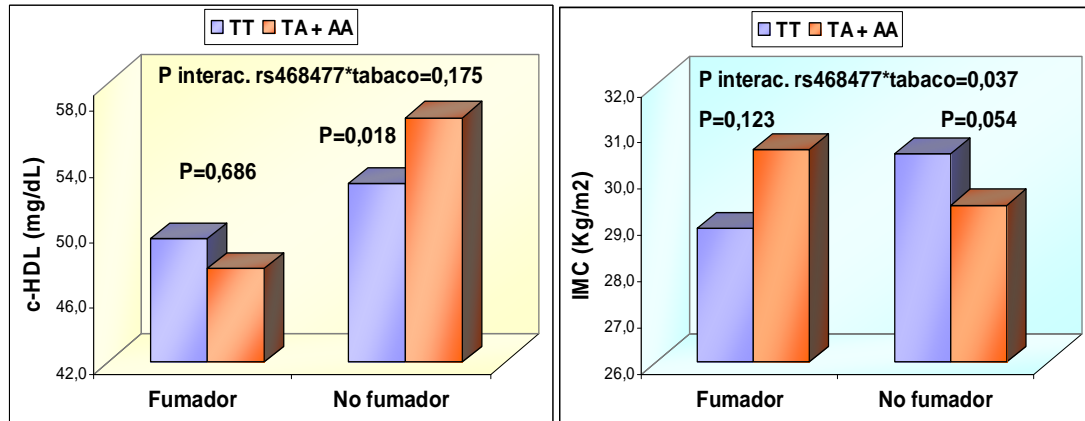


Figura 4.21. Media de concentración de c-HDL (izquierda) y de IMC (derecha) entre individuos fumadores y no fumadores según el genotipo del polimorfismo rs4684677 en la población estudiada. Pinterac.: P interacción. P: p-valor de comparación de medias mediante una prueba T-Student.

Además, entre los no fumadores los portadores del alelo A también mostraron menor riesgo de obesidad, incluso tras ajustar por sexo y edad, sin detectarse diferencias en el riesgo de obesidad entre los fumadores, ni tras ajustar por sexo y edad (Tabla 4.113.). La interacción para la determinación de la obesidad se quedó en el límite de la significación (p interacción rs4684677*tabaco=0,062).

Tabla 4.113. Riesgo de obesidad asociado al polimorfismo rs4684677 del gen de GHRL en individuos fumadores y no fumadores en la población estudiada.

	OR ¹	OR ²
Fumador	1,53 (0,50-4,70) P=0,459	1,52 (0,49-4,70) P=0,469
No fumador	0,46 (0,27-0,78) P=0,004	0,45 (0,26-0,77) P=0,004
P interacción rs4684677*tabaco=0,062		

OR: valor de odds ratio referido a los portadores del alelo minoritario A frente a los homocigoto TT, entre paréntesis se incluye el intervalo de confianza al 95% y p-valor obtenido al calcular la OR mediante regresión logística. ¹: estimaciones brutas mediante regresión logística simple; ²: estimaciones ajustadas por edad y sexo mediante regresión logística múltiple.

4.2.6.1.2 Interacción entre el polimorfismo rs17782313 del gen MC4R con el consumo de tabaco sobre la concentración de AGNE

El polimorfismo rs17782313 del gen MC4R se asoció con la concentración de AGNE, siendo los portadores C los que mostraron mayor concentración frente a los homocigotos TT (apartado 4.2.5.2.4.). Además, se ha detectado una interacción estadísticamente significativa entre el polimorfismo y el consumo de tabaco sobre la concentración de AGNE (p interacción rs17782313*tabaco=0,009). De este modo, se observó que los homocigotos TT presentaron menor concentración de AGNE respecto a los portadores del alelo C solo en individuos fumadores, sin detectarse estas diferencias según el genotipo entre los no fumadores. Paralelamente, los individuos portadores del alelo C no muestran diferencias en la concentración de AGNE según el hábito tabáquico, sin embargo, los homocigotos TT son más susceptibles a los efectos del consumo de tabaco sobre la concentración de AGNE (Tabla 4.114.).

Tabla 4.114. Interacción entre el polimorfismo rs17782313 del gen MC4R y consumo de tabaco sobre los niveles de AGNE en la población estudiada.

	TT Media ± DS	TC + CC Media ± DS	P¹
AGNE (mg/dL)			
Fumador	13,7 ± 6,3	18,1 ± 6,7	<0,001
No Fumador	17,1 ± 7,6	17,8 ± 6,8	0,170
P²	<0,001	0,788	

AGNE: ácidos grasos no esterificados. ¹: p valor de comparación de medias entre genotipos mediante un prueba T-Student. ²: p valor de comparación de medias entre fumadores y no fumadores mediante un prueba T-Student.

4.2.6.1.3 Interacción entre el polimorfismo rs925946 del gen BDNF con el consumo de tabaco sobre el perímetro de la cintura

En la población del estudio PREDIMED del nodo de Valencia no se observó un efecto del polimorfismo rs925946 del gen BDNF sobre parámetros antropométricos. Sin embargo, parece que su efecto sobre el perímetro de la cintura está modulado por el consumo de tabaco (Tabla 4.115.). Así pues, se observó que los individuos portadores del alelo T mostraban mayor perímetro de la cintura respecto a los homocigotos GG entre los fumadores. En cambio, los portadores del alelo T no mostraron diferencias con respecto al perímetro de la cintura entre los no fumadores. Además, se observa que los homocigotos GG muestran variabilidad en el perímetro de la cintura según el hábito tabáquico, sin embargo los portadores del alelo T no muestran dichas diferencias. La interacción para la determinación del perímetro de la cintura entre el polimorfismo rs925946 del gen BDNF

con el consumo de tabaco fue estadísticamente significativa (p interacción rs925946*tabaco=0,014).

Tabla 4.115. Interacción entre el polimorfismo rs925946 del gen BDNF y consumo de tabaco sobre el perímetro de la cintura en la población estudiada.

	GG Media ± DS	GT + TT Media ± DS	P¹
Cintura (cm)			
Fumador	101,5 ± 10,6	106,2 ± 12,5	0,030
No Fumador	103,1 ± 12,6	101,9 ± 11,4	0,187
P²	<0,001	0,788	

¹: p valor de comparación de medias entre genotipos mediante un prueba T-Student.

²: p valor de comparación de medias entre fumadores y no fumadores mediante un prueba T-Student.

4.2.6.2 Estudio de interacciones gen*actividad física

En este apartado se presentarán las interacciones gen*actividad física encontradas en en la población del estudio PREDIMED del nodo de Valencia que presentan el polimorfismo rs2241766 y la variante genética rs17366743 del gen ADIPOQ, y los polimorfismos rs7799039 del gen LEP y el rs104498 del gen ENPP1 con la realización de actividad física sobre parámetros relacionados con la obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular.

4.2.6.2.1 Interacción entre el polimorfismo rs2241766 del gen ADIPOQ con la actividad física sobre el peso

En la población analizada del estudio PREDIMED el polimorfismo rs2241766 del gen ADIPOQ no mostró asociación con parámetros antropométricos relacionados con la obesidad. En cambio, se ha detectado una interacción entre este polimorfismos y la actividad física en la modulación del peso (p interacción rs2241766*actividad física=0,041). Se observó, que los individuos homocigotos TT mostraban mayor peso que los portadores del alelo G únicamente en individuos con un estilo de vida sedentario. En individuos que realizaban actividad física el efecto de los homocigotos TT sobre el peso desapareció, sin mostrar diferencias significativas en el peso según el genotipo. Además, se observa un descenso en el peso en los individuos homocigotos TT que realizan actividad física frente a los individuos sedentarios con el mismo genotipo (Tabla 4.116.).

Tabla 4.116. Interacción entre el polimorfismo rs2241766 del gen ADIPOQ y la actividad física sobre el peso en la población estudiada.

	TT Media ± DS	TG + GG Media ± DS	P¹
Peso (Kg)			
Sedentario	79,0 ± 13,0	75,1 ± 12,7	0,017
No sedentario	75,8 ± 11,7	75,5 ± 11,1	0,786
P²	0,003	0,752	

¹: p valor de comparación de medias entre genotipos mediante un prueba T-Student.

²: p valor de comparación de medias entre sedentarios y no sedentarios mediante un prueba T-Student.

4.2.6.2.2 Interacción entre el polimorfismo rs17366743 del gen ADIPOQ con la actividad física sobre la concentración de glucosa

Se observó en la población del estudio PREDIMED del nodo de Valencia que los individuos portadores del alelo C del polimorfismo rs17366743 del gen ADIPOQ mostraban mayor concentración de glucosa frente a los homocigotos TT (apartado 4.2.5.1.1.). Además, la realización de actividad física también ha mostrado en esta población un descenso en la concentración de glucosa (apartado 4.2.3.2.2.). Por ello, se estudió el efecto de la realización de actividad física sobre la asociación entre el rs17366743 y la concentración de glucosa.

Los resultados mostraron que solo en individuos sedentarios los portadores del alelo C presentaban mayor concentración de glucosa respecto a los homocigotos TT. Sin embargo, no se detectaron diferencias en la concentración de glucosa según el genotipo del polimorfismo rs17366743 en individuos no sedentarios. Además, se observó que los individuos que realizan actividad física presentan menor concentración de glucosa tanto en los homocigotos TT como entre los portadores del alelo C respecto a los individuos sedentarios, alcanzando la significación entre los homocigotos TT (Tabla 4.117.). La interacción entre el rs17366743 y la actividad física para la determinación de la concentración de glucosa fue estadísticamente significativa (p interacción rs17366743*actividad física=0,024)

Tabla 4.117. Interacción entre el polimorfismo rs17366743 del gen ADIPOQ y la actividad física sobre la concentración de glucosa en la población estudiada.

	TT Media ± DS	TC + CC Media ± DS	P¹
Glucosa (mg/dL)			
Sedentario	125,4 ± 41,2	163,3 ± 76,7	0,009
No sedentario	116,3 ± 35,7	122,6 ± 52,1	0,404
P²	0,001	0,089	

¹: p valor de comparación de medias entre genotipos mediante un prueba T-Student.

²: p valor de comparación de medias entre sedentarios y no sedentarios mediante un prueba T-Student.

4.2.6.2.3 Interacción entre el polimorfismo rs7799039 del gen LEP con la actividad física sobre el peso

Puesto que en esta población del estudio PREDIMED del nodo de Valencia, con elevado riesgo cardiovascular no se detectó asociación entre el polimorfismo rs7799039 del gen LEP con parámetros relacionados con la obesidad se analizó la posible influencia de factores ambientales. En este sentido, se detectó una interacción entre el polimorfismo rs17799039 con la actividad física en la determinación del peso (p interacción rs7799039*actividad física=0,034). Se observó como en individuos homocigotos AA y heterocigotos la realización de actividad física produce un descenso en el peso respecto a los individuos con el mismo genotipo pero que presentan un estilo de vida sedentario, quedándose en el límite de la significación para los homocigotos AA (homocigotos AA: sedentario: 78,2±11,8 Kg; no sedentario: 74,8±11,4 Kg, p=0,055; heterocigotos: sedentario: 78,9±13,9 Kg; no sedentario: 75,4±11,1 Kg, p=0,004). En cambio, entre los individuos con el genotipo homocigoto GG no se observaron diferencias en el peso entre individuos sedentarios y no sedentarios (homocigotos GG: sedentario: 75,2±12,0 Kg; no sedentario: 76,6±11,8 Kg, p=0,400) (Figura 4.22.).

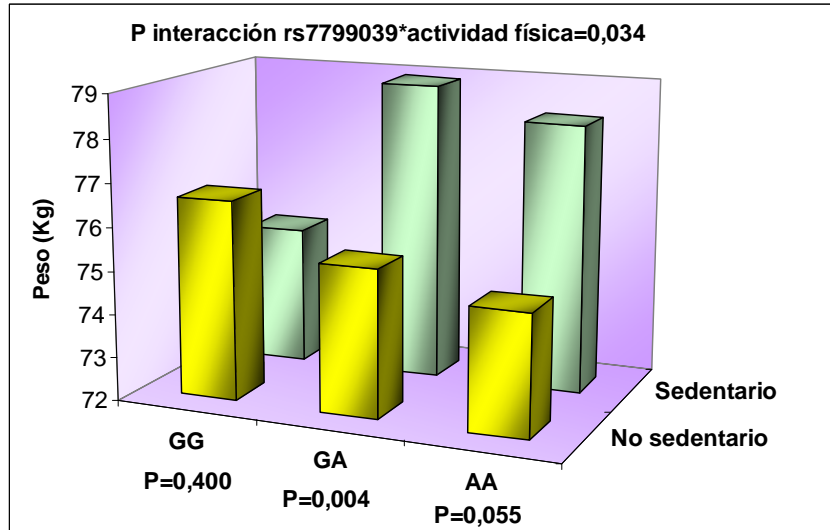


Figura 4.22. Media de peso en individuos sedentarios y no sedentarios según el genotipo del polimorfismo rs7799039 en la población estudiada. P: p valor de comparación de medias según el genotipo entre sedentarios y no sedentarios mediante una prueba T-Student.

4.2.6.2.4 Interacción entre el polimorfismo rs1044498 del gen ENPP1 con la actividad física sobre la concentración de glucosa y el peso

En la población del estudio PREDIMED se ha detectado una interacción entre el polimorfismo rs104498 (K121Q) y la actividad física en la modulación de la concentración de glucosa y el peso (glucosa: p interacción rs1044498*actividad física<0,001; peso: p interacción rs1044498*actividad física=0,017). Así, se observó que los individuos homocigotos KK presentaban mayor variabilidad en la concentración de glucosa y el peso entre individuos sedentario y no sedentarios, mostrando mayores niveles de ambos parámetros en individuos sedentarios (Glucosa: sedentario: 128,7±43,2 mg/dL; no sedentario: 114,2±36,9 mg/dL, p<0,001; Peso: sedentario: 79,0±13,3 Kg; no sedentario: 74,8±11,0 Kg, p<0,001). En cambio, en los individuos portadores Q no se mostraron diferencias estadísticamente significativas entre individuos sedentarios y no sedentarios en la concentración de glucosa y el peso (Figura 4.23.).

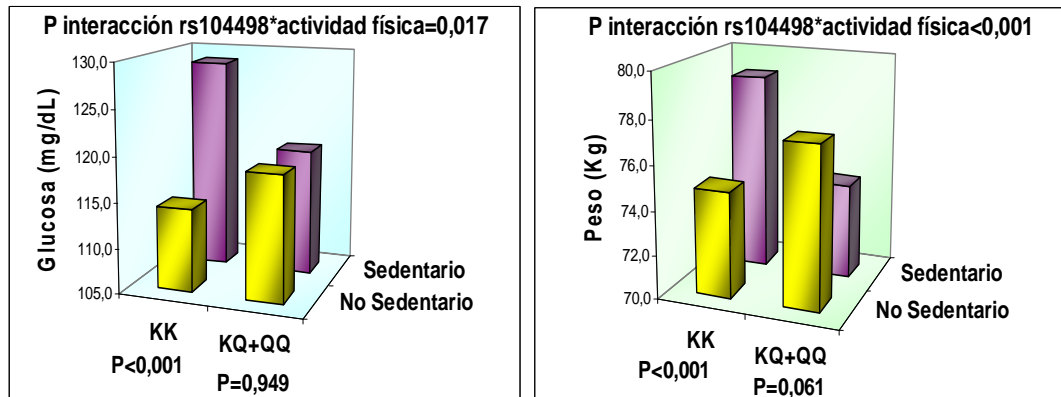


Figura 4.23. Media de peso (izquierda) y de concentración de glucosa (derecha) en individuos sedentarios y no sedentarios según el genotipo del polimorfismo rs1044498 en la población estudiada. P: p valor de comparación de medias según el genotipo entre sedentarios y no sedentarios mediante una prueba T-Student.

4.2.6.3 Estudio de interacciones gen*dieta

En este apartado se mostrarán las interacciones gen*dieta detectadas con el polimorfismo rs17300539, la variante genética rs17366743 y el haplotipo formado por los polimorfismos rs17300539 y rs1501299 del gen ADIPOQ, los polimorfismos rs1058046 del gen PYY, rs17782313 del gen MC4R, rs806380 y rs6454674 del gen CNR1, rs2880411 del gen NPY2R, rs1761667 del gen CD36, rs3812316 del gen MLXIPL, rs3754686 del gen MCM6 y rs7120118 del gen NR1H con el grado de adherencia al patrón dietético de la DM en su conjunto, así como, la influencia según la frecuencia de consumo de los distintos componentes de la dieta, como la frecuencia de consumo de lácteos para el MCM6 con parámetros relacionados con la obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular en la población del estudio PREDIMED del nodo de Valencia.

4.2.6.3.1 Interacción entre el polimorfismo rs17300539 del gen ADIPOQ con adherencia a la DM y el consumo de legumbres sobre el peso y la concentración de adiponectina

En la población analizada se ha detectado que la asociación del polimorfismo rs17300539 del gen ADIPOQ con el peso parece que esta modulada por el grado de adherencia a la DM (Tabla 4.118.). De hecho, se observa que los individuos portadores del alelo A muestran mayor peso si presentan un patrón dietético con baja adherencia a la DM, en cambio, no se detectaron estas diferencias según el genotipo entre los individuos cuyo patrón dietético posee una alta adherencia a la DM. Sin embargo, la interacción para la determinación del peso entre el polimorfismo y la adherencia a la DM no alcanzó la significación estadística (p interacción rs17300539*adherencia a la DM=0,100).

Tabla 4.118. Interacción entre el polimorfismo rs17300539 del gen ADIPOQ y la adherencia a la DM sobre el peso en la población estudiada.

	GG Media ± DS	GA + AA Media ± DS	P¹
Peso (Kg)			
Alta adherencia DM	75,5 ± 12,0	75,4 ± 13,1	0,969
Baja adherencia DM	76,2 ± 11,2	79,2 ± 12,6	0,016
P²	0,374	0,032	

DM: Dieta Mediterránea. ¹: p valor de comparación de medias entre genotipos mediante un prueba T-Student. ²: p valor de comparación de medias entre fumadores y no fumadores mediante un prueba T-Student.

Sin embargo, se detectó que el consumo de legumbres era el componente de la dieta que presentaba un efecto sobre la determinación del peso, así como de la concentración de adiponectina, en la interacción entre el polimorfismo rs17300539 y la dieta (Tabla 4.119.). En este sentido, se observó que los individuos portadores del alelo A que presentaban un consumo de legumbres de 3 veces o más a la semana mostraban menor peso y mayor concentración de adiponectina frente a los que presentaban un consumo inferior de legumbres. En cambio, los individuos con el genotipo GG no mostraron diferencias según la frecuencia de consumo de legumbres. La interacción fue significativa tanto para el peso como para la concentración de adiponectina.

Tabla 4.119. Interacción entre el polimorfismo rs17300539 del gen ADIPOQ y el consumo de legumbres sobre el peso y la concentración de adiponectina en la población estudiada.

	GG Media ± DS	GA + AA Media ± DS	P¹
Peso (Kg)			
Menos de 3 veces/semana	75,7 ± 11,6	79,0 ± 13,2	0,003
3 o más veces/semana	76,1 ± 12,3	73,8 ± 11,5	0,195
P²	0,680	0,008	
P interacción rs17300539*consumo de legumbres=0,007			
Adiponectina (µg/mL)			
Menos de 3 veces/semana	10,1 ± 5,5	10,8 ± 5,3	0,186
3 o más veces/semana	10,3 ± 5,7	14,2 ± 8,2	<0,001
P²	0,605	0,001	
P interacción rs17300539*consumo de legumbres=0,002			

¹: p valor de comparación de medias entre genotipos mediante una prueba T-Student. ²: p valor de comparación de medias entre individuos que consumen más o menos de 3 veces a la semana legumbres mediante una prueba T-Student.

4.2.6.3.2 Interacción en función del haplotipo formado por los polimorfismos rs17300539 y rs1501299 del gen ADIPOQ con el consumo de legumbres sobre el peso, el IMC, el perímetro de la cintura y la concentración de adiponectina

El haplotipo formado por los portadores del alelo A del polimorfismo rs17300539 y los homocigotos TT del rs1501299 mostraron mayor peso, IMC, perímetro de la cintura y mayor concentración de adiponectina frente a los individuos con el haplotipo homocigoto GG para ambos polimorfismos GG/GG (apartado 4.2.5.1.1.). Sin embargo, se ha detectado que estas asociaciones están influenciadas por la frecuencia de consumo de legumbres (Tabla 4.120.). De este modo, se observó que los individuos portadores del haplotipo portadores A/TT presentan mayor peso, IMC y perímetro de la cintura cuando consumen menos de 3 veces por semana legumbres respecto al haplotipo GG/GG. No se observaron diferencias en estos parámetros según el haplotipo entre los individuos que consumen legumbres más de 3 veces por semana. Respecto a la concentración de adiponectina los individuos con el haplotipo portadores A/TT presentaron mayor concentración que los individuos con el haplotipo GG/GG independientemente de la frecuencia de consumo de legumbres. En cambio, se ha detectado que el haplotipo portadores A/TT es más susceptible al efecto del consumo de legumbres, ya que estos individuos presentan menor peso, IMC y perímetro de la cintura y, en cambio, mayor concentración de adiponectina cuando consumen 3 veces o más legumbres a la semana. La interacción entre el haplotipo

de los polimorfismos rs17300539 y rs1501299 y el consumo de legumbres fue significativa en todos los casos, salvo para el IMC que se mostró en el límite de la significación.

Tabla 4.120. Interacción entre el haplotipo de los polimorfismos rs17300539 y rs1501299 del gen ADIPOQ y el consumo de legumbres sobre el peso, IMC, perímetro de la cintura y la concentración de adiponectina en la población estudiada.

	Portadores A/TT Media ± DS	GG/GG Media ± DS	P¹
Peso (Kg)			
Menos de 3 veces/semana	83,4 ± 12,6	75,6 ± 11,2	<0,001
3 o más veces/semana	72,9 ± 9,0	74,4 ± 11,7	0,695
P²	0,013	0,332	
P interacción haplotipo*consumo de legumbres=0,029			
IMC (Kg/m²)			
Menos de 3 veces/semana	32,4 ± 4,5	30,1 ± 4,3	0,002
3 o más veces/semana	28,9 ± 2,6	29,6 ± 4,1	0,560
P²	0,018	0,279	
P interacción haplotipo*consumo de legumbres=0,053			
Cintura (cm)			
Menos de 3 veces/semana	111,13 ± 13,9	102,1 ± 11,4	<0,001
3 o más veces/semana	99,0 ± 8,2	102,2 ± 12,8	0,421
P²	0,008	0,937	
P interacción haplotipo*consumo de legumbres=0,004			
Adiponectina (µg/mL)			
Menos de 3 veces/semana	11,9 ± 5,5	10,2 ± 5,5	0,080
3 o más veces/semana	16,8 ± 8,7	10,1 ± 5,4	0,001
P²	0,034	0,888	
P interacción haplotipo*consumo de legumbres=0,018			

¹: p valor de comparación de medias entre genotipos mediante una prueba T-Student. ²: p valor de comparación de medias entre individuos que consumen más o menos de 3 veces a la semana legumbres mediante una prueba T-Student.

Además, se observó que los individuos con el haplotipo portadores A/TT también mostraron mayor riesgo de obesidad si mostraban un consumo de legumbres inferior a 3 veces por semana respecto al haplotipo GG/GG, incluso tras ajustar por sexo y edad, sin detectarse diferencias en el riesgo de obesidad en función del haplotipo de los

polimorfismos rs17300539 y rs1501299 entre los que tenían un consumo de legumbres igual o superior a 3 veces por semana (Tabla 4.121.). La interacción para la determinación de la obesidad se quedó en el límite de la significación.

Tabla 4.121. Riesgo de obesidad asociado el haplotipo de los polimorfismos rs17300539 y rs1501299 del gen ADIPOQ según la frecuencia de consumo de legumbres en la población estudiada.

	OR ¹	OR ²
Menos de 3 veces/semana	1,37 (1,07-1,74) P=0,030	2,21 (1,09-4,41) P=0,027
3 o más veces/semana	0,66 (0,25-1,79) P=0,372	0,51 (0,13-2,05) P=0,343
	P interacción haplotipo*consumo de legumbres=0,073	

OR: valor de odds ratio referido a los portadores del haplotipo portadores A/TT frente al haplotipo GG/GG, entre paréntesis se incluye el intervalo de confianza al 95% y p-valor obtenido al calcular la OR mediante regresión logística. ¹: estimaciones brutas mediante regresión logística simple; ²: estimaciones ajustadas por edad y sexo mediante regresión logística múltiple.

4.2.6.3.3 Interacción entre el polimorfismo rs17366743 del gen ADIPOQ con el uso principalmente de aceite de oliva para cocinar sobre la glucosa

En la población del estudio PREDIMED del nodo de Valencia los portadores del alelo C del polimorfismo rs17366743 del gen ADIPOQ muestran mayor concentración de glucosa (apartado 4.2.5.1.1.). Sin embargo, se ha encontrado que el uso de aceite de oliva como principal grasa para cocinar puede modular los efectos de esta asociación. Así, en individuos que no usan principalmente el aceite de oliva para cocinar se observó como los portadores del alelo C del rs17366743 mostraban mayor concentración de glucosa frente a los homocigotos TT. En cambio, en individuos con un uso mayoritario de aceite de oliva como grasa para cocinar no se encontraron diferencias significativas en la concentración de glucosa entre los portadores del alelo C y los homocigotos TT (Tabla 4.122.). La interacción para la determinación de la concentración de glucosa entre el polimorfismo rs17366743 y el uso de aceite de oliva principalmente como grasa para cocinar fue estadísticamente significativa (p interacción rs17366743*uso de aceite de oliva=0,036).

Tabla 4.122. Interacción entre el polimorfismo rs17366743 del gen ADIPOQ y el uso de aceite de oliva principalmente para cocinar sobre la concentración de glucosa en la población estudiada.

	TT Media ± DS	TC + CC Media ± DS	P ¹
Glucosa (mg/dL)			
No uso principal de AO	118,3 ± 33,2	160,9 ± 83,6	0,003
Uso principal de AO	119,4 ± 38,5	126,6 ± 52,6	0,349
P²	0,765	0,185	

AO: aceite de oliva. ¹: p valor de comparación de medias entre genotipos mediante un prueba T-Student. ²: p valor de comparación de medias entre individuos según el uso o no de AO como principal grasa para cocinar mediante un prueba T-Student.

4.2.6.3.4 Interacción entre el polimorfismo rs1058046 del gen PYY con el consumo de frutos secos sobre el IMC

Puesto que en esta población de elevado riesgo cardiovascular del estudio PREDIMED no se detectó asociación entre el polimorfismo rs1058046 (T72R) con obesidad se analizó la posible influencia de factores ambientales. De hecho, se encontró una interacción entre el polimorfismo rs1058046 con el consumo de frutos secos en la determinación del IMC (p interacción rs1058046*consumo de frutos secos=0,038). Se observó que los individuos heterocigotos y homocigotos TT presentaban menor IMC que los homocigotos RR si presentaban un consumo de frutos secos de 3 veces o más a la semana (TT: 29,4±3,3 Kg/m², TR: 29,2±4,2 Kg/m², RR: 30,4±5,0 Kg/m², p=0,048). Sin embargo en los individuos que consumían frutos secos menos de 3 veces por semana no se observaron diferencias en el IMC según el genotipo de este polimorfismo (TT: 30,0±4,0 Kg/m², TR: 30,7±4,3 Kg/m², RR: 30,6±4,5 Kg/m², p=0,316). (Figura 4.24.).

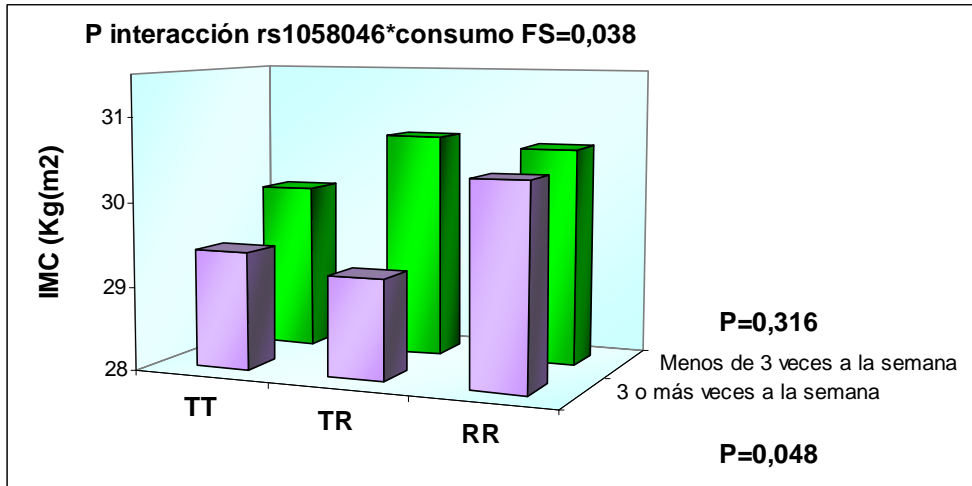


Figura 4.24. Media de IMC en individuos que consumen frutos secos 3 o más veces o menos de 3 veces a la semana según el genotipo del polimorfismo rs1058046 en la población estudiada. FS: frutos secos. P: p-valor de comparación de medias mediante una prueba ANOVA.

Paralelamente, la asociación con un menor riesgo de obesidad entre los portadores T frente a los homocigotos RR en los individuos que consumen 3 veces o más a la semana frutos secos se quedó en el límite de la significación. Entre los individuos que presentan un consumo inferior de frutos secos no se detectaron diferencias en el riesgo de obesidad (Tabla 4.123.).

Tabla 4.123. Riesgo de obesidad asociado al polimorfismo rs1058046 del gen PYY en individuos según la frecuencia de consumo de frutos secos en la población estudiada.

	OR ¹	OR ²
Menos de 3 veces/semana	1,06 (0,78-1,43) P=0,720	1,05 (0,77-1,42) P=0,769
3 o más veces/semana	0,64 (0,39-1,05) P=0,078	0,64 (0,39-1,05) P=0,077

OR: valor de odds ratio referido a los portadores del alelo minoritario correspondiente a la T frente a los homocigotos RR, entre paréntesis se incluye el intervalo de confianza al 95% y p-valor obtenido al calcular la OR mediante regresión logística. ¹: estimaciones brutas mediante regresión logística simple; ²: estimaciones ajustadas por edad y sexo mediante regresión logística múltiple.

4.2.6.3.5 Interacción entre el polimorfismo rs17782313 del gen MC4R con el consumo de legumbres sobre la concentración de AGNE

En el presente estudio se ha detectado que la asociación entre el polimorfismo rs17782313 y la concentración de AGNE también se encuentra modulada por la frecuencia de consumo de legumbres, detectándose una interacción estadísticamente significativa (p interacción rs17782313*consumo de legumbres=0,007). En la tabla 4.124. se observa que los individuos portadores de alelo C presentan mayor concentración de AGNE plasmáticos frente a los homocigotos TT cuando presentan un consumo de legumbres inferior a 3 veces por semana. Sin embargo, los portadores del alelo C no mostraron diferencias frente a los homocigotos TT en la concentración de AGNE en los individuos con un consumo superior de legumbres. Además, se observó que los portadores del alelo C son los que muestran un descenso significativo en la concentración de AGNE al consumir legumbres 3 o más veces a la semana, sin detectarse estas diferencias en los homocigotos TT según la frecuencia de consumo de legumbres.

Tabla 4.124. Interacción entre el polimorfismo rs17782313 del gen MC4R y el consumo de legumbres sobre la concentración de AGNE en la población estudiada.

	TT Media \pm DS	TC + CC Media \pm DS	P ¹
AGNE (mg/dL)			
Menos de 3 veces/semana	16,7 \pm 7,5	18,7 \pm 7,1	<0,001
3 o más veces/semana	16,9 \pm 7,9	16 \pm 5,3	0,310
P²	0,812	0,001	

AGNE: ácidos grasos no esterificados. ¹: p valor de comparación de medias entre genotipos mediante un prueba T-Student. ²: p valor de comparación de medias entre individuos según el consumo de legumbres mediante un prueba T-Student.

4.2.6.3.6 Interacción entre los polimorfismos rs806381 y rs6454674 del gen CNR1 con el consumo de verduras u hortalizas sobre el IMC y la concentración de leptina

En el apartado 4.2.4.2.1. se ha mostrado como los polimorfismos rs806381 y rs6454674 del gen CNR1 se han relacionado con el IMC y la concentración de leptina. Además estas asociaciones, concretamente con el peso y la leptina, se mostraron influenciadas por el sexo. Paralelamente, también se ha detectado que estas asociaciones muestran una interacción con el consumo de verduras u hortalizas, quedándose solo en el límite de la significación la interacción entre el polimorfismo rs6454674 con el IMC (IMC: p interacción rs806381*consumo de verduras<0,001, p interacción rs6454674*consumo de verduras=0,060; leptina: p interacción rs806381*consumo de verduras<0,001, p interacción rs6454674*consumo de verduras=0,013). De este modo, los individuos homocigotos GG para ambos polimorfismos cuyo consumo de verduras u hortalizas era inferior de dos veces

al día mostraban mayor IMC y concentración de leptina. Sin embargo, no se detectaron diferencias según el genotipo en el IMC o la concentración de leptina en aquellos individuos cuyo consumo de verduras u hortalizas era más elevado (Figuras 4.25. y 4.26.).

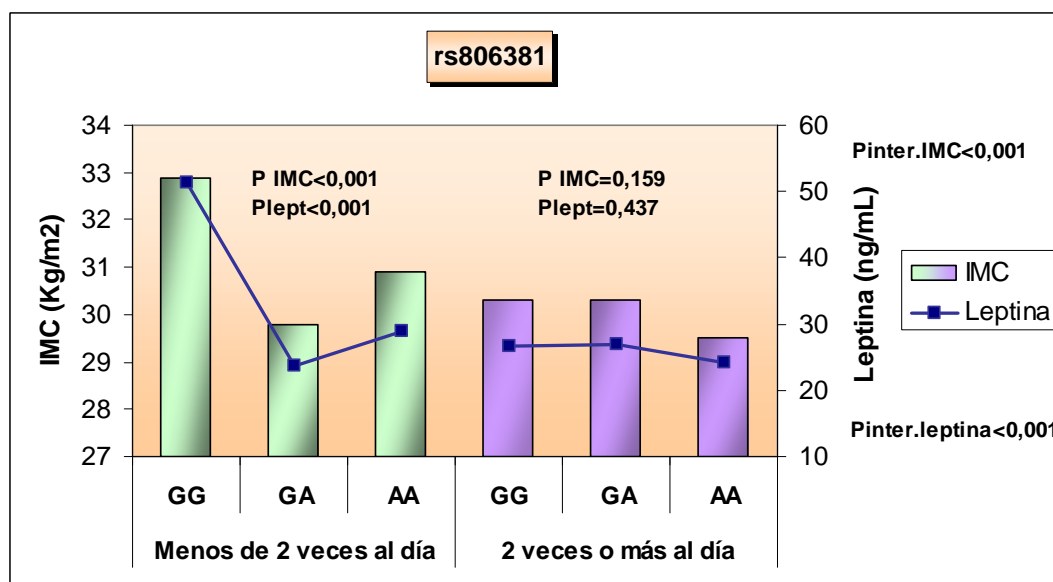


Figura 4.25. Media de concentración de IMC y leptina en individuos que consumen menos de 2 veces o 2 o más veces al día verduras u hortalizas según el genotipo del polimorfismo rs806381 del gen CNR1. Pinter.: P interacción. P: p-valor de comparación de medias mediante una prueba ANOVA.

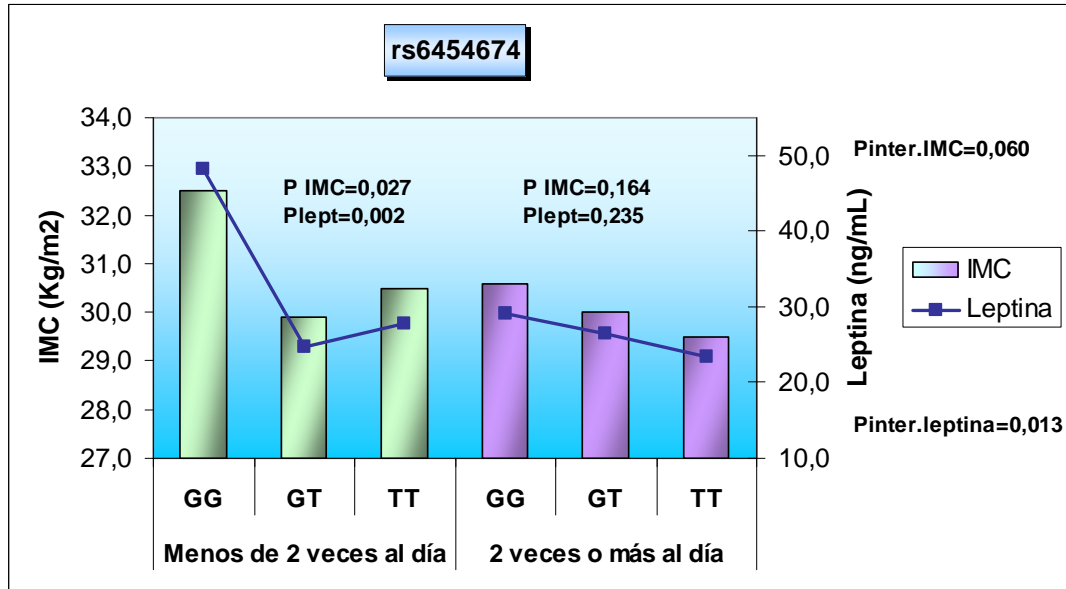


Figura 4.26. Media de concentración de IMC y leptina en individuos que consumen menos de 2 veces o 2 o más veces al día verduras u hortalizas según el genotipo del polimorfismo rs6454674 del gen CNR1. Pinter.: P interacción. P: p-valor de comparación de medias mediante una prueba ANOVA.

4.2.6.3.7 Interacción entre el polimorfismo rs2880411 del gen NPY2R con el consumo de carnes rojas y productos cárnicos sobre el IMC

En la población del estudio PREDIMED del nodo de Valencia se ha observado que los portadores del alelo G del polimorfismo rs2880411 del gen NPY2R muestran mayor IMC respecto a los homocigotos TT sólo en aquellos individuos que consumían, al menos, 1 vez al día carnes rojas u otros productos cárnicos, como hamburguesa, salchichas o embutidos. Sin embargo, en los individuos que presentaban un consumo menor de estos productos no se observó diferencias en el IMC entre los portadores G y los homocigotos TT (Tabla 4.125.). La interacción entre el polimorfismo rs2880411 y el consumo de carnes rojas y otros productos cárnicos se mostró estadísticamente significativa (p interacción rs2880411*consumo de carnes rojas o productos derivados=0,020).

Tabla 4.125. Interacción entre el polimorfismo rs2880411 del gen NPY2R y el consumo de carnes rojas, hamburguesas, salchichas o embutidos sobre el IMC en la población estudiada.

	TT Media ± DS	TG + GG Media ± DS	P¹
IMC (Kg/m²)			
Menos de 1 vez/día	30,2 ± 4,2	30,2 ± 4,4	0,894
1 o más veces/día	30,2 ± 4,3	32,5 ± 4,5	0,012
P²	0,922	0,007	

¹: p valor de comparación de medias entre genotipos mediante un prueba T-Student. ²: p valor de comparación de medias entre individuos que consumen menos o 1 o más veces al día carnes rojas, hamburguesas, salchichas o embutidos mediante un prueba T-Student.

4.2.6.3.8 Interacción entre el polimorfismo rs1761667 del gen CD36 con el consumo de pescado o marisco sobre la concentración de triglicéridos, AGNE y adiponectina

En el presente estudio se ha detectado una interacción entre el polimorfismo rs1761667 del gen CD36 con la frecuencia de consumo de pescado o marisco en la determinación de la concentración de triglicéridos, AGNE y adiponectina en la población del estudio PREDIMED del nodo de Valencia (triglicéridos: p interacción rs1761667*cosumo de pescado o marisco=0,019; AGNE: p interacción rs1761667*cosumo de pescado o marisco=0,026; adiponectina: p interacción rs1761667*cosumo de pescado o marisco=0,008). Así, se observó que los individuos homocigotos GG que consumen pescado o marisco 3 o más veces a la semana muestran menor concentración de triglicéridos, AGNE y, en cambio, presentan mayor concentración de adiponectina respecto a los individuos con el mismo genotipo pero que consumen pescado o marisco con menor frecuencia. Sin embargo, no se detectaron diferencias en la concentración de estos parámetros en los individuos heterocigotos u homocigotos AA en función del consumo de pescado o marisco (Tabla 4.126.).

Tabla 4.126. Interacción entre el polimorfismo rs1761667 del gen CD36 y el consumo de pescado o marisco sobre la concentración de triglicéridos, AGNE y adiponectina en la población estudiada.

	GG Media ± DS	GA Media ± DS	AA Media ± DS	P¹
Triglicéridos (mg/dL)				
Menos de 3 v/s	140,3 ± 76,0	124,8 ± 63,8	124,0 ± 64,2	0,197
3 o más v/s	113,6 ± 51,8	131,5 ± 69,3	123,1 ± 61,4	0,067
P²	0,013	0,203	0,897	
P interacción rs1761667*consumo de pescado o marisco =0,019				
AGNE (mg/dL)				
Menos de 3 v/s	20,2 ± 8,5	17,1 ± 7,8	16,8 ± 7,2	0,003
3 o más v/s	16,9 ± 7,0	16,9 ± 7,2	17,0 ± 6,6	0,995
P²	0,005	0,812	0,820	
P interacción rs1761667*consumo de pescado o marisco =0,026				
Adiponectina (µg/mL)				
Menos de 3 v/s	9,2 ± 4,1	10,5 ± 6,6	10,8 ± 5,6	0,136
3 o más v/s	11,9 ± 6,1	10,0 ± 5,2	10,8 ± 5,9	0,025
P²	0,001	0,431	0,947	
P interacción rs1761667*consumo de pescado o marisco =0,008				

v/s: veces por semana. ¹: p valor de comparación de medias entre genotipos mediante una prueba ANOVA. ²: p valor de comparación de medias entre individuos que consumen menos de 3 veces o 3 veces o más a la semana pescado o marisco mediante una prueba T-Student.

4.2.6.3.9 Interacción entre el polimorfismo rs3812316 del gen MLXIPL con la adherencia a la DM y el consumo de legumbres sobre el IMC

En la población analizada del estudio PREDIMED del nodo de Valencia se ha observado que los homocigotos CC del polimorfismo rs3812326 del gen MLXIPL presentan mayor IMC que los portadores del alelo G solo si presentan un patrón dietético con baja adherencia a la DM (Tabla 4.127.), manteniéndose esta asociación incluso tras ajustar por triglicéridos ($p=0,035$), ya que este polimorfismo mostraba una fuerte influencia en la concentración de triglicéridos. Entre los individuos con un patrón dietético con alta adherencia a la DM no se detectaron diferencias según el genotipo en el IMC. Sin embargo, la interacción entre el polimorfismo rs3812316 y la adherencia a la DM no alcanzó la significación estadística (p interacción rs3812316*adherencia a la DM=0,166).

Tabla 4.127. Interacción entre el polimorfismo rs3812316 del gen MLXIPL y la adherencia a la DM sobre el IMC en la población estudiada.

	CC Media ± DS	CG + GG Media ± DS	P ¹
IMC (Kg/m²)			
Alta adherencia DM	29,8 ± 4,3	29,6 ± 4,4	0,743
Baja adherencia DM	31,0 ± 4,3	29,8 ± 4,5	0,029
p²	<0,001	0,804	

DM: Dieta Mediterránea. ¹: p valor de comparación de medias entre genotipos mediante un prueba T-Student. ²: p valor de comparación de medias entre individuos con una alta y baja adherencia a la DM mediante un prueba T-Student

Paralelamente, entre los individuos que presentaron una baja adherencia a la DM, los homocigotos CC mostraron un mayor riesgo de obesidad respecto a los portadores del alelo G, quedándose esta asociación en el límite de la significación tras ajustar por sexo y edad (Tabla 4.128.), incluso tras incluir los triglicéridos entre los factores de confusión (p=0,089). Entre los individuos con una alta adherencia a la DM no se detectaron diferencias en el riesgo de obesidad entre los homocigotos CC y los portadores del alelo G

Tabla 4.128. Riesgo de obesidad asociado al polimorfismo rs3812316 del gen MLXIPL en individuos según la adherencia a la DM en la población estudiada.

	OR ¹	OR ²
Alta adherencia DM	1,09 (0,69-1,75) P=0,710	1,11 (0,69-1,79) P=0,659
Baja adherencia DM	1,47 (0,89-2,45) P=0,132	1,61 (0,96-2,69) P=0,072

OR: valor de odds ratio referido a los homocigotos CC frente a los portadores del alelo G, entre paréntesis se incluye el intervalo de confianza al 95% y p-valor obtenido al calcular la OR mediante regresión logística. ¹: estimaciones brutas mediante regresión logística simple; ²: estimaciones ajustadas por edad y sexo mediante regresión logística múltiple.

Por otro lado, se detectó que entre los distintos componentes de la DM el consumo de legumbres ejerce un mayor efecto sobre la asociación del polimorfismo rs3812316 y el IMC. De modo, que los homocigotos CC que consumían legumbres menos de 3 veces por semana mostraron mayor IMC que los portadores del alelo G (Tabla 4.129.), quedándose en el límite de la significación tras ajustar por triglicéridos (p=0,050) Sin embargo, no se observaron estas diferencias entre los individuos que presentaban un consumo de 3 veces o más a la semana de legumbres. La interacción se quedó en el límite de la significación estadística (p interacción rs3812316*consumo de legumbres=0,088).

Tabla 4.129. Interacción entre el polimorfismo rs3812316 del gen MLXIPL y el consumo de legumbres sobre el IMC en la población estudiada.

	CC Media ± DS	CG + GG Media ± DS	P ¹
IMC (Kg/m²)			
Menos de 3 veces/semana	30,6 ± 4,4	29,5 ± 4,6	0,015
3 o más veces/semana	29,9 ± 4,3	30,3 ± 4,2	0,590
P²	0,057	0,312	

¹: p valor de comparación de medias entre genotipos mediante un prueba T-Student. ²: p valor de comparación de medias entre individuos que consumen menos de 3 veces o 3 veces o más a la semana mediante un prueba T-Student

Además, respecto al riesgo de obesidad, los homocigotos CC mostraron mayor riesgo de obesidad respecto a los portadores del alelo G, entre los individuos que consumían legumbres menos de 3 veces por semana (Tabla 4.130.), incluso tras incluir los triglicéridos entre los factores de confusión (p=0,042). Sin embargo, entre los individuos con un mayor consumo de legumbres no se observaron diferencias en el riesgo de obesidad entre los homocigotos CC y los portadores del alelo G.

Tabla 4.130. Riesgo de obesidad asociado al polimorfismo rs3812316 del gen MLXIPL según el consumo de legumbres en la población estudiada.

	OR ¹	OR ²
Menos de 3 veces/semana	1,58 (1,06-2,36) P=0,025	1,67 (1,11-2,50) P=0,014
3 o más veces/semana	0,72 (0,37-1,41) P=0,335	0,74 (0,37-1,45) P=0,374

OR: valor de odds ratio referido a los homocigotos CC frente a los portadores del alelo G, entre paréntesis se incluye el intervalo de confianza al 95% y p-valor obtenido al calcular la OR mediante regresión logística. ¹: estimaciones brutas mediante regresión logística simple; ²: estimaciones ajustadas por edad y sexo mediante regresión logística múltiple.

4.2.6.3.10 Asociación entre el polimorfismo rs3754686 del gen MCM6 y el consumo de productos lácteos sobre el IMC

En esta población del estudio del estudio PREDIMED del nodo de Valencia la frecuencia media de consumo de productos lácteos fue de 18,0±9,5 veces por semana, detectándose diferencias en la frecuencia de consumo entre hombres y mujeres (Tabla 4.131.).

Tabla 4.131. Media de consumo de productos lácteos en la población estudiada y en comparación por sexo

	Població total (n=1050)	Hombres (n=390)	Mujeres (n=660)	p¹
	Media ± DS	Media ± DS	Media ± DS	
Consumo de lácteos (v/s)	18,0 ± 9,5	16,0 ± 8,3	19,1 ± 10,0	<0,001

v/s: veces por semana. ¹: p valor de comparación de medias entre hombres y mujeres mediante un prueba T-Student.

Respecto al polimorfismo rs3754686 del gen MCM6, puesto que se encuentra ubicado en una región próximo al gen LCT, se analizó la frecuencia de consumo de productos lácteos en función del genotipo del polimorfismo. En la tabla 4.132. se muestran los resultados en la población total y según el sexo. En el total de la población estudiada no se detectaron diferencias según el genotipo en la frecuencia de consumo de productos lácteos. En cambio, al comparar por sexo se observa como en mujeres las homocigotas GG presentan un mayor consumo de lácteos por semana respecto a las heterocigotas y las homocigotas AA, mostrando una tendencia lineal según el genotipo (p tendencia lineal=0,026). Sin embargo, en hombres no se observaron diferencias según el genotipo en la frecuencia de productos lácteos a la semana. La interacción entre el polimorfismo rs3754686 y el sexo para la determinación del consumo de productos lácteos fue estadísticamente significativa (p interacción rs3754686*sexo=0,025).

Tabla 4.132. Frecuencia de consumo de productos lácteos según el genotipo del polimorfismos rs3754686 del gen MCM6 en la población estudiada y en función del sexo.

	AA	AG	GG	p¹
	Media ± DS	Media ± DS	Media ± DS	
Consumo lácteos (v/s)				
Poblacion total	17,2 ± 8,9	18,1 ± 9,7	18,4 ± 10,0	0,323
Hombre	16,4 ± 8,5	16,5 ± 8,2	14,5 ± 7,8	0,167
Mujer	17,7 ± 9,1	19,2 ± 10,3	20,4 ± 10,5	0,048
	P interaccion rs3754686 * sexo = 0,025			

v/s: veces por semana. ¹: p valor de comparación de medias según el genotipo mediante un prueba ANOVA, en la población total y en función del sexo.

Posteriormente, se observó que el polimorfismo rs3754686 muestra un efecto sobre el IMC y el riesgo de obesidad en función de la frecuencia de consumo de productos lácteos. De modo que, los individuos que consumían productos lácteos con una frecuencia inferior a 20,5 veces por semana no mostraron diferencias en el IMC o el riesgo de obesidad según el genotipo. Sin embargo, los portadores del alelo G con un consumo superior o igual a

20,5 veces por semana mostraron mayor IMC, quedándose estos resultados en el límite de la significación ($p=0,054$) (Figura 4.27.), y mayor riesgo de obesidad frente a los homocigotos AA, incluso tras ajustar por sexo y edad (Tabla 4.133.). La interacción para la determinación del IMC y el riesgo de obesidad no fue estadísticamente significativa (IMC: p interacción $rs3754686$ *consumo de lácteos= $0,518$; obesidad: p interacción $rs3754686$ *consumo de lácteos= $0,609$).

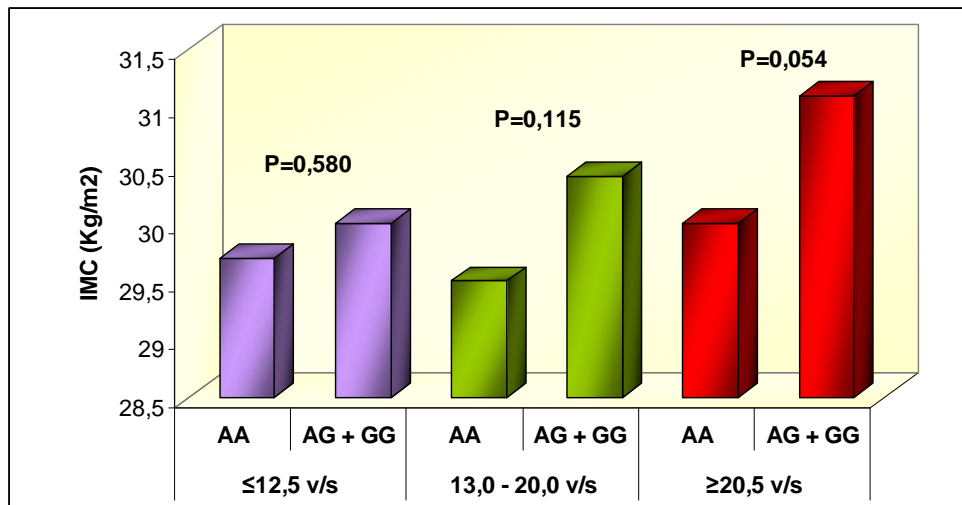


Figura 4.27. Valores de IMC en individuos que consumen productos lácteos con las frecuencias $\leq 12,5$ veces por semana, 13,0-20,0 veces por semana y $\geq 20,5$ veces por semana según el polimorfismo $rs3754686$ del gen MCM6. v/s: veces por semana. P: p-valor de comparación de medias mediante una prueba T-Student.

Tabla 4.133. Riesgo de obesidad asociado al polimorfismo $rs3754686$ del gen MCM6 según el consumo de productos lácteos en la población estudiada.

Consumo de lácteos	OR ¹	OR ²
$\leq 12,5$ v/s	1,19 (0,73-1,92) P=0,486	1,25 (0,77-2,04) P=0,372
13,0-20,0 v/s	1,51 (0,89-2,55) P=0,128	1,49 (0,87-2,52) P=0,144
$\geq 20,5$ v/s	1,67 (1,02-2,74) P=0,041	1,66 (1,01-2,75) P=0,047

OR: valor de odds ratio referido a los portadores del alelo G frente a los homocigotos AA, entre paréntesis se incluye el intervalo de confianza al 95% y p-valor obtenido al calcular la OR mediante regresión logística. v/s: veces por semana. ¹: estimaciones brutas mediante regresión logística simple; ²: estimaciones ajustadas por edad y sexo mediante regresión logística múltiple.

4.2.6.3.11 Interacción entre el polimorfismo rs7120118 del gen NR1H3 con la adherencia a la DM y el consumo de aceite de oliva sobre la concentración de c-HDL

Se ha observado en la población del estudio PREDIMED del nodo de Valencia que los portadores del alelo C del polimorfismo rs7120118 del gen NR1H3 presentaban de manera significativa mayor concentración de c-HDL, tras ajustar por factores de confusión, respecto a los homocigotos TT (apartado 4.2.5.4.4.). Paralelamente, los individuos con una alta adherencia a la DM también presentaron mayor concentración de c-HDL (apartado 4.2.3.2.3.). Por ello, se estudió el efecto de la adherencia a la DM sobre la asociación entre el polimorfismo rs7120118 y los niveles de c-HDL.

Los resultados mostraron que las diferencias en la concentración de c-HDL según el genotipo del polimorfismo rs7120118 solo se presentaban de manera estadísticamente significativa en individuos con una baja adherencia a la DM, donde los portadores del alelo C presentaban mayor concentración de c-HDL respecto a los homocigotos TT. En cambio, en individuos que presentaban una alta adherencia a la DM, no se encontraron diferencias significativas en la concentración de c-HDL según el genotipo, detectándose un incremento en los niveles de c-HDL entre los homocigotos TT con alta adherencia frente a los que presentan una baja adherencia a la DM, quedándose estas diferencias en el límite de la significación (Tabla 4.134.). La interacción para la determinación de la concentración de c-HDL no fue estadísticamente significativa (p interacción rs7120118*adherencia a la DM=0,108).

Tabla 4.134. Interacción entre el polimorfismo rs7120118 del gen NR1H3 y la adherencia a la DM sobre la concentración de c-HDL en la población estudiada.

	CC + CT Media ± DS	TT Media ± DS	P ¹
c-HDL (mg/dL)			
Alta adherencia DM	53,3 ± 13,1	52,8 ± 12,4	0,727
Baja adherencia DM	54,4 ± 13,3	50,5 ± 12,9	0,012
p²	0,519	0,077	

DM: Dieta Mediterránea. ¹: p valor de comparación de medias entre genotipos mediante un prueba T-Student. ²: p valor de comparación de medias entre individuos con una alta y baja adherencia a la DM mediante un prueba T-Student

Por otro lado, se observó que el consumo de aceite de oliva era el componente de la DM que ejercía un mayor efecto en esta asociación. De hecho, se detectó que solo en aquellos individuos que consumían menos de 4 cucharadas al día de aceite de oliva se observaban las diferencias según el genotipo del polimorfismo rs7120118, donde los portadores C presentaban mayor concentración frente a los homocigotos TT. En cambio, en

los individuos con un mayor consumo (más de 4 cucharadas al día) no se observaron estas diferencias. Además, se mostró como los homocigotos TT presentaban mayor concentración de c-HDL entre los que consumían 4 o más cucharadas de aceite de oliva al día frente a los individuos con el mismo genotipo pero que tenían un consumo inferior de aceite de oliva, mostrándose, de nuevo, estos resultados en el límite de la significación (Tabla 4.135.). La interacción no alcanzó la significación estadística (p interacción rs7120118*consumo de aceite de oliva=0,090).

Tabla 4.135. Interacción entre el polimorfismo rs7120118 del gen NR1H3 y el consumo de aceite de oliva sobre la concentración de c-HDL en la población estudiada.

	CC + CT Media ± DS	TT Media ± DS	P ¹
c-HDL (mg/dL)			
Menos de 4 cucharadas/día	54,9 ± 13,7	49,7 ± 13,7	0,020
4 o más cucharadas/día	53,6 ± 13,1	52,5 ± 12,2	0,371
P²	0,518	0,053	

¹: p valor de comparación de medias entre genotipos mediante un prueba T-Student. ²: p valor de comparación de medias entre individuos que consumen menos de 4 o 4 o más cucharadas de aceite de oliva al día mediante un prueba T-Student

4.2.7 Estudio de combinaciones genotípicas entre polimorfismos

En esta sección se expone el efecto que produce la combinación de genotipos de polimorfismos que han mostrado asociación con el mismo parámetro de manera independiente.

4.2.7.1 Estudio de la combinación genotípica de los polimorfismos rs17782313 del gen MC4R y rs3812316 del gen MLXIPL

Los polimorfismos rs17782313 del gen MC4R y rs3812316 del gen MLXIPL mostraron asociación con la concentración de triglicéridos. Los portadores del alelo C del rs17782313 del gen MC4R mostraron un 2,1% más de concentración de triglicéridos que los individuos homocigotos TT. Respecto al polimorfismo rs3812316 del gen MLXIPL, los homocigotos CC presentaron un 4,3% más de triglicéridos que los portadores del alelo G. Al examinar el efecto combinado de los genotipos asociados con menor concentración de triglicéridos (TT/portadores G) frente a los portadores de los genotipos relacionados con mayor concentración (portadores C/CC) se observó un incremento del 5,0% en los individuos portadores de la combinación genotípica de riesgo. Las diferencias en la concentración de triglicéridos según el genotipo se mostraron estadísticamente significativa

tanto en los análisis independientes, como en el de la combinación de genotipos (Tabla 4.136.).

Tabla 4.136. Efecto del genotipo asociado con mayor concentración sobre el relacionado con menor concentración de los polimorfismos rs17782313 del gen MC4R y rs3812316 del gen MLXIPL y de la combinación de estos genotipos sobre la concentración de triglicéridos, en población estudiada.

	MC4R rs17782313		MLXIPL rs3812316		Combinación ³	
	TT n=623	Port. C n=396	CC n=865	Port. G n=163	TT/Port. G n=100	Port.C/CC n=331
TG(mg/dl)	123,4±61,8	133,3±70,0	129,3±64,7	116,1±66,7	108,3±59,4	134,3±68,8
Diferencia (%)¹	2,1		4,3		5,0	
P²	0,025		0,001		<0,001	

¹ Porcentaje de diferencia en la concentración de triglicéridos entre los genotipos asociados con mayor y menor concentración; ² indica p-valor obtenido con una prueba T-Student para comparar medias; ³ Combinación de genotipos asociados con mayor concentración del rs17782313 de MC4R y rs3812316 de MLXIPL frente a los asociados con menor concentración. Port.: Portadores.

4.2.7.2 Estudio de la combinación genotípica entre el polimorfismo rs7120118 del gen NR1H3 y la variante genética rs4684677 del gen GHRL

El polimorfismo rs7120118 del gen NR1H3 y la variante genética rs4684677 del gen GHRL mostraron relación con la concentración de c-HDL en la población estudiada del estudio PREDIMED del nodo de Valencia. De modo que, los portadores del alelo C del rs7120118 del NR1H3 presentaron un 3,9% más de concentración de c-HDL que los homocigotos TT. Por otro lado, los portadores del alelo A del rs4684677 del GHRL mostraron un incremento del 5,3% en la concentración de c-HDL respecto a los homocigotos TT. Aunque las diferencias en el aumento de los niveles de c-HDL se quedaron en el límite de la significación estadística para ambos polimorfismos (Tabla 4.137.). Al analizar la combinación genotípica de los portadores de los alelos minoritarios de cada una de las variantes genéticas asociados con mayor concentración (portadores C/portadores A) respecto a los homocigotos de los alelos mayoritarios asociados con menor concentración (TT/TT) se observó que los individuos portadores de los genotipos asociados con mayor concentración mostraron un incremento del 13,5% en los niveles de c-HDL de manera estadísticamente significativa respecto a individuos con los genotipos de menor concentración (Tabla 4.137.).

Tabla 4.137. Efecto del genotipo asociado con mayor concentración sobre el relacionado con menor concentración del polimorfismo rs7120118 del gen NR1H3 y la variante genética rs4684677 del gen GHRL y de la combinación de estos genotipos sobre la concentración de c-HDL, en la población estudiada.

	NR1H3 rs7120118		GHRL rs4684677		Combinación	
	Port. C n=250	TT n=388	TT n=816	Port. A n=80	Port.C/Port.A n=100	TT/TT n=331
c-HDL(mg/dl)	53,8±13,2	51,8±12,6	52,6±12,6	55,4±16,0	58,7±15,9	51,7±12,1
Diferencia (%)¹	3,9		5,3		13,5	
P²	0,059		0,077		0,005	

¹ Porcentaje de diferencia en la concentración de c-HDL entre los genotipos asociados con mayor y menor concentración; ² indica p-valor obtenido con una prueba T-Student para comparar medias; ³ Combinación de genotipos asociados con mayor concentración del rs7120118 del NR1H3 y rs4684677 del GHRL frente a los asociados con menor concentración. Port.: Portadores.

4.2.8 Estudio de posibles interacciones gen*gen sobre el riesgo de obesidad

En este apartado se muestran los resultados de las interacciones gen*gen entre los polimorfismos rs17782313 del gen MC4R y el rs572169 del gen GHSR sobre el perímetro de la cintura, y la interacción entre los polimorfismos rs806381 y rs6454674 del gen CNR1 y el rs17782313 del gen MC4R sobre el IMC.

4.2.8.1 Estudio de la interacción gen*gen de los polimorfismos rs17782313 del gen MC4R y rs572169 del gen GHSR

En la población estudiada la asociación entre el perímetro de la cintura y el polimorfismo rs17782313 del gen MC4R se quedó en el límite de la significación, siendo los portadores C los que presentaron mayor perímetro, como se muestra en el apartado 4.2.4.2.1. Sin embargo, no se encontró asociación entre el polimorfismo rs572169 del gen GHSR con el perímetro de la cintura.

En cambio, se detectó una interacción gen*gen entre los polimorfismos rs17782313 localizado en el gen MC4R y el polimorfismo rs572169 del gen GHSR en la determinación del perímetro de la cintura de manera estadísticamente significativa (p interacción rs17782313*rs572169=0,003) (Figura 4.28.).

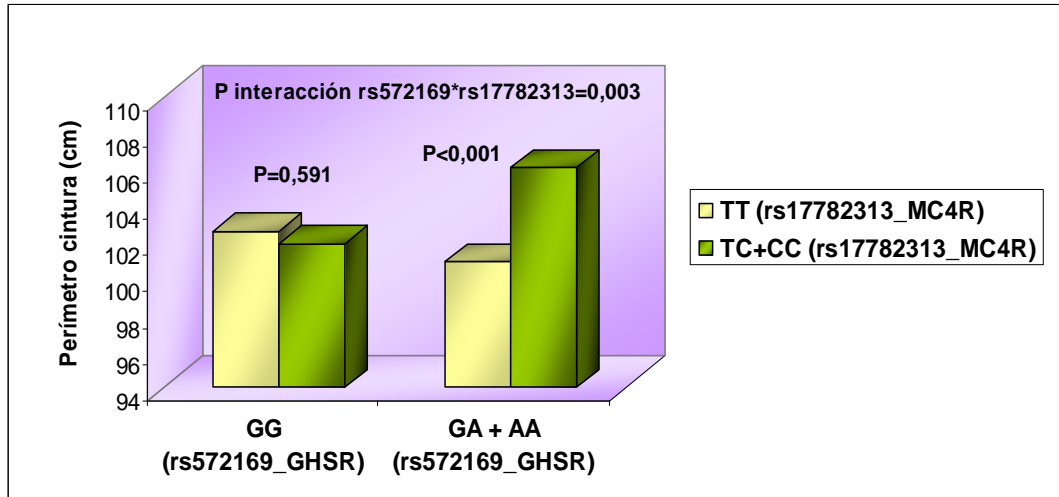


Figura 4.28. Valor medio del perímetro de la cintura (cm) según el genotipo de los polimorfismos rs572169 del gen GHSR y rs17782313 del gen MC4R en la población estudiada.

De esta manera se observa que en individuos con el genotipo homocigoto GG para el polimorfismo rs572169 del gen GHSR no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en el perímetro de la cintura según el genotipo del polimorfismo rs17782313 del gen MC4R (homocigotos TT del rs17782313 del gen MC4R: 102,6±11,9 cm, portadores C del rs17782313 del gen MC4R: 101,9±12,0 cm, $p=0,591$). En cambio, se observó que los individuos portadores del alelo A del gen rs572169 del GHSR mostraban mayor perímetro de la cintura si a su vez eran portadores del alelo C del polimorfismo rs17782313 del gen MC4R (homocigotos TT del rs17782313 del gen MC4R: 100,9±11,4 cm, portadores C del rs17782313 del gen MC4R: 106,1±11,7 cm, $p<0,001$).

4.2.8.2 Estudio de la interacción gen*gen de los polimorfismos rs806381 y rs6454764 del gen CNR1 y rs17782313 del gen MC4R

En la población del estudio PREDIMED del nodo de Valencia, entre los polimorfismos analizados del gen CNR1, los homocigotos GG del polimorfismo rs806381 mostraron mayor IMC respecto a los heterocigotos y homocigotos AA. En cambio, tanto el polimorfismo rs6454764 del gen CNR1 como el rs17782313 del gen MC4R no alcanzaron la significación en su asociación con el IMC.

En cambio, al realizar el estudio de las interacciones gen*gen, no se encontró interacción entre los polimorfismos rs806381 del gen CNR1 y el rs17782313 del gen MC4R en la determinación del IMC (p interacción rs806381*rs17782313=0,456). Sin embargo, en individuos portadores del alelo C del polimorfismo rs17782313 del gen

MC4R se detectaron diferencias según el genotipo del polimorfismo rs806381 del gen CNR1 en el IMC (GG: $32,5 \pm 3,7$ kg/m², GA: $30,3 \pm 4,0$ kg/m², AA: $30,7 \pm 4,3$ kg/m², $p=0,044$), sin detectarse estas diferencias en los individuos con el genotipo homocigoto TT para el polimorfismo rs17782313 del gen MC4R según el genotipo del rs806381 del gen CNR1 en el IMC (GG: $30,6 \pm 4,3$ kg/m², GA: $29,8 \pm 3,9$ kg/m², AA: $29,8 \pm 4,3$ kg/m², $p=0,353$) (Figura 4.29.).

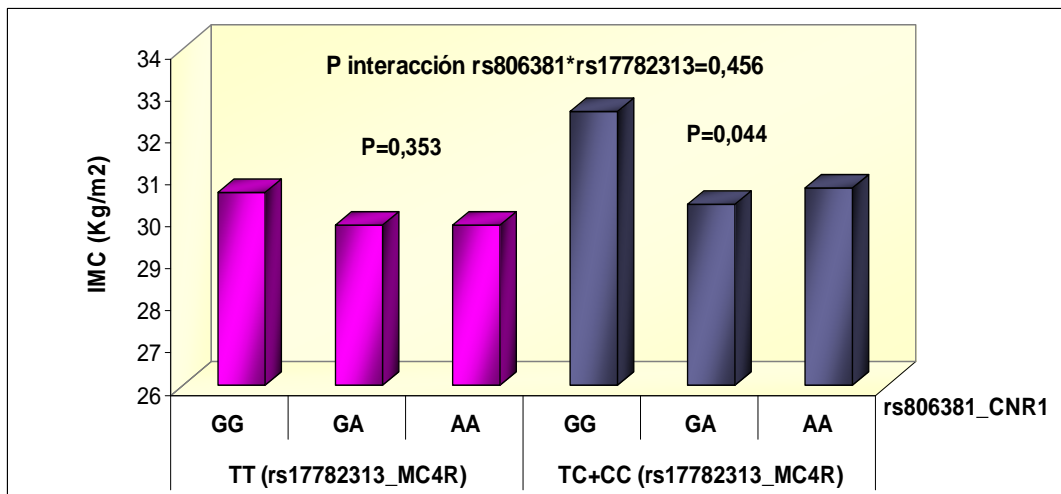


Figura 4.29. Valor medio del IMC (kg/m²) según el genotipo de los polimorfismos rs806381 del gen CNR1 y rs17782313 del gen MC4R en la población estudiada.

Por otro lado, respecto al polimorfismo rs6454764 del gen CNR1 se detectó una interacción estadísticamente significativa con el rs17782313 del gen MC4R en la determinación del IMC (p interacción rs6454764*rs17782313=0,035). De este modo el polimorfismo rs6454764 del gen CNR1 solo se asoció con el IMC en individuos portadores del alelo C del polimorfismo rs17782313 del gen MC4R (GG: $32,6 \pm 4,5$ kg/m², GT: $30,0 \pm 3,8$ kg/m², TT: $30,8 \pm 4,0$ kg/m², $p=0,011$). En cambio, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el IMC según el genotipo del polimorfismo rs6454764 del gen CNR1 entre los individuos homocigotos TT del polimorfismo del gen MC4R (GG: $30,4 \pm 4,0$ kg/m², GT: $30,0 \pm 4,2$ kg/m², TT: $29,5 \pm 4,0$ kg/m², $p=0,245$) (Figura 4.30.).

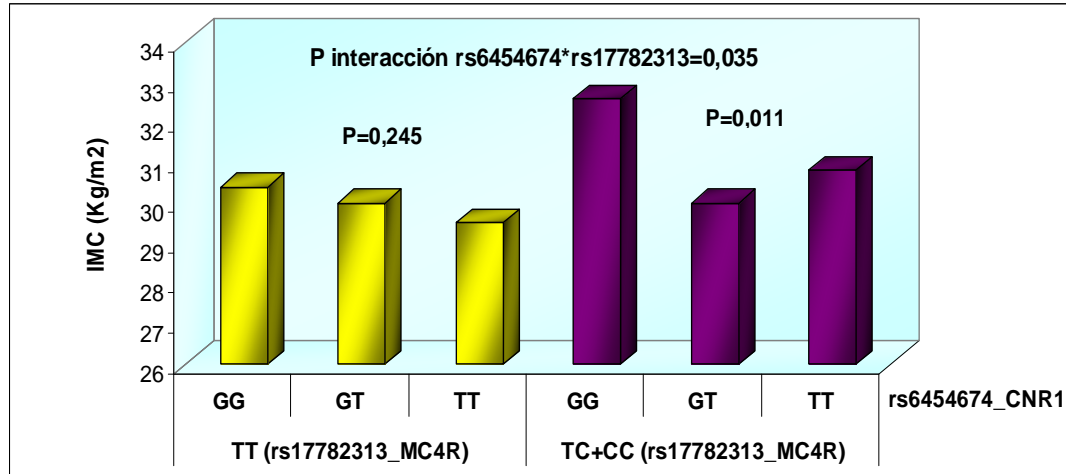


Figura 4.30. Valor medio del IMC (kg/m²) según el genotipo de los polimorfismos rs6454674 del gen CNR1 y rs17782313 del gen MC4R en la población estudiada.

4.3 Estudio de la secuenciación de los exones del gen ADIPOQ

Para el estudio de nuevos polimorfismos en el gen ADIPOQ se procedió al análisis de las secuencias de los tres exones presentes en este gen, junto con las regiones flanqueantes para cada uno de ellos.

En el presente trabajo se analizaron las secuencias de 33 pacientes que habían mostrado unas concentraciones extremas de adiponectina en plasma, 11 de los cuales presentaban unos valores por encima del rango de concentración de adiponectina (niveles superiores a 30 µg/mL), y 10 presentaban unos valores por debajo del rango de concentración (un valor inferior a 5 µg/mL). Posteriormente se analizaron las secuencias mediante la visualización de los cromatogramas, y la alineación de las mismas mediante el programa Multalin, para llevar a cabo una comparación las secuencias de todos los ADN seleccionados para cada uno de los 3 exones del gen, junto con sus regiones flanqueantes.

En este análisis de las secuencias se detectó 3 variaciones genéticas en las muestras estudiadas. De entre ellas dos se situaban en la región del exón 2 y una en la región del exón 3, para el primer exón no encontramos variaciones en ninguno de los 33 casos. Tras la comprobación de estas variaciones en base de datos sobre la secuencia del genoma humano (Ensembl y PubMed) se observó como las tres se trataban de variaciones ya descritas. Así pues, las variaciones encontradas eran las siguientes:

- **rs17366653**: situada en el extremo del intrón 1, en la región flanqueante del exón 2. Corresponde al cambio de una T por una C, sin producir ninguna modificación al situarse en una región intrónica (Figura 4.31.A). Este polimorfismo lo presentaban 5 de las muestras estudiadas.
- **rs2241766**: situada en el exón 2. Se produce el cambio de una T por una G, cambiando el triplete GGT por el triplete GGG, correspondiendo en ambos casos al aminoácido glicina, por lo que es una mutación sinónima (Figura 4.31.B). Se trata de un polimorfismo que previamente se había incluido en el presente estudio. Esta variación la presentaban 4 de las muestras analizadas.
- **rs17366743**: situada en el exón 3. Se produce el cambio de una T por una C, por lo que el triplete CAC se cambia por el TAC, pasando a traducirse de una histidina a una tirosina, por lo que esta variación produce un cambio de aminoácido (Figura 4.31.C). Se trata del polimorfismo Y111H, que también se había incluido inicialmente en el presente estudio, precisamente por el hecho de tratarse de una mutación no silenciosa. Este cambio nucleotídico lo mostraban 2 de las 33 muestras analizadas.

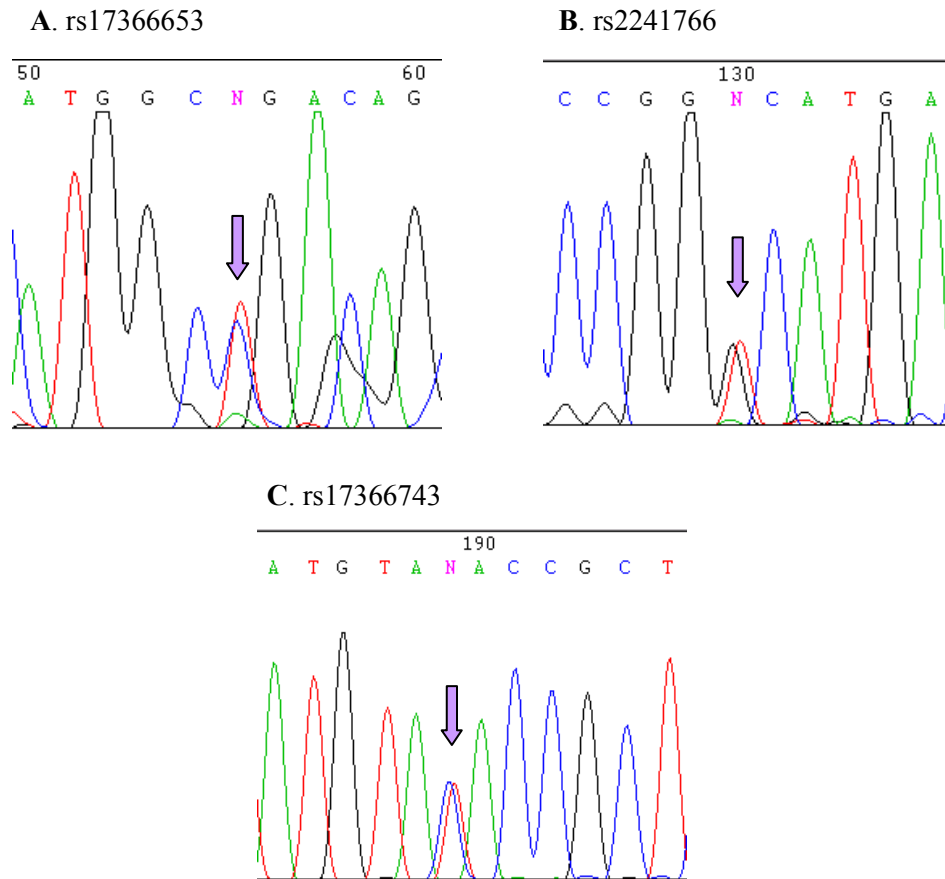


Figura 4.31. Estudio de nuevos polimorfismos en los tres exones del gen ADIPOQ. A. Secuencia de un individuo portador de la mutación rs17366653 en heterocigosis. B. Secuencia de un individuo portador de la mutación rs2241766 en heterocigosis. C. Secuencia de un individuo portador de la mutación rs17366743 también en heterocigosis.

La obesidad es una enfermedad metabólica resultado del desequilibrio entre la ingesta y el gasto energético, con el consecuente aumento de la cantidad de grasa corporal (Loos RJ et al, 2003). Este aumento de grasa corporal produce un desequilibrio en la producción de las sustancias bioactivas producidas por el tejido adiposo, las adipocitoquinas, implicadas en diversas complicaciones clínicas asociadas con la obesidad como la DMT2, la hipertensión o las enfermedades cardiovasculares. Las investigaciones de las últimas décadas han permitido un notable aumento en la comprensión de los mecanismos moleculares que regulan la homeostasis de la energía, poniendo de manifiesto la importancia de los factores ambientales, como el control de la ingesta y el aumento de la actividad física, en la modulación de las reservas energéticas. En cambio, la variabilidad individual en la respuesta a estos factores ambientales refleja la influencia de la carga genética en la regulación de la energía (Bouchard C, 2007), demostrando la existencia de una relación sinérgica entre los genes, la conducta y el medio ambiente en el desarrollo de la obesidad. De ahí estriba la importancia del estudio de las interacciones gen*ambiente en el desarrollo de las enfermedades de origen multifactorial como es el caso de la obesidad.

De este modo, en el presente trabajo se analizó en población mediterránea de elevado riesgo cardiovascular los niveles de adiponectina, leptina y AGNE y su modulación según el estilo de vida, así como la influencia de determinadas variantes genéticas en el desarrollo de la obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular, y la variaciones fenotípicas expresadas en función de las interacciones gen*ambiente y gen*gen.

En este capítulo se realiza, en primer lugar, la discusión de los resultados obtenidos con las características generales de la población estudiada, así como los factores ambientales o del estilo de vida. Posteriormente, se aborda la modulación de adiponectina, leptina y AGNE según las características de la población y del estilo de vida. Finalmente, se trata cada uno de los genes analizados y las interacciones gen*ambiente y gen*gen obtenidas.

5.1 Discusión de las características generales de la población estudiada y de características relacionadas con el desarrollo de obesidad

En el presente trabajo se analizaron las características basales de los participantes del estudio PREDIMED reclutados en el nodo de Valencia. Estos participantes se caracterizan por presentar un elevado riesgo cardiovascular al tratarse de individuos de edad avanzada, bien diabéticos o con tres o más de los siguientes criterios: dislipemia, HTA, sobrepeso, antecedentes familiares de cardiopatía precoz o tabaquismo. Por ello, hemos de considerar que en esta población, la prevalencia de diabéticos, obesos, hipercolesterolémicos e hipertensos es elevada con respecto a población general (Lahoz C et al, 2007; Gabriel R et al, 2008; Bertomeu V et al, 2008).

Las enfermedades cardiovasculares son una de las principales causas de muerte en hombres y mujeres mayores de 65 años, por ello, su prevención es una de las prioridades en salud pública (Thom T et al, 2006). La hipercolesterolemia, asociada con unos niveles elevados de CT, es considerada uno de los factores implicados en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares (Grundy SM et al, 1999 (a), Grundy SM et al, 1999 (b)). En población española, se ha detectado que la concentración de CT incrementa con la edad, especialmente en mujeres. Además, se ha observado que tanto en la concentración de CT como en la prevalencia de hipercolesterolemia con la edad se invierten las diferencias entre sexos (Suárez C et al, 1998; Gabriel R et al, 2008). También se ha indicado que los niveles de CT aumentan hasta los 65 años aproximadamente, aunque, posteriormente estos niveles se estabilizan. En cambio, la concentración de c-HDL no incrementa con la edad, sin embargo, se observan mayores concentraciones en mujeres (Gabriel R et al, 2008). En el presente estudio se observaron diferencias en la prevalencia de hipercolesterolemia según el sexo, siendo más prevalente en mujeres. Además, las mujeres mostraron mayor concentración de CT, c-LDL, sin embargo, también presentaron mayores niveles de c-HDL.

Paralelamente, también se detectó mayor prevalencia de HTA en mujeres que en hombres, aunque los valores de PAS y PAD no mostraron diferencias estadísticamente significativas según el sexo. Estudio previos llevados a cabo con población española indicaron que la incidencia de HTA incrementaba con el avance de la edad, especialmente en mujeres (Belza MJ et al, 1997; Suárez C et al, 1998). De manera consistente, más recientemente se ha observado que la prevalencia de HTA según el sexo es similar en individuos con una edad entre 45-64 años, en cambio, se detecta una mayor prevalencia de HTA en mujeres respecto a los hombres en personas mayores de 65 años (Gabriel R et al, 2008).

En cambio, en la población estudiada la prevalencia de DMT2 fue mayor en hombres que en mujeres. Además, se observó mayor concentración de glucosa de manera estadísticamente significativa en hombres que en mujeres. Paralelamente con estos resultados, estudios realizados con población española también observaron en hombres mayor prevalencia de DMT2 y de niveles de glucosa alterados (Goday A, 2002; Gabriel R et al, 2008).

Por otro lado, en relación a los datos antropométricos en la población estudiada, las mujeres presentaron mayor IMC. En cambio, al analizar las prevalencias según el grado de obesidad, el sobrepeso fue más frecuente en hombre, pero las mujeres presentaron mayor prevalencia de obesidad. También se ha observado previamente en población española un incremento de la prevalencia de obesidad con la edad, acentuándose las diferencias según el sexo en individuos mayores de 65 años, siendo las mujeres las que mostraban mayor IMC y prevalencia de la obesidad (Gabriel R et al, 2008, Gutiérrez-Fisac JL et al, 2004). Además, en población del norte de España se ha observado como la prevalencia del sobrepeso es mayor en hombres en todas las edades, mientras que en mujeres a partir de los 65 años presentan mayor prevalencia de obesidad (Aguilera-Zubizarreta E et al, 2008). Aunque, a pesar de estas diferencias en la prevalencia de la obesidad, los hombres presentaron mayor perímetro de cintura que las mujeres. En este sentido, en otros estudios se ha mostrado que en hombres la grasa abdominal y el perímetro de cintura suele ser mayor que en mujeres (Carr MC et al, 2001).

Paralelamente, en la población estudiada la prevalencia entre obesos y no obesos fue similar, observando que los obesos presentan un perfil lipídico concordante con el descrito en la literatura caracterizado por menor concentración de c-HDL e hipertrigliceridemia (Franssen R et al, 2008). Además, los obesos mostraron mayor perímetro de la cintura asociado con un mayor riesgo aterogénico (Willett WC et al, 1995(b); Colditz GA et al, 1995), ligado con el perfil lipídico indicado, y mayores niveles de presión arterial tanto sistólica como diastólica. Diversos estudios han detectado una estrecha relación entre la obesidad y el incremento de la presión arterial (Hall JE et al, 2003; Poirier P et al, 2006), agudizándose este efecto cuando la obesidad es abdominal (Muller DC et al, 1993; Hayashi T et al, 2003).

Por otro lado, no se detectaron diferencias según el sexo en los niveles de marcadores de inflamación. Se ha observado que los marcadores de inflamación están relacionados con el IMC, el perímetro de la cintura y el índice cintura-cadera en ambos sexos (Panagiotakos DB et al, 2005(b)). Aunque, se ha sugerido que a pesar de observarse estas asociaciones en ambos sexos pueden ser más fuertes en mujeres (Thorand B et al, 2006(a)). La obesidad se ha asociado con una respuesta

inflamatoria crónica que da lugar a la inducción de varios marcadores biológicos de inflamación (Hotamisligil GS et al, 1993, Samad F et al, 1996, Samad F et al, 1997; Fried Sk et al, 1998; Bastard JP et al, 2002; Sartipy P et al, 2003). En concreto, los niveles de IL-6 se han mostrado más elevados en individuos con sobrepeso y obesidad, además se correlacionan con el IMC, el perímetro de la cintura y el índice cintura-cadera (Thorand B et al, 2006(b)). Respecto a la PCR se ha relacionado con el incremento de peso e IMC junto con otras medidas de adiposidad y con la resistencia a la insulina, considerándose un factor de riesgo cardiovascular independiente (Tchernof A et al, 2002; Garanty-Bogacka B et al, 2005). Además, tanto la obesidad como la resistencia a la insulina se han asociado con un aumento de la concentración de la concentración de otros marcadores de adhesión (ICAM-1 y VCAM-1) (Ziccardi P et al, 2002; Garanty-Bogacka B et al, 2005; Couillard C et al, 2005). Sin embargo, en el presente estudio no se detectaron diferencias en los niveles de marcadores de inflamación entre obesos y no obesos, esta falta de asociación puede ser debida al bajo número de muestras determinadas.

En relación al nivel de estudios, entre los participantes existe una mayor prevalencia de individuos con un bajo nivel de estudios, con diferencias según el sexo, siendo las mujeres las que presentan un menor nivel educativo, observándose igualmente esta tendencia en el estudio realizado por López-Suárez A et al (2008) llevado a cabo igualmente en población española de edad avanzada. En función de la obesidad, la mayoría de los estudios epidemiológicos sobre obesidad han observado una asociación inversa entre la obesidad y el nivel cultural (Aranceta-Bartrina J et al, 2005(a)), siendo concordante esta asociación con nuestros resultados, donde los obesos presentaron menor nivel educativo frente a los no obesos.

En referencia al hábito tabáquico, se ha indicado que el consumo de tabaco es más elevado en hombres que en mujeres, excepto en individuos adolescentes con edades comprendidas entre 16-24 años (Bellido Casado J et al, 2001; Fernández A et al, 2003; Gabriel R et al, 2008). En el presente estudio la prevalencia de individuos fumadores fue del 12,5%, frente a un 65,2% de individuos no fumadores entre los participantes incluidos. Además, se detectaron diferencias significativas en el hábito tabáquico según el sexo, siendo fumadores el 26,3% de los hombres y solo el 4,4% de las mujeres. Según la Encuesta Nacional de Salud de 2006, la prevalencia de fumadores con edades comprendidos entre 65-74 años, intervalo donde se encuentra la media de edad de la población estudiada, fue del 20,6% en hombres y del 4,5% en mujeres (Ministerio de Sanidad y Consumo, 2006), concordando con los resultados observados en esta población. También se ha observado que el consumo de tabaco disminuye con la edad (Gabriel R et al, 2008; Ministerio de Sanidad y Consumo, 2006), de hecho en nuestra población los fumadores son más jóvenes que los no fumadores. Además, en diversos estudios

entre los fumadores se ha detectado una menor prevalencia de individuos obesos (Koster A et al, 2007; Tyrovolas S et al, 2011; Escribano-García S et al, 2011), de manera paralela a la prevalencia observada en nuestro estudio (14,2% no obesos vs 10,9% obesos). El consumo de tabaco puede reducir la sensación de apetito (Filozof C et al, 2004), en cambio, los fumadores tienden a acumular otros hábitos, como una mala alimentación o una baja actividad física, que conducen a un incremento de peso (Chioloero A et al, 2006). De ahí que exista controversia en la relación entre el peso corporal y la cantidad de cigarrillos consumidos al día. Paralelamente, los individuos fumadores además de presentar menor IMC, también mostraron mayores niveles de PAD y TG y menores de c-HDL, con respecto a los no fumadores, detectándose estas mismas asociaciones en estudios previos (Lahoz C et al, 2007; Lavi S et al, 2007; Rahman MM et al, 2007).

Por otro lado, en la consideración de la realización de actividad física se ha de considerar que en adultos con edades comprendidas entre los 50-64 años que presentan diversas condiciones patológicas o en individuos mayores de 65 años, la intensidad de ejercicio recomendada para disminuir el riesgo de enfermedades crónicas, así como de eventos cardiovasculares o mortalidad es menor que la intensidad recomendada para adultos menores de 65 años que presentan un estado saludable (Nelson ME et al, 2007; Haskell WL et al, 2007). Por ello, la consideración de persona no sedentaria en este grupo de población varía respecto a la de población adulta menor de 65 años con un buen estado de salud. Así, considerando como sedentarismo el hecho de no cumplir con las recomendaciones de la *American College of Sport Medicine* y la AHA para individuos de avanzada edad (Nelson ME et al, 2007), en la población estudiada el 27,2% presentaban un estilo de vida sedentario. Además, en función del sexo se detectaron diferencias significativas, siendo las mujeres las que mostraron mayor prevalencia de individuos sedentarios frente a los hombres (30,6% vs 21,4%), diferencias también detectadas en estudios previos realizados en distintas poblaciones (Eaton CB et al, 1994; Domínguez-Berjón MF et al, 1998; Perula de Torres LA et al, 1998; Elizondo-Armendáriz JJ et al, 2005; US Department of Health and Human Services, 2010). El efecto beneficioso de la actividad física también se ha detectado en el presente estudio ya que los individuos no sedentarios presentaron menor IMC, perímetro de cintura, así como un menor riesgo de obesidad. Esta relación inversa con el riesgo de obesidad también ha sido detectado en población española con edad similar a la de la población analizada en este estudio (Cea-Calvo L et al, 2008). Paralelamente, los no sedentarios también mostraron un mejor perfil bioquímico con menor concentración plasmática de glucosa y de TG y mayores niveles de c-HDL, con respecto a los sedentarios. Consistente con estos resultados, estudios previos han detectado estas asociaciones respecto a los niveles de glucosa y otros parámetros relacionados con DMT2 (Thompson PD et al, 2001; Weinstein AR et al, 2004), así

como con la concentración de TG y c-HDL (Leon AS et al, 2000; Leon AS et al, 2001),

Con respecto a la adherencia a la DM, la mayor prevalencia de individuos obtuvieron una puntuación comprendida entre 7-9 puntos sobre un total de 14. La prevalencia de individuos que consumen una dieta con bajo grado de adherencia a la DM fue del 50%, ya que se realizó un punto de corte en la media del total de puntos obtenidos en el cuestionario de adherencia a la DM para clasificar a los participantes según una baja o alta adherencia a la DM. No se detectaron diferencias entre hombres y mujeres con respecto a la adherencia a la DM, en cambio, si se observó que los no obesos presentaban mayor grado de adherencia a la DM. Paralelamente, se detectó que los individuos con una alta adherencia a la DM presentaban menor IMC, perímetro de la cintura y un menor riesgo de obesidad. A pesar de existir resultados contradictorios en la literatura científica sobre el efecto de la DM sobre la obesidad, cada vez son más crecientes las investigaciones que avalan el beneficio de una alimentación tipo mediterránea sobre el sobrepeso y la obesidad (Schroder H et al, 2004; Shubair MM et al, 2005; Panagiotakos DB et al, 2006(b); Méndez MA et al, 2006; Panagiotakos DB et al, 2007(b)). Además, los individuos con alta adherencia a la DM también presentaron mayores niveles de c-HDL, resultados que también se han observado en estudios anteriores (Estruch R et al, 2006; Andreoli A et al, 2008).

Por todo lo indicado, los diferentes factores ambientales han mostrado una influencia en el riesgo de obesidad o parámetros antropométricos relacionados, así como en otros FRCV, principalmente en los niveles de c-HDL.

5.2. Discusión del perfil de adipocitoquinas y AGNE de la población estudiada y su asociación con obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular

Tanto la adiponectina como la leptina son adipocitoquinas envueltas en diversos procesos metabólicos. La leptina aumenta la oxidación de los AG en el músculo, regula la ingesta de carbohidratos, el balance energético y el peso corporal (Simpson KA et al, 2008). Por otro lado, la adiponectina aumenta la sensibilidad a la insulina (Lara-Castro C et al, 2006) y presenta propiedades antiinflamatorias y antiaterogénicas (Ajuwon KM et al, 2005). El envejecimiento está asociado con un aumento de la grasa corporal y los niveles de leptina, caracterizada por una asociación negativa con la adiponectina y la distribución de la grasa corporal (Tsuchida A et al, 2004).

Diversos estudios han observado la existencia de un dimorfismo sexual en la concentración de adiponectina y leptina, siendo las mujeres las que presentan niveles más elevados (Saad MF et al, 1997; Yamamoto Y et al, 2002, Chandran M et al, 2003; Pardo IM et al, 2004). Las diferencias de género en los niveles de adiponectina se han observado desde el inicio de la pubertad y parecen estar vinculadas con los niveles séricos de andrógenos (Bottner A et al, 2004). Además, la testosterona reduce selectivamente la adiponectina de elevado peso molecular al inhibir su secreción por parte de los adipocitos (Page ST et al, 2005; Seftel AD et al, 2005). También se ha observado que el descenso en los niveles de SHBG están relacionados con una disminución en la producción de adiponectina (Chu MC et al, 2006). En cambio, un estudio reciente ha indicado que las diferencias según el sexo en los niveles circulantes de adiponectina en adultos de edad avanzada no pueden ser explicadas por las variaciones de las hormonas sexuales (Laughlin GA et al, 2007). Respecto a las diferencias de concentración de leptina según el sexo se ha observado que la supresión de andrógenos aumenta los niveles de leptina en hombres sanos, independientemente de la grasa corporal (Elbers JM et al, 1997; Hislop MS et al, 1999). El hecho de que los niveles de leptina son siempre mayores en mujeres, incluso tras corregir por la grasa corporal, sugiere que la interacción entre el tejido adiposo y el sistema reproductivo es modulado por las hormonas sexuales de distinta manera en hombres y mujeres (Casabiell X et al, 2001). Estas observaciones son de gran importancia para la comprensión de las diferencias entre hombres y mujeres en la regulación de la ingesta energética, la ganancia de peso y la distribución de la grasa (Resmini E et al, 2008). En el presente estudio, las mujeres también han mostrado mayor concentración de ambas adipocitoquinas, así como mayores niveles de AGNE, resultados también observados en estudios previos (Carter SL et al, 2001; Steffensen CH et al, 2002; Moro C et al, 2007). En el estudio realizado por Horton TH et al (2009) se observó que las mujeres presentan una mayor sensibilidad lipolíticas a la acción de las catecolaminas permitiendo un incremento en la movilización de los lípidos, explicando estas diferencias en los niveles de AGNE según el género.

Al contrario que el resto de adipocitoquinas conocidas, la adiponectina se encuentra disminuida en pacientes obesos (Arita Y et al, 1999; Weyer C et al, 2001), mostrando una inversa relación con parámetros antropométricos relacionados con la obesidad (Marques-Vidal P et al, 2009; Chang LC et al, 2009). En este trabajo, los obesos presentaron menor concentración de adiponectina tras ajustar por sexo y edad. Paralelamente se detectó una asociación inversa con el peso y el perímetro de la cintura, manteniéndose en el caso de la cintura tras ajustar por sexo y edad. La adiponectina muestra una fuerte asociación inversa con la adiposidad abdominal, aunque no está claro el mecanismo metabólico se ha propuesto la implicación del TNF- α , dado que se correlaciona de manera inversa con la adiponectina y positivamente con el perímetro de la cintura (Lihn AS et al,

2005). En mujeres se detectó las diferencias en la concentración de adiponectina según la obesidad, además en mujeres la adiponectina se correlacionó de manera negativa con el perímetro de la cintura y el IMC. Milewicz A et al (2010) observó resultados similares en su estudio realizado en mujeres postmenopáusicas.

Así mismo, la adiponectinemia resultó más elevada en pacientes no diabéticos que en los diabéticos. Esta reducción de la concentración sérica de adiponectina en sujetos diabéticos ha sido ampliamente referida en estudios previos (Hotta K et al, 2000; Duntas LH et al, 2004; Matsuzawa Y et al, 2004). Li S et al (2009) realizaron un metanálisis de estudios prospectivos con una duración mínima de un año, los resultados mostraron que elevadas concentraciones de adiponectina se asocian con un menor riesgo de DMT2 en diversas poblaciones, con una relación dosis-respuesta. Estas asociaciones radican en el hecho de que la adiponectina juega un papel clave en el control de la homeostasis de la energía mediante la regulación de la glucosa y el metabolismo de los ácidos grasos en tejidos periféricos como el músculo y el hígado (Berg AH et al, 2002; Fu Y et al, 2005). En el presente estudio, según el sexo, la influencia de la DMT2 en la adiponectina fue observada de manera significativa en mujeres. Junto con estos resultados, la adiponectina mostró una asociación inversa con los niveles de glucosa, observándose en mujeres, así como en individuos con sobrepeso y obesidad. Estudios previos han sugerido que la asociación entre adiponectina y el riesgo de DMT2 es más fuerte en mujeres que en hombres (Snijder MB et al, 2006), y en obesos que en personas con normopeso (Wannamethee SG et al, 2007), siendo concordantes estas asociaciones con los resultados detectados.

Por otro lado, respecto al perfil lipídico la adiponectina se ha asociado de manera negativa con triglicéridos y positivamente con c-HDL. Estas asociaciones han sido ampliamente documentadas en la literatura científica (Yamamoto Y et al., 2002; Yang WS et al, 2002; Baratta R et al, 2004; Chang LC et al, 2009). Esto puede ser debido a que la adiponectina activa a los PPAR- α , hecho que podría explicar el nexo de unión entre la adiponectina y el aumento de los niveles de c-HDL (Côté M et al, 2005), ya que los PPAR- α estimulan la expresión de la Apo A1, la cual es la apolipoproteína que se une al HDL naciente. Ambas correlaciones se observaron en ambos sexos, en cambio, así como la asociación entre la adiponectina y c-HDL se mostró independientemente del grado de obesidad, los triglicéridos se asociaron únicamente en individuos con sobrepeso y obesidad. Concordantes con nuestros resultados son los observados por Kantartzis K et al (a)(2006) realizados en población caucásica, sugiriendo que los individuos obesos suelen presentar mayor concentración de grasa visceral asociada con un descenso en la concentración de adiponectina, lo que permitiría el devengo de un perfil metabólico más desfavorable.

En cambio, no se ha observado una asociación entre presión arterial y adiponectinemia, cuando otros estudios sí que han encontrado una correlación negativa entre ambas (Adamczak M, et al., 2003). Coincidentes con los resultados observados en este trabajo son los procedentes del estudio italiano realizado por Cesari y colaboradores (Cesari M, et al., 2006) en el que investigaron la asociación de los niveles de adiponectina plasmática con hipertensión arterial, resistencia a la insulina y enfermedades coronarias, en una población de 400 pacientes no diabéticos pero con alteraciones coronarias, sin obtener una clara relación entre los valores de adiponectina y presión arterial. En cambio, se ha observado que los individuos hipertensos presentaban mayores niveles de adiponectina, incluso tras ajustar por sexo, edad e IMC. Pero, al realizar el análisis estratificado por sexo no se encontró asociación entre adiponectina e hipertensión en ningún género. La asociación entre adiponectina e hipertensión ha sido analizada en diversos estudios obteniendo resultados contradictorios. Mallamaci F et al (2002) observó un incremento de la concentración plasmática de adiponectina en pacientes hipertensión que presentaban función renal alterada, pero en el trabajo realizado por Adamczak M et al (2003) los individuos hipertensos mostraron menor concentración de adiponectina. Por otro lado, Furuhashi M et al (2003) indicaron que solo individuos hipertensos con resistencia a la insulina muestran menores niveles de adiponectina. Aunque en estos estudios no se analizó la asociación entre adiponectina e hipertensión según el género.

Por otro lado, la leptina actúa como señal de saciedad regulando el apetito y el consumo energético (Margetic S et al, 2002). Sin embargo, los niveles de leptina circulante se encuentran elevados en personas obesas, sugiriendo la hipótesis de que estos pacientes pueden ser resistentes a la acción de la leptina (Caro JF et al, 1996). En el presente estudio los individuos obesos presentaron de manera significativa, incluso tras ajustar por factores de confusión, mayor concentración de leptina plasmática, observándose esta misma tendencia en ambos géneros. Paralelamente, la concentración de leptina mostró una fuerte asociación positiva con peso, IMC y perímetro de la cintura, manteniéndose incluso tras ajustar por sexo y edad, igualmente se detectaron estas asociaciones tanto en hombres como en mujeres. Similares asociaciones entre leptina y datos antropométricos relacionados con obesidad fueron observados, en un estudio comparativo entre indios asiáticos inmigrantes con caucásicos detectando estas asociaciones en ambos sexos en las 2 étnias (Smith J et al, 2006). En función del grado de obesidad, el perímetro de la cintura se correlacionó de manera positiva con la leptina tras ajustar por sexo y edad de manera indistinta del grado de obesidad, siendo más fuerte en individuos obesos. La resistencia a la acción de la leptina podría promover la obesidad a través de la reducción del gasto energético y una pérdida de la capacidad para disminuir la ingesta de alimentos (You T et al, 2008), agudizándose al presentar mayor grado de obesidad.

De manera paralela, a pesar de existir evidencia científica que sugiere que la leptina también puede interactuar directamente con la insulina en el metabolismo de la glucosa (Harris RB, 2000), existen resultados contradictorios sobre el efecto de los niveles de leptina circulante y el riesgo de DMT2 (Schmidt MI et al, 2006;; Wannamethee SG et al, 2007; Snijder MB et al, 2007; Ley SH et al, 2008; Welsh P et al, 2009). En el presente estudio, los individuos con DMT2 presentaron menor concentración de leptina, sin ser significativas estas diferencias al ajustar por factores de confusión. Tampoco se observó asociación en hombres o mujeres tras realizar los análisis estratificado por sexo. Similares a estos resultados son los observados por Lieb W et al (2009) en un estudio realizado también en individuos de edad avanzada, participantes del estudio Framingham, donde en el modelo no ajustado los individuos con DMT2 presentaban mayores niveles de leptina, pero tras ajustar por IMC las diferencias perdieron la significación. Los resultados de este estudio también muestran una débil correlación inversa entre leptina y glucosa, sin alcanzar la significación tras ajustar por sexo y edad. Además, en el análisis estratificado por sexo no se detectó asociación entre leptina y glucosa. En cambio, en función del grado de obesidad, solo en obesos la leptina mostró una correlación inversa con los niveles de glucosa. Diversos estudios han detectado esta asociación inversa entre leptina y glucosa (Moriya M et al, 1999; Gupta A et al, 2010). Paralelamente, Clement K et al (1997) detectaron en individuos con obesidad mórbida una asociación negativa entre leptina y glucosa. Gran parte de la asociación entre los niveles de leptina y el riesgo de DMT2 se podría explicar a través de su implicación en la obesidad y la resistencia a la insulina, sin embargo, dado estas asociaciones inversas son necesarios estudios prospectivos para dilucidar la relación entre leptina y DMT2.

En cambio, aunque los niveles de leptina no se diferenciaron entre hipercolesterolémicos y los que no presentaban esta patología, si se detectó una débil asociación con parámetros lipídicos. Cohen P et al (2004) propusieron que la leptina reprime específicamente el gen que codifica para la esteroil-Coa-desaturasa (SCD-1), una enzima implicada en el metabolismo de los triglicéridos y los c-HDL en el hígado, explicando la asociación entre leptina y el metabolismo del colesterol. En la población de estudio, la leptina se correlacionó de manera positiva con triglicéridos y c-HDL, aunque la asociación entre leptina y c-HDL pasó a ser inversa tras ajustar por sexo y edad, aunque estas asociaciones no se mantuvieron al incluir el IMC entre las variables de confusión. Esta misma tendencia se observó en mujeres, pero sin alcanzar la significación con los niveles de c-HDL, y perdiéndose la asociación con triglicéridos tras incluir nuevamente el IMC entre las variables de confusión. Además, en función de la obesidad los niveles de c-HDL se asocian con los de leptina en individuos con sobrepeso y obesidad, sin ser significativas tras ajustar por las variables de confusión. Diversos estudios han detectado de manera similar asociaciones débiles entre la leptina y

parámetros lipídicos, desapareciendo tras ajustar por IMC (Baratta R et al, 2004; Gannagé-Yared MH et al, 2006). Estos resultados indican la influencia de la adiposidad corporal en la asociación entre leptina y el metabolismo lipídico, aunque todavía no están claros los mecanismos reguladores.

Además, la leptina también se ha propuesto como uno de los posibles intermediarios que vinculan el tejido adiposo y el desarrollo de HTA (Jeppesen J et al 2010). Diversos estudios prospectivos han encontrado asociación entre los niveles de leptina y el desarrollo de HTA. Galleti F et al (2008) en un estudio realizado con 489 hombres normotensos, con una media de edad de 50 ± 7 años y con relativa elevada prevalencia de sobrepeso y obesidad, observaron que el incremento de los niveles de leptina respecto del inicio del estudio fueron asociados con un incremento del riesgo a desarrollar HTA independientemente de la edad, IMC, presión arterial o resistencia a la insulina. Por otro lado, Kramer CK et al (2010) realizaron un estudio con 612 individuos normotensos, con una media de edad de 66 ± 11 años pero con relativa baja prevalencia de sobrepeso y obesidad, observando que los niveles de leptina predecían la incidencia de HTA después de ajustar por edad, IMC, presión arterial, colesterol, fármacos y otras enfermedades cardiovasculares. En cambio, en el estudio realizado por Franks PW et al (2005), en el que incluyeron 748 individuos normotensos de edad media participantes del "Medical Research Council Ely Study", no encontraron asociación entre los niveles de leptina y la incidencia de hipertensión, siendo ajustados todos los resultados por IMC. En el presente estudio los individuos con HTA presentaron mayor concentración de leptina que los no hipertensos, manteniéndose significativas estas diferencias tras ajustar por sexo y edad, pero perdiéndose al añadir el IMC entre las variables de confusión. En el análisis estratificado por sexos esta tendencia se detectó solo en mujeres, donde se mantuvo significativa en ambos modelos de análisis ajustados. Paralelamente, en estudios previos se ha detectado asociación entre leptina y presión arterial solo en hombres (Masuo K et al, 2000; Takizawa H et al, 2001; Galleti F et al, 2008), otros solo en mujeres (Lindgarde F et al, 2001; Ma D et al, 2009), mientras que algunos autores han observado esta asociación en ambos sexos (Suter PM et al, 1998; Hu FB et al, 2001; Asferg C et al, 2010). Sin embargo, el mecanismo preciso que vincula la leptina y la HTA todavía no están concretados, por ello, los resultados deben ser interpretados con cautela. Estudios previos han mostrado que la leptina estimula el sistema renina-angiotensina (Snitker S et al, 1997; Karlson C et al, 1998) y el sistema simpático (Stenvinkel P, 2000), pudiendo afectar el nivel de presión arterial en los seres humanos (Khokhar KK et al, 2010). Por lo tanto, es posible que el efecto mitigado de la leptina predisponga a la hipertensión (Narkiewicz K et al, 1999; Hankinson AL, 2009). En este estudio, la leptina se correlacionó tanto con PAS como con PAD, alcanzando la significación solo con los niveles de PAD, manteniéndose tras ajustar por sexo y edad, aunque no fue significativa al incluir el IMC. Esta misma correlación se

detectó tanto en hombres como en mujeres. En cambio, en función de la obesidad, solo en individuos normopeso los niveles de leptina se asociaron de manera significativa con los de PAD, incluso tras ajustar por sexo y edad. En un estudio reciente realizado con participantes del NHANES III se observó la asociación entre leptina e hipertensión tanto en individuos con sobrepeso y obesidad como en normopeso, sugiriendo la participación de otros mecanismos de la obesidad, como la inflamación, como una posible explicación a esta asociación en normopesos (Shankar A et al, 2010).

Respecto a los ácidos grasos se ha observado que sus niveles circulantes son proporcionales al almacenamiento de grasa corporal (Arner P, 2001; Boden G et al, 2008). Estudios transversales han demostrado consistentemente una correlación positiva entre los niveles de AGNE y la obesidad (Arner P, 2001; Boden G et al, 2008). Concordantes con estos estudios son los observados en esta población de elevado riesgo cardiovascular, donde los individuos obesos presentaron mayor concentración de AGNE, siendo significativa esta asociación incluso tras ajustar por factores de confusión. Igualmente, se detectaron estas diferencias tanto en hombres como en mujeres, conservando también la significación en ambos sexos al ajustar por edad. Paralelo a estos resultados, los niveles de AGNE se correlacionaron de manera positiva con el peso, el IMC y el perímetro de la cintura, manteniendo la significación al ajustar por sexo y edad. También se detectaron estas correlaciones en ambos sexos, incluso tras ajustar por edad en mujeres. En función de la obesidad, se observó que solo en obesos el perímetro de la cintura se correlacionó de manera significativa con los niveles de AGNE, mostrando la vinculación entre los niveles de AGNE y la obesidad. Los niveles plasmáticos de AGNE son generalmente elevados en individuos obesos debido al aumento del tejido adiposo, que conlleva un aumento de la liberación de AGNE, además, este hecho inhibe a su vez la acción anti-lipolítica de la insulina, produciendo un mayor incremento de la tasa de liberación de AGNE a la circulación (Boden G et al, 2008).

Además, el aumento de AGNE en la obesidad puede proporcionar un vínculo entre el aumento de masas grasa y el desarrollo de resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa y disfunción de las células β pancreáticas, promoviendo la aparición de DMT2 (Pankow JS et al, 2004). Diversos estudios prospectivos han detectado un incremento en la intolerancia a la glucosa y/o DMT2 en individuos con niveles elevados de AGNE en ayunas, aplicando modelos ajustados por diferentes variables metabólicas (Charles MA et al, 1997; Pankow JS et al, 2004). Recientemente, Il'yasova D et al (2010) en su trabajo realizado con una cohorte de 1625 individuos americanos entre 40 y 69 años participantes del estudio IRAS, observaron que tras ajustar por variables demográficas los niveles de AGNE se asociaban con mayor riesgo de DMT2, sin alcanzar la significación. En cambio, al

incluir entre las variables confusoras el resultado del test de tolerancia a la glucosa observaron una asociación inversa entre los niveles de AGNE y el riesgo de DMT2. En el presente estudio, los niveles de AGNE fueron significativamente más elevados en individuos con DMT2, manteniéndose esta asociación tras ajustar por sexo y edad, y tras incluir el IMC entre las variables de confusión. Estas diferencias también se detectaron tras estratificar por sexo. Además, los AGNE mostraron una fuerte correlación con los niveles de glucosa, manteniéndose en los modelos ajustados por variables confusoras, detectándose igualmente esta asociación independientemente del sexo o del grado de obesidad, aunque alcanzando mayor significación en individuos con sobrepeso y obesidad. Nuestros resultados apoyan los resultados obtenidos en estudios previos donde se avala la influencia de los niveles de AGNE circulantes en el riesgo a desarrollar DMT2, siendo esta asociación más fuerte al aumentar el grado de obesidad, en esta población de elevado riesgo cardiovascular.

Paralelamente, se ha observado que el incremento de AGNE circulantes puede incrementar la disponibilidad intracelular de triglicéridos y estimular la secreción de partículas VLDL (Lapointe A et al, 2009). En este trabajo, los AGNE también mostraron una correlación positiva con los niveles de colesterol y triglicéridos, siendo significativa tras ajustar por sexo y edad, como al incluir el IMC. También se detectó una asociación inversa entre los niveles de AGNE y c-HDL, conservando la significación solo en el modelo ajustado por sexo y edad. Estas correlaciones fueron detectadas igualmente en hombres y mujeres, salvo que la asociación inversa entre c-HDL y AGNE solo alcanzó la significación en mujeres, conservándose al ajustar por edad. En cambio, la relación entre los niveles de AGNE y parámetros lipídicos fue más dependiente del grado de obesidad, ya que solo los individuos con sobrepeso y obesidad mostraron la asociación entre AGNE y triglicéridos incluso al ajustar por sexo y edad. Los niveles de colesterol se asociaron con los de AGNE solo en obesos, conservando también la significación al ajustar por sexo y edad. Los niveles de c-HDL no se asociaron con los de AGNE al estratificar según el grado de obesidad. La asociación entre los niveles de AGNE y triglicéridos ha sido detectada en diversos estudios (Charles MA et al, 1997; Pirro M et al, 2002, Pankow JS et al, 2004). Puesto que la grasa visceral presenta mayor acción lipolítica, el incremento de estos depósitos de grasa puede estar asociado con un incremento de AGNE. Además, el aumento de grasa visceral esta relacionado con un deterioro del perfil metabólico, con incremento de los niveles de triglicéridos y descenso de los de c-HDL (Piche ME et al, 2005), cuyo nexo de unión podría ser el incremento de los niveles de AGNE (Lapointe A et al, 2009), concordando con las correlaciones detectadas en este estudio, dado que solo en individuos obesos también se detectó una correlación entre el perímetro de la cintura y los niveles de AGNE, pudiendo estar vinculado con la asociación entre los niveles de AGNE y los parámetros lipídicos.

Además, la resistencia a la insulina por los ácidos grasos libres también reduce la producción endotelial de NO a través de la activación de la PKC dependiente de la activación de la NADPH-oxidasa, la deficiencia de NO disminuye la vasodilatación promoviendo el riesgo de hipertensión (Boden G, 2008). Diversos estudios han mostrado que un incremento en los niveles de AGNE conduce al aumento de presión arterial (Steinberg HO et al, 2000; Stojiljkovic MP et al, 2001; Lopes HF et al, 2003). En cambio, en este estudio no se observaron diferencias en los niveles de AGNE entre individuos hipertensos y los que no presentaban esta patología. Tampoco se observaron diferencias al realizar el análisis estratificado por sexo. Aunque si se detectó que los niveles de AGNE mostraban una débil asociación tanto con PAS como con PAD, manteniéndose tras ajustar por sexo y edad, pero sin ser significativa al incluir el IMC entre las variables de confusión. Estas asociaciones entre PAS y PAD con los niveles de AGNE se detectaron en hombres, aunque no mantuvieron la significación tras ajustar por factores de confusión. Sin embargo, no se detectaron diferencias al estratificar según el grado de obesidad. Paralelamente a nuestros resultados, en los estudios realizados *in vivo* por Steinberg HO et al (1997) y por de Kreutzenberg SV et al (2000) observaron que tras una inyección de una dosis de lípidos y heparina se produce un incremento en los niveles de AGNE con pequeños cambios en los niveles de presión arterial, sin alcanzar la significación. Puesto que uno de los mecanismos que vinculan el incremento de AGNE con el aumento de presión arterial podría ser el incremento del estrés oxidativo, se ha sugerido que el consumo elevado de antioxidantes podría reducir el incremento de presión arterial (Egan BM et al, 2001). Esta relación podría explicar la falta de asociación entre AGNE y presión arterial en los estudios previamente citados (Sarafidis PA et al, 2007), puesto que en ambos casos los participantes seguían una dieta equilibrada previamente a las determinaciones. En el presente estudio al tratarse de población mediterránea con una adherencia de 9 sobre 14 puntos a la dieta mediterránea, rica en antioxidantes, podría explicar la falta de asociación entre AGNE y presión arterial en este estudio, aunque no se detectó diferencias en la concentración de AGNE entre individuos con baja y alta adherencia, por lo que son precisos más estudios que indiquen el mecanismo directo de conexión entre el estrés oxidativo y el desarrollo de HTA asociado con los niveles de AGNE.

Por otro lado, la concentración de ambas adipocitoquinas y de AGNE son dependientes de la cantidad de tejido adiposo que presente el individuo, aunque sus niveles circulantes en plasma se asocian de manera distinta con parámetros antropométricos y bioquímicos, como se han indicado anteriormente. En el estudio realizado por Kissebah AH et al (2000) para la identificación de regiones del genoma vinculadas con el desarrollo de fenotipos característicos del síndrome metabólico reveló que tanto la región cromosómica 3q27, donde está localizado el gen que codifica para la adiponectina (Takahashi M et al, 2000), como la región

17p12, la cual esta fuertemente asociada con la concentración de leptina en plasma, están vinculadas con la manifestación del síndrome metabólico. Por ello, diversos estudios han analizado la relación existente entre ambas adipocitoquinas. Matsubara M et al (2002) realizaron un estudio transversal con 353 mujeres no diabéticas con un amplio rango de valores de IMC detectando una correlación inversa entre adiponectina y leptina, siendo más fuerte esta correlación tras ajustar por IMC. En cambio, Matsuda Y et al (2005) en otro estudio transversal realizado con individuos japoneses no diabéticos menores de 70 años, la correlación entre adiponectina y leptina no alcanzó la significación, pero al realizar los análisis estratificado por sexo, en hombres se observó una asociación inversa entre ambas adipocitoquinas, sin alcanzar la significación en mujeres. En el presente trabajo, la adiponectina se asoció con la leptina, aunque esta asociación perdió la significación al ajustar por factores de confusión. Tampoco se detectó asociación entre ambas adipocitoquinas ni al estratificar por sexo, ni en función de la obesidad. La hiperleptinemia o la resistencia a la leptina puede contribuir al descenso de la producción de adiponectina en el tejido adiposo, aunque son necesarios estudios que ayuden a clarificar este mecanismo y los distintos factores implicados (Matsubara M et al, 2002), dado que esta asociación no esta fuertemente consolidada en todos los estudios.

Además, la adiponectina aumenta la expresión génica de sustancias relacionadas con el metabolismo de las grasas, como el CD36, la Acil-CoA-oxidasa y la UCP-2 en el músculo, por ello causa la disminución de triglicéridos y el contenido de ácidos grasos libres (Yamauchi T et al, 2001; Fruebis J et al, 2001). En esta población de elevado riesgo cardiovascular la adiponectina se asoció débilmente y de manera inversa con los niveles de AGNE tras ajustar por sexo y edad, quedándose en el límite al incluir el IMC entre las variables de confusión. Esta asociación se detectó de manera similar en mujeres. En cambio, en función del grado de obesidad, aunque se observó una correlación inversa no se alcanzó la significación en ninguno de los grupos de individuos según su rango de IMC. Carpentier AC et al (2010) en su estudio realizado con individuos caucásicos con sobrepeso y obesidad no encontraron asociación entre adiponectina total o de elevado peso molecular e intolerancia a los AGNE. Sin embargo, Lavoie F et al (2009) observaron una asociación inversa entre los niveles circulantes de adiponectina y los de AGNE tras una inyección de heparina más lípidos en hombres sanos, sugiriendo que esta asociación podría depender del efecto del incremento de la masa grasa. Aunque en el presente estudio no se encontró asociación entre adiponectina y AGNE ni en normopeso, ni en individuos con sobrepeso, ni en obesos, por lo que son necesarios estudios con mayor tamaño poblacional que muestren la asociación entre ambos parámetros.

Paralelamente, Abate N et al (2004) en un estudio comparativo de los niveles de adiponectina, leptina y AGNE entre indios asiáticos con caucásicos detectaron una asociación positiva entre leptina y AGNE. En este trabajo también se ha observado una asociación positiva entre los niveles de leptina y los de AGNE, incluso tras ajustar por sexo y edad y quedándose en el límite al incluir el IMC entre las variables de confusión. Igualmente, esta asociación se detectó tanto en hombres como en mujeres, sin alcanzar tampoco la significación en ningún sexo en el modelo ajustado que incluía el IMC. En cambio, en función del grado de obesidad, esta asociación se mostró más fuerte y significativa solo en individuos obesos, indicando la influencia del peso en esta asociación. En individuos no obesos la leptina mejora la sensibilidad a la insulina mediante la reducción de los niveles de lípidos en células del músculo esquelético, del hígado y pancreáticas (Ronti T et al, 2006). Esto es debido a que la leptina estimula la oxidación de los ácidos grasos a través de la AMPK (Minokoshi Y et al, 2004). Sin embargo, en individuos obesos el aumento de la concentración plasmática de leptina esta asociado a una resistencia a la misma, la cual se ha asociado con la resistencia a la insulina relacionada con la obesidad, cuyo vínculo puede ser el efecto periférico de la leptina en el metabolismo de los ácidos grasos (Abate N et al, 2004).

En conclusión, los niveles de adiponectina se han correlacionado con un perfil antropométrico y metabólico más favorable. En cambio, el aumento de los niveles de leptina y AGNE se han asociado con un incremento en los niveles de parámetros relacionados con un mayor riesgo cardiovascular, entre los que destacan el IMC, el perímetro de la cintura y el incremento de la concentración de triglicéridos en ambos casos, detectándose una asociación más fuerte entre estos parámetros al incrementar el grado de obesidad de los individuos. En consecuencia, las adipocitoquinas y los niveles de AGNE podrían proporcionar una diana terapéutica dada sus asociaciones con distintos parámetros de riesgo cardiovascular, por lo que el desarrollo de investigaciones en este campo podrían permitir el desarrollo de estrategias para mejorar el impacto de estos factores.

5.3 Discusión de la asociación entre factores ambientales con los niveles de adipocitoquinas y de AGNE en la población estudiada

Los niveles de adipocitoquinas y ácidos grasos están modulados por la cantidad y distribución de tejido adiposo, aunque factores ambientales inciden en la regulación de las adipocitoquinas y en la regulación del metabolismo de los ácidos grasos.

Entre los distintos factores ambientales, el consumo de tabaco tiene un gran impacto en la salud pública, estableciéndose como un factor de riesgo para las enfermedades cardiovasculares, y el cese del consumo de tabaco es una de las estrategias para la prevención de la enfermedad coronaria (Iwashima Y et al, 2005). Sin embargo, fumar y especialmente el componente principal del tabaco, la nicotina, pueden disminuir el apetito y prevenir el aumento de peso, mientras que dejar de fumar, a menudo, induce hiperfagia e incremento del peso (Miyata G et al, 1999). Además, el gasto energético es mayor entre los fumadores (Hofstetter A et al, 1986). En cambio, el consumo de tabaco y su cese altera el metabolismo lipídico (Hellerstein MK et al, 1994), disminuyendo, entre otros aspectos, los niveles de c-HDL como se ha observado en esta población. Además, fumar estimula la lipólisis *in vivo*, este efecto se ha atribuido a la nicotina la cual está involucrada en la liberación de catecolaminas. La nicotina también tiene un efecto directo sobre el tejido adiposo (Chajek-Shaul T et al, 1994; Andersson k et al, 2001). El consumo de tabaco puede influir en las citoquinas, ya que causa un aumento en plasma de moléculas de adhesión intercelular-1 (ICAM) (Blann AD et al, 1997) y una disminución de los niveles de adiponectina (Iwashima Y et al, 2005; Matsuzawa Y, 2006), lo que induciría disfunción endotelial. Tanto el peróxido de hidrógeno y la nicotina suprimen la expresión de adiponectina en los adipocitos (Iwashima Y et al, 2005). Además, fumar puede regular la concentración de adiponectina a través de la lipólisis (Iwashima Y et al, 2005), así como incrementar la concentración plasmática de ácidos grasos libres y de catecolaminas (Grassi G et al, 2000), estas últimas pueden inhibir la expresión y secreción de leptina (Carulli L et al, 1999).

En este trabajo se ha observado que los individuos que no han fumado nunca presentan mayores niveles de adiponectina, leptina e incluso de AGNE, en cambio estas diferencias se pierden al ajustar por factores de confusión. En el análisis estratificado por sexo, en hombres, ya que son los que presentan mayor prevalencia de fumadores (26,3% en hombres y 4,4% en mujeres), los niveles de adiponectina y leptina fueron mayores entre los individuos que no habían fumado nunca, aunque sin detectarse una tendencia en la concentración de leptina desde los nunca fumadores a los ex-fumadores y fumadores, y sin observarse diferencias significativas en la concentración de AGNE según el hábito tabáquico. Miyazaki T et al (2003) analizó la relación entre el consumo de tabaco y la adiponectina en individuos con enfermedad coronaria, detectando un descenso en la concentración de adiponectina entre los fumadores, aunque esta relación fue evaluada sin ajustar por factores de confusión y sin considerar las diferencias de adiponectina según el sexo. Posteriormente, Iwashima Y et al (2005) en un estudio realizado con 331 hombres, observó, de manera similar a los resultados de este estudio, un descenso en la concentración de adiponectina desde los nunca fumadores, a los ex-fumadores y hasta los fumadores en el momento del estudio. Abbasi F et al (2006) observó

que la concentración de adiponectina era inferior en individuos fumadores, independientemente del efecto del género o el IMC e incluso de la resistencia a la insulina. Por otro lado, en el estudio realizado por Reseland JE et al (2005) los fumadores tenían niveles más bajos de leptina en comparación con los no fumadores, detectando un descenso significativo en la concentración de leptina incluso tras fumar un solo cigarillo. En cambio, diferentes ensayos clínicos han obtenido resultados conflictivos al analizar el efecto del consumo de tabaco y de la nicotina en los niveles plasmáticos de leptina (Hodge AM et al, 1997(b); Eliasson B et al, 1999; Perkins KA et al, 2002; Klein LC et al, 2004), proponiendo Reseland y colaboradores que esta falta de concordancia puede ser debida a diferencias en el diseño del estudio, la población, la duración del mismo, la dosis o la vía de administración. Respecto a los niveles de AGNE según el consumo de tabaco, estudios previos no han detectado diferencias en la concentración de los mismos según el hábito tabáquico, indicando que las diferencias observadas puede que no sean debidas directamente del consumo de tabaco (Carlsson M et al, 2000).

La realización de ejercicio físico ejerce un papel protector frente a enfermedades cardiovasculares y metabólicas dado que puede modular directa o indirectamente los niveles circulantes de adipocitoquinas al inducir cambios metabólicos y endocrinos (Burlison MA et al, 1998) y modula el flujo de energía (Tesch PA et al, 1998). En esta población de elevado riesgo cardiovascular no se observaron diferencias en los niveles de adiponectina entre individuos sedentarios y no sedentarios, en cambio, los no sedentarios mostraron menor concentración de leptina frente a los sedentarios, sin mantener la significación tras ajustar por factores de confusión. En un estudio previo realizado en individuos de edad avanzada, inactivos y con sobrepeso para evaluar la respuesta en los niveles de adiponectina y leptina tras un periodo de realización de ejercicios de distinta intensidad, observaron que los niveles de leptina disminuían en todos los tipos de entrenamiento, independientemente de su intensidad, mientras que los niveles de adiponectina incrementaban, aunque solo en aquellos que realizaron un entrenamiento de alta intensidad, estando asociadas estas variaciones en la concentración de ambas adipocitoquinas con la variación de IMC (Fatouros IG et al, 2005). Además, en el presente trabajo, al realizar los análisis en función de la obesidad, se observó que en individuos no obesos un estilo de vida sedentario no influye en la concentración de leptina, en cambio, entre los obesos los individuos sedentarios presentaron mayores niveles de leptina frente a los no sedentarios, aunque sin alcanzar la significación al ajustar por factores de confusión. Paralelo con nuestros resultados, Polak J et al (2006) en un estudio realizado en mujeres obesas sedentarias premenopausicas se observó que tras un programa de 12 semanas con realización de ejercicios aeróbicos se producía una disminución en los niveles de leptina, sin producirse cambios en los niveles de adiponectina, IL-6 o TNF- α . En cambio, en un estudio transversal realizado con 3289 individuos donde

el nivel de actividad física fue evaluado mediante cuestionario, la realización de ejercicio físico se asoció con un mejor perfil de factores inflamatorios y de adipocitoquinas, con un descenso en los niveles de proteína C reactiva y un incremento de adiponectina al aumentar el nivel de actividad física (Yu Z et al, 2009).

Por otro lado, los individuos que realizan ejercicio físico tienen mayor capacidad para movilizar y almacenar AGNE (Romijn JA et al, 1993). El ejercicio aumenta la capacidad del músculo para extraer AGNE de la sangre y oxidarlos (Wasserman DH et al, 1996). En este trabajo los individuos sedentarios presentaron mayores niveles plasmáticos que los no sedentarios, manteniéndose la significación tras ajustar por sexo y edad, pero sin ser significativa al incluir el IMC entre las variables de confusión. En función de la obesidad, se observó que un estilo de vida sedentario influyó en los niveles de AGNE entre los no obesos sin detectarse diferencias entre los obesos. Concordante con nuestros resultados son los observados en un estudio realizado para determinar el efecto del ejercicio de resistencia sobre el gasto energético y la regulación de la lipólisis, donde incluyeron hombres sedentarios tanto delgados como obesos, observando que tras 50 minutos de realización de ejercicios los niveles de AGNE disminuyeron solo en los individuos delgados sin detectarse diferencias entre los obesos (Ormsbee MJ et al, 2009).

Además, un patrón alimenticio característico de la DM también se ha asociado con variaciones en los niveles de adipocitoquinas y AGNE. En este sentido, se ha observado que el seguimiento de una dieta tipo mediterránea combinada con la realización de ejercicio incrementa los niveles de adiponectina en mujeres obesas postmenopáusicas, incluso tras ajustar por el descenso de peso (Esposito K et al, 2003(a)). Igualmente, en un estudio realizado con mujeres diabéticas la adherencia a la DM se asoció positivamente con los niveles de adiponectina (Mantzoros CS et al, 2006). Esta misma asociación se observó en un estudio reciente realizado en población sana, con independencia de características antropométricas, clínicas o del estilo de vida (Fragopoulou E et al, 2010). Estos datos apoyan la idea de que seguir una dieta tipo mediterránea puede incrementar la concentración de adiponectina, la cual puede actuar como potencial mediador de los efectos beneficiosos de esta dieta sobre la morbilidad y la mortalidad (Trichopoulou A et al, 2003; Trichopoulou A et al, 2005(b)). Junto con la modulación de los niveles de adiponectina, también se ha detectado que tras tres meses de seguimiento de un estilo de vida basado en una dieta tipo mediterránea y ejercicio se produjo un descenso entre el 10 y el 14% de los niveles de leptina en individuos obesos no diabéticos (de Luis DA et al, 2007). Hermsdorff HH et al (2009) observó que el seguimiento de una dieta hipocalórica basada en un patrón de DM durante 8 semanas redujo la concentración de leptina un 14%.

La DM es caracterizada por un patrón específico de ácidos grasos, con un consumo reducido de AGS y un alto contenido de AGM, puesto que su fuente principal de grasa es el aceite de oliva (Perez-Jimenez F et al, 2005; Mackenback JP, 2007). En este sentido, estudios realizados con hombres sanos observaron un descenso en la concentración de AGNE en el periodo postprandial tras una ingesta de alimento con gran contenido de AGM (Roche HM et al, 1998; Jackson KG et al, 1999). Sin embargo, otros estudios no encontraron cambios en la concentración de AGNE tras el consumo de alimentos ricos en AGS o AGM (Koutsari C et al, 2004; Bysted A et al, 2005) o tras un periodo de intervención dietética (Rivellesse AA et al, 2008).

En este estudio transversal realizado en individuos de elevado riesgo cardiovascular, en función de su grado de adherencia a la DM solo los niveles de leptina fueron disminuidas con una mayor adherencia, aunque sin alcanzar la significación, sin detectarse un impacto de la adherencia a la DM sobre los niveles de adiponectina y AGNE en esta población de edad avanzada con riesgo cardiovascular.

Posteriormente, al analizar el efecto de los distintos componentes característico de la dieta mediterránea sobre la concentración de adipocitoquinas y AGNE se ha observado que el consumo de legumbres disminuye la concentración de leptina plasmática, manteniendo la significación tras ajustar por sexo y edad, pero al incluir el IMC entre las variables de confusión se pierde la significación. Sin embargo, no se detectaron diferencias en la concentración de adiponectina o AGNE según el consumo de legumbres. Estudios previos también han observado una relación inversa entre la concentración de leptina y el consumo de legumbres (Murakami K. et al, 2007; Zhang Z et al, 2011). En este sentido, Murakami K et al (2007) detectó un descenso en la concentración de leptina al aumentar la frecuencia de consumo del grupo que incluía legumbres y frutos secos, como también encontraron diferencias según el consumo de verduras, independientemente de potenciales factores de confusión incluido el IMC. En el presente estudio, también el consumo de frutos secos se relacionó con una disminución de la concentración de leptina, aunque estas diferencias no se mantuvieron al incluir el IMC entre los factores de confusión. Murakami K et al (2007) indicó que el alto contenido en fibra de estos alimentos podría ser el macronutriente responsable de esta inversa relación, ya que la asociación entre leptina y el consumo de legumbres y verduras desaparece al ajustar por la ingesta de fibra. Estos autores indican que a pesar de no conocerse si los factores alimenticios influyen directa o indirectamente en los niveles circulantes de leptina, una posibilidad podría ser debida a un descenso en la producción de leptina asociada con el consumo de fibra, verduras o legumbres, también podría ser debido a un aumento de la sensibilidad de la misma, lo que a su vez puede estar

relacionado con una disminución en su producción. En un estudio más reciente también se observó que la fibra es el único nutriente que mostró una consistente relación inversa con la leptina en ambos sexos (Nakamura Y. et al, 2010), sin embargo esta asociación no se mostró independiente del IMC, de manera similar a los resultados obtenidos en el presente estudio.

Por otro lado, otros estudios también han observado que el consumo de cereales (Qi L et al, 2005(b)), como también los cereales integrales y los productos lácteos bajos en grasa se asocian con un incremento de adiponectina (YannaKouli M. et al, 2008). Además, se ha sugerido que la asociación entre la concentración de adiponectina y el seguimiento de un patrón alimenticio tipo mediterráneo puede atribuirse al consumo de frutos secos y cereales integrales (Mantzoros CS et al, 2006). Ambos alimentos son una fuente de fibra que también se han asociado con beneficios en el perfil metabólico y con mayor riesgo cardiovascular (McKeown NM et al, 2002; McKeown NM et al 2004; Qi L et al, 2005(a)). Sin embargo, la asociación entre el patrón dietético y la concentración de adiponectina no puede ser atribuido únicamente al consumo de fibra. Los frutos secos también son ricos en AGP y AGM, como también poseen vitamina E y polifenoles antioxidantes, fitoesteroles y otros compuestos fitoquímicos (Kris-Etherton PM et al, 1999; Sabaté J et al 2006; Salas-Salvado J et al, 2006). Por otro lado, los cereales integrales además de fibra, contienen minerales (magnesio, potasio, zinc, hierro, selenio), vitaminas del complejo B y vitamina E, compuestos fenólicos y fitoestrógenos (Yannakouli M et al, 2008). Además Mantzoros O et al (2006) observó que la asociación entre adiponectina y el patrón alimenticio se mantenía tras ajustar por el contenido de fibra procedente del consumo de cereales, vegetales y fruta. Por ello sus efectos beneficiosos sobre la salud se han atribuido a las funciones biológicas de uno o más de estos compuestos (YannaKouli M et al, 2008).

En el presente estudio, aunque no se detectaron diferencias según el consumo de frutos secos, se observó que los individuos que presentaban un mayor consumo de fruta a la semana poseen mayor concentración de adiponectina plasmática, incluso tras ajustar por factores de confusión. Mantzoros CS et al (2006) también encontró asociaciones entre adiponectina y el consumo de frutas, aunque no se mantuvo la significación tras ajustar por múltiples factores de confusión. Las frutas, así como los vegetales, poseen fibra, potasio, magnesio, proteínas vegetales y otros compuestos con capacidad antioxidante, cuyo consumo se ha relacionado con una reducción de marcadores de inflamación y de estrés oxidativo (Esposito K et al, 2003(b); Natal B et al 2005; Crujeiras AB et al, 2006; Hermsdorff HH et al 2010). Así, en el presente estudio el consumo de frutas se asocia con mayor concentración de adiponectina, la cual se ha propuesto que posee propiedades

antiinflamatorias y antiaterogénicas (Ouchi N et al,1999; Ouchi N et al 2000; Yokota T et al, 2000, Okamoto Y et al, 2000).

Por otro lado, se ha detectado en esta población de elevado riesgo cardiovascular un descenso en la concentración de AGNE con el incremento de consumo de verduras y frutos secos. En este sentido, en un estudio realizado con individuos centenarios sanos con un elevado consumo de verduras se observó que presentaban menor concentración en suero de ácidos grasos libres en comparación con individuos de otras edades (Paolisso G et al, 1998). Más recientemente, se ha observado que una dieta con alta capacidad antioxidante se asocia de manera inversa con la concentración de ácidos grasos libres (Puchan B et al, 2010). También, se ha indicado que la fermentación en el intestino de la fibra insoluble produce una disminución de la lipólisis en el tejido adiposo, lo que reduce los niveles circulantes de AGNE (Marinangeli CP et al, 2010). Además, un suplemento de magnesio en la comida se ha asociado con un descenso en la concentración de AGNE tras 2 horas de la ingesta, sugiriendo que el suplemento de magnesio puede afectar a la absorción de las grasas (Kishimoto Y et al 2010). De manera que los compuestos antioxidantes, la fibra y el magnesio se encuentran presentes en los frutos secos y las verduras con las que se ha asociado con una reducción de los AGNE plasmáticos en el presente estudio.

Por otro lado, diversos estudios epidemiológicos han sugerido que el consumo moderado de alcohol proporciona una mayor supervivencia y menor riesgo de eventos cardiovasculares frente a individuos abstemios, sugiriendo también que, entre las diferentes bebidas, es el vino el que ejerce mayor protección contra la enfermedad coronaria en comparación con el licor o la cerveza (Estruch R et al, 2010). Entre los efectos beneficiosos de la ingesta de bebidas alcohólicas fermentadas contra la aterosclerosis parte se han atribuido a sus efectos antioxidantes y antiinflamatorios (Estruch R et al, 2004; Estruch R et al, 2011) así como sus acciones sobre la función vascular (Estruch R et al, 2010). En el presente estudio, la concentración de leptina y AGNE disminuye con el incremento de consumo de vino, incluso tras ajustar por factores de confusión en el caso de la concentración de AGNE. A pesar de que se han observado discrepancia sobre el efecto a largo plazo del consumo de alcohol sobre la leptina (Nicolás JM et al, 2001; Roth MJ et al, 2003; Calissendorff J et al, 2004), diversos estudios han detectado un descenso en la concentración de leptina con el consumo moderado de alcohol (Raben A et al, 2003; Nakamura Y et al, 2010; Mayer O et al, 2010). Sin embargo Nakamura Y et al (2010) indicó que la asociación entre ambos parámetros se mostró dependiente del IMC en mujeres, estando en concordancia estos resultados con los de este estudio ya que se pierde la asociación tras ajustar por factores de confusión, incluidos el sexo y el IMC. Por ello sería interesante que otros estudios analizaran el efecto del consumo del alcohol sobre la leptina, así

como la influencia de diversos factores de confusión en la modulación de esta relación. Respecto a la influencia en la concentración de los AGNE, aunque se ha observado que el consumo de pequeñas cantidades de alcohol (15-25g) no muestra un efecto en la concentración de AGNE ni en individuos sanos (Raben A et al, 2003) ni en individuos con diabetes (Christiansen C et al, 1994), ni en individuos con resistencia a la insulina, aunque se observó un descenso en la concentración de AGNE tras el consumo de alcohol en individuos con sensibilidad a la insulina (Greenfield JR et al, 2005). Sin embargo la ingesta de mayores cantidades (35-50 g) han mostrado una reducción en los niveles postprandiales de AGNE (Fielding BA et al, 2000; Suter PM et al, 2001).

En conclusión, en esta población de elevado riesgo cardiovascular se ha observado que factores ambientales como el consumo de tabaco, la actividad física y distintos alimentos característicos de la DM influyen en la modulación de la concentración de adiponectina, leptina y AGNE. En concreto, el consumo de tabaco se ha asociado con un descenso de la concentración de adiponectina en hombres. Además un estilo de vida sedentario se ha relacionado con un incremento en la concentración de AGNE, siendo este efecto más influyente en individuos no obesos. En cambio entre los obesos un estilo de vida sedentario se asoció con mayor concentración de leptina. Según la adherencia a la DM no se han encontrado diferencias en la concentración de estos parámetros, en cambio, la frecuencia de consumo de diversos alimentos característicos de la misma han mostrado una modulación en la concentración de adiponectina y AGNE, aunque en el caso de la leptina, el efecto del consumo de ciertos alimentos sobre su concentración se ha mostrado dependiente principalmente de la influencia del IMC. Con ello, un estilo de vida más saludable favorece la regulación en la concentración de adiponectina, leptina y AGNE.

5.4 Discusión de la asociación de los polimorfismos analizados con obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular y de las interacciones gen*ambiente

5.4.1 Polimorfismos de genes de adipocitoquinas y sus receptores

5.4.1.1 Polimorfismos en el gen ADIPOQ

El gen de la adiponectina, denominado ADIPOQ, abarca una región genómica de 16 Kb ubicado en el cromosoma 3q27, siendo considerada como un locus susceptible de DMT2 (Hegele RA et al, 1999; Vionnet N et al, 2000; Mori Y

et al, 2002), síndrome metabólico (Kissebah AH et al, 2000; Francke S et al, 2001), y enfermedad coronaria (Chiodini BD et al, 2003). El gen ADIPOQ incluye tres exones y es considerado un gen altamente polimórfico. En los últimos años se han testado diversos polimorfismos ubicados en distintas regiones del gen así como la combinación de diferentes haplotipos y sus asociaciones con los niveles de adiponectina, obesidad, DMT2 y fenotipos relacionados en distintas poblaciones. En este sentido, diversos estudios han observado una fuerte asociación entre la concentración de adiponectina y los polimorfismos rs17300539 (-11391, G>A) y rs17366568, (Vasseur F et al, 2002; Vasseur F et al, 2005; Pollin TI et al, 2005; Bouatia-Naji N et al, 2006; Heid IM et al, 2010). Por otro lado, los polimorfismos rs2241766 (+45, T>G), rs1501299 (+276, G>T) y rs17366743 (Y111H, T>C) se han asociado con concentración de adiponectina, obesidad, DMT2 y enfermedad coronaria, aunque con resultados contradictorios entre los distintos estudios (Vasseur F et al, 2006; Yang WS et al, 2006; Gable DR et al, 2006; Gable DR et al, 2007; Hivert MF et al, 2008).

Las frecuencias alélicas de los polimorfismos analizados en este estudio son similares a las detectadas en población europea (Vasseur F et al, 2002; Gable DR et al, 2007; Chiodini BD et al, 2010; Heid IM et al, 2010). Además, estudios realizados en población española con los polimorfismos rs17300539 (-11391, G>A), rs2241766 (+45, T>G) y rs1501299 (+276, G>T) también son acordes con las frecuencias obtenidas en este trabajo (Pérez-Martínez P et al, 2008; Razquin C et al, 2010). En cambio, se ha observado que la prevalencia de estos 3 polimorfismos es más reducida en africanos-americanos (Woo JG et al, 2006), además, también se han detectado diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas entre caucásicos y japoneses (Vasseur F et al, 2002), proponiéndose que pueden existir diferencias étnicas en la estructura del gen de la adiponectina dadas estas variaciones (Ukkola O et al, 2005). Además, en el presente estudio se observó un desequilibrio de ligamiento muy débil entre los polimorfismos rs17300539 y el rs17366568, situados en el región promotora y en el intrón 1 respectivamente. También se observó que el polimorfismo rs17300539 presentaban un débil desequilibrio de ligamiento con el rs1501299, en cambio el rs1501299 mostró un desequilibrio levemente más fuerte con el rs2241766, siendo estos resultados similares a los observados en otros estudios en población europea (Vasseur F et al, 2005; Szopa M et al, 2009). Además, se ha propuesto que el locus del gen de la adiponectina posee una alta diversidad haplotípica puesto que presenta un elevada tasa de recombinación (Gibson F et al, 2004). Aunque en el presente estudio solo hemos detectado un bloque en el gen ADIPOQ, estudios en los que se ha analizado una mayor región del gen de la adiponectina han sugerido que este gen está distribuido en dos bloques haplotípicos, con la posible existencia de un punto caliente de recombinación entre los dos bloques haplotípicos (Heid IM et al, 2006), que puede permitir la elevada tasa de recombinación.

Diversos estudios han indicado que los niveles circulantes de adiponectina están disminuidos en individuos con obesidad y DMT2 (Arita Y, et al, 1999; Hotta K et al, 2000; Wheyer C, et al, 2001; Duntas LH et al, 2004; Matsuzawa Y et al, 2004, Marques-Vidal P et al, 2009; Chang LC et al, 2009; Li S et al, 2009), así como se encuentra inversamente relacionados con la concentración de triglicéridos y glucosa y positivamente con los de c-HDL (Yamamoto Y et al., 2002; Yang WS et al, 2002; Baratta R et al, 2004; Chang LC et al, 2009), resultados también constatados en este estudio. Se ha estimado que una parte sustancial de la variabilidad de la concentración de adiponectina es debida a factores genéticos (Comuzzie AG et al, 2001; Vasseur F et al, 2002; Lindsay RS et al, 2003; Chuang LM et al, 2004; Menzaghi C et al, 2004; Pollin TI et al, 2005; Vozarova de Courten B et al, 2005; Guo X et al, 2006). En el estudio realizado por Heid IM et al (2006) llevado a cabo con 1700 individuos sanos caucásicos han mostrado como polimorfismos situados en distintas regiones del gen ADIPOQ se han asociado con variaciones en los niveles circulantes de adiponectina. Entre los distintos polimorfismos estudiados en la región del promotor diversos estudios han indicado que los portadores de alelo A del polimorfismo rs17300539 presentan mayores niveles de adiponectina frente a los homocigotos GG (Menzaghi C et al, 2007; Warodomwichit D et al, 2009). En el presente trabajo se ha confirmado esta asociación en población de elevado riesgo cardiovascular, independientemente del sexo o del grado de obesidad de los individuos. Se ha postulado que el incremento en la concentración de adiponectina en presencia de este alelo puede ser debida a un aumento de la actividad del promotor del gen de la adiponectina producido probablemente por el desplazamiento de un factor de transcripción con propiedades inhibitorias (Bouatia-Naji N et al, 2006). Estos resultados están en concordancia con los obtenidos por otros autores que observaron que la delección de la región del promotor en la cual está ubicado el polimorfismo rs17300539 se ha asociado con un incremento de la tasa de transcripción del gen (Kita A et al, 2005).

Paralelamente, en un reciente estudio de GWA en el que se incluían 4659 individuos europeos indicaron que el polimorfismo rs17366568, ubicado en el intrón 1, es el que mostró mayor asociación con los niveles de adiponectina, explicando el 3,8% de la variación (Heid IM et al, 2010). Aunque también observaron estos autores que este polimorfismo no estaba incluido en ningún elemento regulador o sitio de unión de un factor de transcripción, indicando que es probable que no se trate de la variante funcional pero que ésta debe situarse en sus proximidades. En cambio, en el presente estudio no se detectó la influencia de este polimorfismo sobre la concentración de adiponectina. Además, dado que los polimorfismos rs17300539 y rs17366568 mostraron un débil desequilibrio de ligamiento al comparar las diferencias en la concentración de adiponectina según el haplotipo doble salvaje frente al doble portador del alelo mutado de ambos polimorfismos no se observaron diferencias, a pesar del fuerte impacto observado

para el polimorfismo rs17300539 sobre los niveles de adiponectina de manera independiente.

Además, junto con estos polimorfismos también se han encontrado asociaciones entre los niveles de adiponectina y variantes distribuidas en otras regiones del gen. Así, diversos estudios han observado asociación entre las variantes alélicas de los polimorfismos rs1501299 y rs2241766 con la adiponectina (Vasseur F et al, 2002; Menzaghi C et al 2002; Menzaghi C et al 2004; Berthier MT et al, 2005), aunque en otros estudios no se ha llegado a observar diferencias según el genotipo de estos polimorfismos con la adiponectina (Bacci S et al, 2004; Fumeron F et al, 2004). En el metanálisis realizado por Menzaghi C et al (2007) el polimorfismo rs2241766 no mostró asociación con los niveles de adiponectina, en cambio, el rs1501299 sí que influyó en la concentración adiponectina, produciéndose un incremento de ésta desde los homocigotos GG hacia los heterocigotos y los homocigotos TT.

En el presente estudio los niveles de adiponectina no mostraron variación según el genotipo del polimorfismo rs2241766 considerando el total de la población, aunque se detectó una interacción entre el polimorfismo y el sexo para la determinación de la concentración de adiponectina, de modo que solo en hombres los portadores del alelo G presentaron menor concentración frente a los homocigotos TT de manera estadísticamente significativa, en cambio, en mujeres las portadoras del alelo G mostraron mayor concentración de adiponectina que las homocigotas TT, aunque no se alcanzó la significación. En un estudio reciente también se ha observado una asociación entre este polimorfismo y la adiponectina solo en hombres, aunque en este caso los homocigotos TT presentaron menor concentración de adiponectina (Siitonen N et al, 2011). Sin embargo, en dicho estudio el número de individuos portadores del alelo G era muy reducido (n=3). Por ello, son necesarios más estudio para dilucidar el efecto del polimorfismo rs2241766 según el sexo. Sin embargo, con el polimorfismo rs1501299 se observó un incremento en la concentración de adiponectina de los homocigotos GG a los homocigotos TT. Paralelamente, González-Sánchez JL et al (2005) en un estudio realizado en población española para analizar la asociación entre los polimorfismos rs2241766 y rs1501299 con características del síndrome metabólico, también detectaron solo variación en la concentración de adiponectina según el genotipo del polimorfismo rs1501299, siendo los homocigotos GG también los que presentaron menores niveles.

Por otro lado, en el presente estudio los niveles de adiponectina no mostraron diferencias en función del haplotipo formado entre ambos polimorfismos, a pesar de haberse detectado en estudios previos que el haplotipo homocigoto salvaje para ambos polimorfismos se asocia con menores niveles de adiponectina (Jang Y et al,

2005; Melistas L et al, 2009). Sin embargo, dada la débil asociación observada entre los polimorfismos rs1501299 y rs2241766 sobre los niveles de adiponectina se ha sugerido la posibilidad de que parte del efecto observado con estos polimorfismos puede ser debido a que se encuentran en desequilibrio de ligamiento con la variante funcional (Gable DR et al, 2006). Se ha observado que el polimorfismo rs1501299 se encuentra tanto en leve como en fuerte desequilibrio de ligamiento con diversos polimorfismos situados de la región 3' UTR, la cual juega un papel fundamental en el control de la expresión de los genes mediante la unión de proteínas que regulan la transcripción (Conne B et al, 2000). En particular, el polimorfismo +2019 situado en la región 3' UTR se ha considerado un fuerte candidato como variante funcional, aunque también se ha indicado que el posible efecto de estos polimorfismos puede ser debido a un desequilibrio de ligamiento con polimorfismos situados en la región promotora (Gable DR et al, 2006). En este sentido, en este estudio se ha observado un débil desequilibrio de ligamiento entre los polimorfismos rs1501299 y rs17300539, situado en el promotor este último, ambos asociados de manera significativa con la concentración de adiponectina. Además, se detectó un efecto sinérgico entre ambos polimorfismos sobre los niveles de adiponectina ya que los portadores del alelo A del rs17300539 mostraron un incremento del 14,8% en la concentración de adiponectina respecto de los homocigotos GG, en el caso del rs1501299 el incremento fue del 16,5% de los homocigotos TT a los homocigotos GG, en cambio, los portadores del haplotipo formado por los portadores del alelo A del rs17300539 y los homocigotos TT del rs1501299 mostraron un incremento del 27,7% respecto del haplotipo GG/GG.

Sin embargo, Menzaghi C et al (2007) tras los resultados del metanálisis con distintos polimorfismos del gen ADIPOQ indica que la variabilidad de este gen explica solo entre el 2-8% de la variación en la concentración de adiponectina, y dado que entre el 30-70% puede explicarse por factores genéticos proponen que es posible que otro loci ejerza mayor influencia en la modulación de la concentración de adiponectina. De hecho, se han observado variaciones genéticas en otras regiones del cromosoma 3q27 distintas del gen ADIPOQ (Guo X et al, 2006), e incluso variaciones en regiones diferentes al 3q27, entre las cuales se han observado regiones en el 14q13 asociadas con variaciones en los niveles de adiponectina (Comuzzie AG et al, 2001; Menzaghi C et al, 2004).

Paralelamente, la concentración plasmática de adiponectina produce una reducción de los niveles de IL-6, entre otras citoquinas proinflamatorias (Rothenbacher D et al, 2005). Estudios previos han analizado la asociación entre polimorfismos el gen ADIPOQ con marcadores de inflamación. Jang Y et al (2005) detectó en individuos no diabéticos de origen coreano una asociación entre el polimorfismo rs1501299 y un potente marcador de estrés oxidativo, el PGF_{2α}, sin

embargo, no detectó asociación entre los polimorfismos rs1501299 y rs2241766 con la concentración de PCR. Paralelamente, Warodomwichit D et al (2009) al analizar la asociación entre el polimorfismo rs17300539 y los niveles de IL-6 en población americana los resultados no alcanzaron la significación. En cambio, en el presente estudio los portadores del alelo A del polimorfismo rs17300539 presentaron menor concentración de IL-6, mientras que los portadores del alelo C del rs17366743 mostraron mayor concentración. Sin embargo, dada la baja prevalencia de ambas variantes genéticas junto con el bajo número de muestras determinadas para los niveles de IL-6, serán necesarios más estudios con mayor número de muestras en población con elevado riesgo cardiovascular para confirmar la influencia de estas variantes genéticas sobre la concentración de IL-6 o si estos resultados son debidos al azar.

Por otro lado, niveles disminuidos de adiponectina se han asociado con un incremento de peso, por ello cabe esperar que los mismos polimorfismos que influyen en la concentración de adiponectina jueguen un papel fundamental en el desarrollo de la obesidad. Así, se ha observado que los portadores A del polimorfismo rs17300539 tienen significativamente menos peso, IMC y perímetro de la cintura (Warodomwichit D et al, 2009), como mayor protección frente a la ganancia de peso (Goyenechea E et al, 2009). Además, en individuos hispanos el alelo A se asoció con menor grasa visceral, aunque sin observarse diferencias en el IMC, perímetro de la cintura o índice cintura-cadera (Sutton BS et al, 2005). En cambio, en un estudio realizado con niños italianos obesos los portadores del alelo A presentaron mayor concentración de adiponectina y a su vez mayor IMC y prevalencia de obesidad (Morandi A et al, 2010).

Por otro lado, también existe controversia en la literatura en la asociación de los polimorfismos rs1501299 y rs2241766 con obesidad o parámetros relacionados. Así, Beckers S et al (2009) en un estudio realizado para analizar las distintas variantes del gen ADIPOQ involucradas en el desarrollo de la obesidad, solo el polimorfismo rs2241766 mostró asociación con la tendencia a la obesidad en una población de mujeres, siendo el alelo G el que confería menor riesgo de obesidad, de manera paralela a los resultados obtenidos en el "Nurses Healthy Study" (Hu FB et al, 2004(b)). Además, en población hispana los homocigotos GG presentaron menor IMC frente a los otros genotipos (Sutton BS et al, 2005), y este alelo G se asoció con menor perímetro de la cintura en mujeres suizas (Ukkola O et al, 2003). En cambio, en un estudio prospectivo realizado en población francesa el alelo G se asoció con mayor IMC (Fumeron F et al, 2004) resultados también observados en población japonesa (Vozarova de Courten B et al, 2005) y alemana (Stumvoll M et al, 2002).

Respecto al polimorfismo rs1501299, Filippi E et al (2004) observó en población italiana que el alelo G se asociaba con mayor concentración de adiponectina, presentando también estos individuos menor IMC. Otros estudios han observado asociación entre el alelo G y menor IMC (Ukkola O et al, 2003) y menor grasa visceral (Ukkola O et al, 2005). Además, en un estudio realizado con 1438 individuos de edad avanzada, el alelo G del rs1501299 se asoció con menor riesgo de obesidad (Yang WS et al, 2007). En cambio, en otros estudios se ha observado que este mismo alelo se asocia con mayor IMC (Menzaghi C et al, 2002; Nakatani K et al, 2005).

En esta población de edad avanzada los polimorfismos rs17300539 y rs1501299 son los que mostraron una mayor influencia sobre parámetros antropométricos relacionados con la obesidad. Los individuos portadores del alelo A del polimorfismo rs17300539 presentaron mayor peso, perímetro de la cintura e IMC frente a los homocigotos GG. Respecto a polimorfismo rs1501299, los individuos TT mostraron mayor peso, perímetro de la cintura e IMC respecto a los heterocigotos y homocigotos GG. En ambos polimorfismos los resultados se mantuvieron significativos o en el límite de la significación tras ajustar por niveles de adiponectina, en cambio, estas asociaciones no se mantuvieron tras ajustar por factores de confusión, salvo las diferencias en el perímetro de la cintura y el peso según el genotipo del rs1501299. Paralelamente, el haplotipo formado por los portadores A del rs17300539 y los individuos homocigotos TT del rs1501299 mostraron mayor peso, perímetro de la cintura e IMC que el haplotipo doble homocigoto GG, observándose un mayor impacto de este haplotipo sobre dichos parámetros que al considerar cada polimorfismo de manera independiente. También el haplotipo formado por los polimorfismos rs17300539 y rs17366568 se asoció a los portadores A de ambos polimorfismos con mayor IMC, aunque sin alcanzar la significación tras ajustar por la concentración de adiponectina, ni por factores de confusión.

Dadas las discrepancias en los resultados obtenidos en los distintos estudios, añadido al hecho, como ocurre en este estudio, que tras ajustar por potenciales factores de confusión estas asociaciones dejan de ser significativas es posible que las asociaciones detectadas con estos polimorfismos puedan ser moduladas por la influencia de factores ambientales.

En este sentido, la realización de actividad física se ha observado que influye en los niveles de adiponectina, detectándose mayores niveles entre los individuos que realizan ejercicio físico (Yu Z et al, 2009). Así, en esta población de elevado riesgo cardiovascular se encontró una interacción entre el polimorfismo rs2241766 y la actividad física modulando el peso de los individuos (p interacción rs2241766*actividad física=0,041). De modo que los individuos homocigotos TT

presentan mayor peso frente a los portadores G solo entre los individuos con un estilo de vida sedentario. Esta modulación del efecto del polimorfismo sobre el peso según la realización de actividad física no se ha evaluado en estudios previos, y podría explicar parte de las discrepancias detectadas entre los estudios según las características de los individuos incluidos. Así pues, son necesarios más estudios que evalúen esta interacción para poder corroborar este efecto.

Además del efecto de la actividad física, el tipo de dieta así como distintos componentes de la misma se han visto que también pueden modular la concentración de adiponectina. En este contexto, recientemente se ha detectado que el efecto del rs17300539 sobre el riesgo de obesidad puede estar modulado por el tipo de dieta (Warodomwicht D et al, 2009). Estos autores detectaron una interacción entre el polimorfismo rs17300539 y el consumo de AGM tanto para el IMC (p interacción=0,021) como para el riesgo de obesidad (p interacción=0,034), donde los individuos portadores del alelo A con una ingesta de AGM superior o igual al 13% presentaban menor IMC y menor riesgo de obesidad respecto de los homocigotos GG, sin detectarse estas diferencias entre los que tenían una ingesta de AGM inferior. En esta línea, en el presente trabajo se detectó una modulación del efecto del plimorfismo rs17300539 sobre el peso y la concentración de adiponectina en función de la dieta. Así pues, en esta población de elevado riesgo cardiovascular los portadores del alelo A mostraron mayor peso que los homocigotos GG solo entre los individuos que consumían una dieta con bajo grado de adherencia a la dieta mediterránea, patrón dietético caracterizado por una elevada cantidad de AGM y AGP y baja cantidad de AGS (Willett WC et al, 1995(a)). Sin embargo, los individuos portadores del alelo A que consumen una dieta con alta adherencia a la DM mostraron un peso similar con genotipo GG. Aunque sin llegar a alcanzar la significación la interacción entre el polimorfismo y la adherencia a la DM (p interacción rs17300539*DM=0,100). Sin embargo, el componente determinante en la interacción con el polimorfismo fue el consumo de legumbres, alimento con alto contenido en proteínas vegetales, ácido fólico, fitosteroles e isoflavonas junto con cantidades considerables de fibra (Márquez-Sandoval F et al, 2008). Los niveles de adiponectina también se han asociado con el contenido de fibra de la dieta (Qi L et al, 2005(b); Qi L et al, 2006). De este modo, los portadores del alelo A con un consumo de legumbres de 3 veces o más a la semana presentaban menor peso y mayor concentración de adiponectina frente a los que tenían un consumo inferior de legumbres (peso: p interacción rs17300539*consumo de legumbres=0,007; adiponectina: p interacción rs17300539*consumo de legumbres=0,002).

Por otro lado, se ha detectado una modulación de la concentración de adiponectina según el genotipo del polimorfismo rs1501299 en función del seguimiento de una dieta baja en fibra (Ntalla I et al, 2009) así como del

seguimiento de una dieta baja en calorías (Shin MJ et al, 2006). Además, recientemente en población española también se ha observado que los efectos de los polimorfismos rs2241766 y rs1501299 sobre la ganancia de peso parecen revertir en individuos con un seguimiento de una dieta tipo mediterránea (Razquin C et al, 2010). Sin embargo, en el presente estudio no se ha detectado una modulación de los efectos de estos polimorfismos en función de la adherencia a la DM o de la frecuencia de consumo de sus componentes más característicos.

En cambio, la modulación en función del consumo de legumbres se mostró, además de con el polimorfismo rs17300539 de manera independiente, también se observó con el haplotipo formado por los polimorfismos rs17300539 y rs1501299 en su efecto sobre el peso, perímetro de la cintura, IMC y adiponectina. De manera que los individuos con el haplotipo formado por los portadores A del rs17300539 y los homocigotos TT del rs1501299 son más susceptibles al consumo de legumbres, presentando menor peso, perímetro de la cintura e IMC así como mayor concentración de adiponectina si presentaban un consumo de legumbres superior o igual a 3 veces por semana frente a los que presentaban un consumo inferior (peso: p interacción rs17300539*consumo de legumbres=0,029; perímetro de la cintura: p interacción rs17300539*consumo de legumbres=0,004; IMC: p interacción rs17300539*consumo de legumbres=0,053; adiponectina: p interacción rs17300539*consumo de legumbres=0,018). Además, un consumo inferior a 3 veces por semana confiere mayor riesgo de obesidad a los que presentan el haplotipo portadores A/TT frente al haplotipo homocigoto GG/GG. De todos modos, son necesarios más estudios que den consistencia a estas interacciones y que pongan de manifiesto el componente nutritivo que ejerce un mayor impacto en la asociación de los polimorfismos del gen ADIPOQ con parámetros antropométricos relacionados con la obesidad y con la concentración de adiponectina.

Por otro lado, el efecto de distintos polimorfismos del gen ADIPOQ sobre la sensibilidad a la insulina y la DMT2 ha sido detectado en diversos estudios, aunque paralelamente con los resultados de asociación con obesidad, también existe controversia entre los distintos estudios sobre los polimorfismos e incluso sobre que alelo están involucrados. En un reciente metanálisis realizado para analizar la asociación entre polimorfismos situados en la región del promotor y sus proximidades con el riesgo de DMT2 se observó que el polimorfismo rs17300539 presenta una baja influencia en el riesgo a desarrollar DMT2 en población europea (Gong M et al, 2010). En el caso del polimorfismo rs2241766 el alelo T se asoció con DMT2 en individuos sanos de origen taiwanés (Yang WS et al, 2003), y se ha observado que los homocigotos TT presentan mayor resistencia a la insulina que los portadores G en mujeres griegas (Melistas L et al, 2009). Sin embargo, de manera contradictoria el alelo minoritario G se ha asociado con el desarrollo de

DMT2 en individuos finlandeses participantes del estudio *Finnish Diabetes Prevention Study* (DPS) (Siitonen N et al, 2011) y en los participantes del estudio internacional STOP-NIDDM (Zacharova J et al, 2005). Este alelo también se ha relacionado con hiperglicemia en un estudio prospectivo realizado en población francesa (Fumeron F et al, 2004).

Con el polimorfismo rs1501299 también se observan diferencias entre los estudios al indicar el alelo de riesgo. Así en población coreana y en hombres japoneses el alelo T se asoció con menor resistencia a la insulina (Hara K et al, 2002; Yang Y et al, 2005). En cambio, en el estudio realizado con mujeres griegas las portadoras del alelo T presentaron mayor resistencia a la insulina respecto a las GG (Melistas L et al, 2009). También, en población taiwanesas de edad avanzada el alelo T se asoció con DMT2 (Yang W et al, 2007), y entre los participantes del estudio STOP-NIDDM el genotipo TT se relacionó con mayor riesgo de DMT2 frente a los GG (Zacharova J et al, 2005). Sin embargo, en el metanálisis realizado por Menzaghi C et al (2007) ninguno de estos dos polimorfismos ni el situado en la región promotora, el rs17300539, se asociaron con DMT2.

En el presente estudio, entre estos tres polimorfismos en esta población de elevado riesgo cardiovascular se observó que solo en el caso del polimorfismo rs1501299 los portadores del alelo T presentaban mayor riesgo de DMT2, de manera similar a lo detectado por Yang W et al (2007) en población de edad avanzada, quedándose en el límite de la significación tras ajustar por sexo y edad. Además, se observó una interacción gen*sexo con el polimorfismo rs2241766 sobre los niveles de AGNE (Pinteraccion rs2241766*sexo=0,029), de manera paralela a la interacción detectada con los niveles de adiponectina, detectándose en este caso en mujeres que las homocigotas TT presentan mayores niveles de AGNE frente a las portadoras del alelo G. En este sentido, los niveles de adiponectina se correlacionan de manera inversa con los de AGNE, como también se ha observado en este estudio, así el descenso de adiponectina produce un incremento de AGNE, con la consecuente inhibición de la captación de glucosa, inducción de la resistencia a la insulina y estimulación de la gluconeogénesis, cuyo último resultado es el incremento de glucosa en plasma y aumento del riesgo de DMT2 (Sheng T et al, 2008). Puesto que en el estudio realizado con mujeres griegas se observa, de manera concordante con nuestros resultados, que las homocigotas TT poseen más resistencia a la insulina, es posible que existan diferencias en la modulación del efecto del polimorfismo según el sexo, hecho que podría explicar las discrepancias en la determinación del alelo de riesgo con la DMT2 o características relacionadas, aunque son necesarios más estudios que evalúen la influencia del sexo en estas determinaciones.

Por otro lado, en el caso del polimorfismo rs17366743 los portadores del alelo minoritario C sí presentaron mayor concentración de glucosa y riesgo de DMT2, quedándose también en el límite de la significación tras ajustar por sexo y edad (OR=2,00 IC95% (0,98-4,07) p=0,056). Estudios previos han detectado la asociación entre esta variante y la DMT2 (Vasseur F et al, 2002; Hivert MF et al, 2008) o con características relacionadas con la misma (Ukkola O et al, 2005). El polimorfismo se encuentra situado en una región del gen muy conservada, situada entre el dominio colágeno y el globular. Se ha postulado que tal cambio puede alterar la organización espacial y función de la proteína al obstaculizar la formación de homotrímeros por el dominio colágeno (Vasseur F et al, 2002). Sin embargo, la mutagénesis dirigida en la secuencia ha demostrado que el cambio de aminoácido que produce esta variación no altera la formación de adiponectina de alto peso molecular (Waki H et al, 2003). Por ello, se cree que puede influir en el empalme alternativo del mensajero, alterando la funcionalidad de la proteína y con ello disminuyendo su función en la sensibilidad a la insulina (Hivert MF et al, 2008). Sin embargo, otros estudios no han detectado asociación entre el rs17366743 y la DMT2 o parámetros relacionados (Heid IM et al, 2006; Siitonen N et al, 2011).

Además, en el presente estudio el rs17366743 mostró mayor impacto entre los individuos no obesos, donde los portadores del alelo C presentaban mayor concentración de glucosa, quedándose en el límite de la significación, y paralelamente mayor concentración de leptina. En el estudio de Hivert et al (2008) realizado con la cohorte del estudio Framingham también se detectó mayor influencia del alelo C sobre la glucosa en no obesos. De manera paralela, se ha sugerido que la leptina puede interactuar directamente con la insulina en el metabolismo de la glucosa (Harris RB, 2000). Sin embargo, existen resultados contradictorios sobre el efecto de los niveles de leptina circulante y el riesgo de DMT2 (Schmidt MI et al, 2006;; Wannamethee SG et al, 2007; Snijder MB et al, 2007; Ley SH et al, 2008; Welsh P et al, 2009), por lo que características genéticas e incluso el grado de obesidad pueden influir en esta asociación. De este modo, sería interesante que futuros estudios analizaran la influencia de este polimorfismo sobre la DMT2, así como el efecto que produce sobre parámetros relacionadas con la misma según las características de la población.

Por todo ello, la falta de consistencia en los resultados puede ser debida al hecho de que diversos factores genéticos y ambientales influyen en los niveles de glucosa y el riesgo de desarrollar DMT2 que pueden contribuir a la variabilidad del efecto de los distintos polimorfismos.

En este sentido, en el presente estudio se ha puesto de manifiesto el efecto protector que ejerce la realización de actividad física en la asociación detectada

entre el rs17366743 con los niveles de glucosa (p interacción rs17366743*actividad física=0,024). De esto modo, se ha observado que solo en individuos sedentarios los portadores C presentan mayor concentración de glucosa frente a los homocigotos TT. La realización de actividad física de intensidad moderada, como caminar a paso regular con cierta incidencia, puede reducir sustancialmente el riesgo de DMT2 (Jeon CY et al, 2007). Así, en esta población de elevado riesgo cardiovascular se observó que la influencia del polimorfismo sobre los niveles de glucosa se anula entre los no sedentarios.

Además, también se ha detectado que el uso de aceite de oliva como principal grasa para cocinar también modula el efecto del polimorfismo sobre los niveles de glucosa (p interacción rs17366743*consumo de aceite de oliva=0,036). Los efectos beneficiosos del aceite de oliva frente al riesgo de enfermedades cardiovasculares se han atribuido a su elevado contenido en AGM y a otros componentes minoritarios con propiedades bioactivas (López-Miranda J et al, 2010). Se ha observado que tras la ingesta de una comida con alto contenido de AGM procedentes del aceite de oliva se mejora el perfil lipídico y la homeostasis de la glucosa más que tras una comida rica en AGS (Paniagua JA et al, 2007; Lopez S et al, 2008). Además, se han propuesto las dietas ricas en AGM como una alternativa a las dietas bajas en grasa en la terapia nutricional frente a la DMT2 (Ros E et al, 2003). En este trabajo, no se detectaron diferencias entre los portadores C y los homocigotos TT en la concentración de glucosa en individuos que utilizaban el aceite de oliva como principal grasa para cocinar. Sin embargo, si se observaron diferencias según el genotipo en individuos que no usaban este tipo de aceite de manera principal. No se han encontrado estudios previos que analizaran la modulación de este polimorfismo por la interacción con factores ambientales, por lo que es importante que futuras investigaciones se centren en ello, tanto con este polimorfismo como con el resto del gen ADIPOQ para tratar de explicar las diferencias entre estudios.

En conclusión, en población mediterránea de elevado riesgo cardiovascular los polimorfismos rs17300539 y rs1501299 han mostrado una fuerte asociación con la concentración de adiponectina. El haplotipo formado por ambos polimorfismos, pese a mostrar un débil desequilibrio de ligamiento presenta mayor influencia tanto en la concentración de adiponectina como con parámetros antropométricos, aunque su efecto esta fuertemente modulado por el consumo de legumbres. Los efectos del polimorfismo rs2241766 sobre la concentración de adiponectina y de AGNE mostró una dependencia según el sexo. Además, los portadores del alelo C del rs17366743 presentan mayores niveles de glucosa, aunque su acción depende tanto del grado de obesidad como de la interacción con factores ambientales.

5.4.1.2 Polimorfismo rs6666089 del gen ADIPOR1

La adiponectina y sus receptores constituyen un componente integral del mecanismo de mantenimiento de la homeostasis de la energía en los tejidos periféricos (Psilopanagioti A et al, 2009). De este modo, variaciones en los genes de los receptores de la adiponectina se han asociado con fenotipos relacionados con la obesidad y la DMT2 (Wang H et al, 2004; Damcott CM et al, 2005; Stefan N et al, 2005; Siitonen N et al, 2006). En este trabajo se ha estudiado el polimorfismo rs6666089 del gen ADIPOR1, localizado en la región del promotor, a 8503 nucleótidos del codón de inicio.

Las frecuencias obtenidas en la población estudiada para el alelo A es similar a la observada en otras poblaciones europeas (Stefan N et al, 2005; Siitonen N et al, 2006; Kim JT et al, 2009) y en población mejicana-americana (Richardson DK et al, 2006). Sin embargo, este alelo presenta una frecuencia mucho más disminuida en población japonesa-americana (0,031) (Oki K et al, 2009) aunque algo más disminuida en africanos-americanos (0,16-0,20) (Wang H et al, 2004).

El ADIPOR1 está altamente expresado en el tejido adiposo en humanos, aunque su expresión se ha visto disminuida en individuos obesos e incrementa tras la pérdida de peso (Kim MJ et al, 2006), lo que indica que su expresión puede influir en el desarrollo del sobrepeso y la obesidad. En contraste con estos resultados diversos estudios han encontrado asociación entre variaciones en el gen ADIPOR1 y el IMC (Siitonen N et al, 2006; Richardson DK et al, 2006). En concreto, entre los participantes del *Finnish Diabetes Prevention Study* el polimorfismo rs6666089 se encontró en completo desequilibrio de ligamiento con otro polimorfismo situado en el intrón 1 (rs10920534) el cual se asoció con diversas medidas relacionadas con la obesidad (Siitonen N et al, 2006). Sin embargo, en el estudio *Old Order Amish* no se encontró asociación con el IMC con ninguno de los analizados del gen ADIPOR1, entre los que estaba incluido el rs6666089 (Damcott CM et al, 2005). En este trabajo realizado con población de elevado riesgo cardiovascular tampoco se encontró asociación con obesidad o parámetros relacionados. Además, en un reciente estudio realizado en población europea para analizar la capacidad olfatoria según el genotipo de este polimorfismo, indicaron que los portadores del alelo A presentaban un deterioro del olfato, sugiriendo que la señalización de la adiponectina puede ejercer una importante función en la capacidad olfatoria y con ello en la regulación del apetito, aunque paralelo a nuestros resultados, no detectaron diferencias en el IMC según el genotipo (Guthoff M et al, 2010).

Por otro lado, la asociación entre la DMT2 o la sensibilidad a la insulina con polimorfismos situados en el receptor 1 de la adiponectina ha sido establecida en

diferentes estudios (Stefan N et al, 2005, Damcott CM et al, 2005; Kantartzis K et al, 2006(b); Kim JT et al, 2009). En este sentido, Stefan N et al (2005) en un estudio realizado con individuos sanos de procedencia alemana observaron que los portadores del alelo A presentaban mayor resistencia a la insulina. De manera similar, entre los participantes del *Finnish Diabetes Prevention Study* el polimorfismo ubicado en desequilibrio de ligamiento rs6666089 también se asoció con un incremento en los niveles de insulina tras 2 horas del TTOG, sin embargo no se relacionó con el riesgo de DMT2 (Siitonen N et al, 2006). Además, en la población del *Old Order Amish* no encontraron asociación con la DMT2 entre polimorfismos situados en la región del promotor, entre los que se encontraba el rs6666089, pero sí con los que se localizaban en regiones intrónicas, sugiriendo que la asociación con la DMT2 puede estar más vinculada con estas regiones más que con variaciones en el promotor (Damcott CM et al, 2005). En este sentido, otros autores no han encontrado asociación entre el rs6666089 y la DMT2 o la sensibilidad a la insulina en población europea (Collins SC et al, 2007), en individuos caucásicos o africanos-americanos (Wang H et al, 2004) ni en población japonesa (Hara K et al, 2005).

En el presente estudio tampoco se encontraron diferencias según el genotipo del rs6666089 ni con los niveles de glucosa ni con DMT2. Paralelamente con estos resultados, en el estudio realizado en población del noroeste de España para examinar la prevalencia de factores de riesgo cardiovascular en el que analizaron la asociación entre polimorfismos de ambos receptores de la adiponectina con la función hepática, no detectaron diferencias según el genotipo del rs6666089 (López-Bermejo A et al, 2008). Así pues, podría ocurrir que las discrepancias entre estudios, tanto en la asociación con la obesidad como con la DMT2, podrían deberse a diferencias entre las poblaciones. En este sentido, Kantartzis K et al (b)(2006) observaron que la asociación entre el rs6666089 y la resistencia a la insulina solo se detectaba en individuos obesos. Además, en el *Finnish Diabetes Prevention Study* la asociación con el incremento de insulina tras el TTGO se observó en hombres, sugiriendo que el efecto del polimorfismo rs6666089 sobre la resistencia a la insulina e incluso el peso corporal puede depender del sexo (Siitonen N et al, 2006).

En cambio, tanto en el presente estudio como en el realizado por Collins SC et al (2007) no se han detectado interacciones entre este polimorfismo y el sexo o el grado de obesidad en la determinación de parámetros relacionados con la obesidad o la DMT2. Por otro lado, estudios de intervención han observado un incremento en la expresión de ambos receptores de la adiponectina tanto tras el seguimiento de unas pautas dietéticas (Kim MJ et al, 2006; Rasmussen MS et al, 2006) como de la realización de actividad física (Blüher M et al, 2007). También, en el estudio realizado por Stefan y colaboradores mostraron que los individuos homocigotos

GG para el polimorfismo -8503 del gen ADIPOR1 presentaban menor contenido de lípidos hepáticos respecto de los sujetos portadores de alelo A tras aumentar la actividad física junto con intervención dietética (Stefan N et al, 2005). En este trabajo no se han encontrado interacciones gen*ambiente que modulen los efectos del rs6666089 sobre fenotipos relacionados con obesidad y DMT2. Por ello, debido a la falta de consistencia en los resultados de los estudios, sería interesante que futuras investigaciones analizaran la influencia de las características de la población como de factores ambientales en los efectos de este polimorfismo.

En conclusión, en esta población de elevado riesgo cardiovascular el polimorfismo rs6666089 no parece tener efecto sobre el riesgo de obesidad o de DMT2. Tampoco se detectaron diferencias según el genotipo de este polimorfismo según las características de la población o en función de la influencia de factores ambientales en la población estudiada. Por ello, son necesarios más estudios que indiquen la implicación del rs6666089 en el riesgo de obesidad y DMT2.

5.4.1.3 Polimorfismo rs7799039 del gen LEP

El polimorfismo rs7199039 (-2548 G>A) del gen de la leptina se ha asociado con variaciones de la concentración de leptina como con el grado de obesidad, aunque estas asociaciones entre los distintos estudios resultan conflictivos.

La frecuencia del alelo A en esta población de elevado riesgo cardiovascular es levemente inferior a la obesidad en población mediterránea española (Portoles O et al, 2006) aunque similar a población del centro de España (Riestra P et al, 2010) como en población caucásica europea (Mammès O et al, 2000, Le Stunff C et al, 2000) y de América del Norte (Skibola CF et al, 2004). Sin embargo, en población japonesa del alelo A presenta una prevalencia más elevada respecto del resto de poblaciones (Hamajina N et al, 2002)

En esta población de elevado riesgo cardiovascular se encontró una asociación entre el polimorfismo rs7799039 y la concentración plasmática de leptina en hombres, de modo que los portadores del alelo A presentaban mayor concentración de leptina. Sin embargo, no se detectó una interacción estadísticamente significativa gen*sexo. Así, la asociación entre el polimorfismo rs7799039 y la concentración de la leptina ha sido ampliamente examinada. En el estudio inicial llevado a cabo en población francesa para analizar los posibles efectos de variaciones en la región 5' del gen de la leptina, detectaron que el alelo A del rs7799039 se asociaba con concentraciones más altas de leptina, aunque tras un periodo de 2,5 meses con intervención dietética, estas diferencias según el genotipo se quedaban en el límite de la significación (Mammès O et al, 1998). Posteriormente, en un siguiente estudio realizado en población francesa el genotipo

AA se asoció con un incremento en la concentración plasmática de leptina en hombre, pero no en el caso de mujeres (Mammès O et al, 2000)

Sin embargo, en un estudio realizado en Suecia con mujeres no obesas, se observó que el alelo A de este polimorfismo está asociado con un incremento en la concentración de mRNA de la leptina y con un incremento en la tasa de secreción de leptina por el tejido adiposo. (Hoffsted J et al, 2002). En cambio, otros estudios no han encontrado asociación entre este polimorfismo y variaciones en la concentración de leptina (Wang TN et al, 2006). Así como también se han detectado asociaciones inversas donde los portadores del alelo A presentaban menor concentración de leptina (Poitou C et al, 2005; Hinuy HM et al; 2008; Constantin A et al, 2010).

Esta asociación inversa entre el alelo A y la concentración de leptina también se detectó en población española, aunque este estudio se llevó a cabo con individuos con una media de edad 14 ± 10 años (Riestra P et al 2010) cuyas diferencias respecto a nuestros resultados pueden ser debidas a diferencia en la población de estudio al tratarse en este caso de poblaciones de edad avanzada con riesgo cardiovascular.

En este sentido Yiannakouris N et al (2003) detectó una asociación entre el alelo G y el aumento de la concentración de leptina a través de una interacción con el sexo y la grasa corporal, donde las niñas obesas con el genotipo AA muestran una concentración de leptina entre un 20 – 25% más baja según la masa grasa que otros genotipos. Además, estudios donde el alelo A se ha asociado con menor concentración de leptina se han llevado a cabo en individuos franceses con obesidad mórbida (Poitou C et al, 2005) en niñas obesas (Le Stunff C et al, 2000) y en mujeres obesas brasileñas (Hinuy HM et al, 2008).

De manera paralela en este estudio se observó una interacción gen*obesidad en la determinación de la concentración de leptina. En este caso, aunque no se obtuvieran diferencias significativas en obesos, los homocigotos AA presentaron menor concentración. Mientras que en individuos no obesos la mayor concentración de leptina se observó entre los individuos con el genotipo AA, con diferencia significativa incluso tras ajustar por factores de confusión. La interacción gen*obesidad sobre la concentración de leptina estratificada según el sexo no se analizó debido a la pérdida de poder estadístico al reducirse el tamaño de los grupos a comparar. Sin embargo, estos resultados aportan evidencia científica sobre la modulación tanto por el sexo como por el grado de obesidad de los efectos del polimorfismo sobre la concentración de leptina.

En este sentido, se ha indicado que la concentración de leptina circulante es altamente correlacionada con la grasa corporal. En cambio, la asociación entre el polimorfismo del gen de la leptina con obesidad o fenotipos relacionados han reportado resultados controvertidos. En concreto, el polimorfismo rs7799039 no se ha asociado con obesidad, ni se han detectado diferencias en las frecuencias genotípicas entre obesos y no obesos en esta población de elevado de riesgo cardiovascular, tampoco se han detectado diferencias significativas con peso, IMC o perímetro de la cintura según el genotipo del polimorfismo, indicando que este polimorfismo no es un marcador relevante de obesidad o fenotipos relacionados con la misma en la población estudiada. En cambio, en estudios previos el alelo G se asoció con mayor IMC en población francesa con sobrepeso (Mammès O et al, 2000), en mujeres brasileñas se asoció con mayor riesgo de obesidad y mayor IMC (Hinuy HM et al, 2008) y en población taiwanesas el genotipo GG se asoció con mayor perímetro de cintura solo entre los obesos y con mayor riesgo de obesidad extrema (Wang TN et al, 2006), resultados también observados en población procedente de Pensilvania (Li WD et al, 1999). También se detectó mayor IMC y perímetro de cintura entre los portadores del alelo G en población adolescente española, con mayor prevalencia de este alelo entre los individuos con sobrepeso y obesidad frente a los normopeso (Riestra P et al, 2010). Sin embargo, otros estudios no han detectado relación entre este polimorfismo y el riesgo de obesidad o fenotipos relacionados (Mattevi VS et al, 2002; Constantin A et al, 2010), e incluso en un estudio realizado en población mediterránea española (Portolés O et al, 2006), concordante con los resultados de este estudio.

Aunque las discrepancias entre los distintos estudios no están todavía esclarecidos, modificaciones del efecto del polimorfismo podría atribuirse a diferencias en las características fisiológicas de las poblaciones. Además, se ha sugerido que el polimorfismo rs7799039 se encuentra en un sitio específico que puede modificar la transcripción del gen de la leptina, planteando incluso la posibilidad de una interacción entre este polimorfismo y elementos de respuesta a estrógenos en el promotor del gen de la leptina (Yiannakouris N et al, 2003). Aunque también este polimorfismo podría encontrarse en desequilibrio de ligamiento con otros polimorfismos realmente responsables de estos efectos. Por lo que son necesarios más estudios que consideren los diferentes fenotipos de los participantes así como la asociación de este polimorfismo con otras variantes.

Por otro lado, también se ha observado una respuesta diferencial a una dieta baja en calorías según el genotipo del polimorfismo -2548 del gen de la leptina (Mammès O et al, 1998). En el presente estudio no se han detectado diferencias según el genotipo de este polimorfismo y la adherencia a la DM o en función de la frecuencia de consumo de alimentos característicos de la misma. Sin embargo, en esta población de elevado riesgo cardiovascular se ha detectado una interacción

gen*actividad física en la modulación del peso según el genotipo del polimorfismo (p interacción=0,034). La realización de actividad física produce un descenso en el valor de IMC, así como también se asocia con una tendencia al descenso en la concentración de leptina (Fatouros IO et al, 2005; Huuskonen A et al, 2010). En un reciente estudio de intervención con actividad física realizado en hombres con una media de edad de 19 ± 1 años observaron un descenso en el IMC en los 3 genotipos de este polimorfismo tras 5 y 8 semanas de entrenamiento físico, especialmente en los individuos con el genotipo homocigoto GG (Huuskonen A et al, 2010). En el presente estudio, los individuos heterocigotos y homocigotos AA no sedentarios presentaron menor peso respecto de los no sedentarios, quedándose en el límite de la significación entre los homocigotos AA. Sin embargo, la realización de actividad física no influyó en el peso entre los homocigotos GG. Estas diferencias con nuestros resultados pueden ser debidas a que en el presente estudio se trata de población de elevado riesgo cardiovascular, por lo que pueden existir otros factores que impiden demostrar el efecto de la actividad física en los homocigotos GG. Así pues, sería interesante que futuros estudios evaluaran también las interacciones gen*ambiente con este polimorfismo ya que pueden contribuir también a las discrepancias en los resultados de las distintas investigaciones.

En conclusión, el efecto del polimorfismo sobre la concentración de leptina se ha mostrado modulado por el sexo y por el grado de obesidad en esta población de elevado riesgo cardiovascular. Además, la realización de actividad física también influye en el efecto que ejerce el polimorfismo sobre el peso. Posteriores estudios son necesarios para confirmar la influencia de características fisiológicas y ambientales sobre el polimorfismo -2548 del gen de la leptina.

5.4.1.4 Polimorfismo rs1137101 del gen RLEP

Los efectos de la leptina sobre la saciedad y el balance energético están mediados a través de su receptor a nivel del hipotálamo (Issue N et al, 1995; Frühbeck G, 2006). Por ello, la existencia de polimorfismos en el gen RLEP se ha sugerido que pueden estar involucrados en la fisiopatología de la obesidad humana (Yiannakouris N et al, 2001). El polimorfismo rs1137101 (Q223R) del gen RLEP ha sido ampliamente estudiado presentando gran variabilidad en su frecuencia según la distribución geográfica.

En esta población de elevado riesgo cardiovascular la frecuencia del alelo R es similar a la observada en otros estudios realizados en países mediterráneos (0,32-0,38) (Yiannakouris N et al, 2001; Portolés O et al, 2006). En cambio, en zonas del centro y norte de Europa la frecuencia del alelo R presenta un leve incremento (0,44-0,48) (Gotoda T et al, 1997; Wauters M et al, 2001; Mammès O et al, 2001; van Rossum CT et al, 2002). En población norteamericana se han observado

diferencias entre etnias, mostrando mayor frecuencia entre individuos de raza negra frente a los caucásicos (0,51 vs 0,46) (Chagnon YC et al, 2000). Sin embargo, la frecuencia de este alelo R es considerablemente mayor en población asiática (Matsuoka N et al, 1997; Endo K et al, 2000; Koh JM et al, 2002).

El posible efecto de variaciones en el gen RLEP sobre la expresión de la leptina ha sido evaluado en diversos estudios. En este sentido, Chagnon YC et al (2000) observó en hombres caucásicos que los portadores del alelo R del polimorfismo rs1137101 presentaban un incremento de 4ng/mL en la concentración de leptina frente a los no portadores. Posteriormente, Yiannakouris N et al (2001) detectó en población mediterránea que los individuos homocigotos RR mostraban mayor concentración de leptina, quedándose estas diferencias según el genotipo en el límite de la significación. Paralelamente, van Rossum CT et al (2003) al evaluar los efectos de distintos polimorfismos en el gen RLEP entre individuos que presentaron mayor facilidad de ganancia de peso frente a aquellos que mantuvieron su peso más estable tras un seguimiento de más de 6 años, observaron que entre los individuos con mayor facilidad de ganancia de peso, los portadores R mostraron una concentración de leptina circulante un 20% mayor frente a los no portadores. Más recientemente, en población europea el alelo R se relacionó con un perfil metabólico de mayor riesgo al asociarse con mayor concentración de leptina, triglicéridos y presión arterial y menor c-HDL (Constantin A et al, 2010). Sin embargo, se han detectado resultados opuestos en estudios llevados a cabo en población mejicana (Guízar-Mendoza JM et al, 2005), en individuos obesos en un estudio realizado con población tunesina (Ben Ali S et al, 2009) e incluso en mujeres postmenopáusicas de origen caucásico (Quinton ND et al, 2001). Además, en otros estudios se ha indicado que este polimorfismo no influye en la determinación de la concentración de leptina (Kim SM et al, 2008; Saukko M et al, 2010).

En el presente estudio el polimorfismo rs1137101 no mostró asociación con la concentración de leptina. En cambio, se muestra como un factor de riesgo para la obesidad, siendo los portadores R los que presentan mayor riesgo tras ajustar por sexo y edad (OR=1,30 IC95% (1,01-1,69) p=0,043), sin detectarse heterogeneidad según el sexo. De manera similar a los resultados de asociación entre el polimorfismo y la concentración de leptina, la asociación con obesidad presentan discordancia entre los distintos estudios. Así, en el estudio realizado por Chagnon YC et al (2000) observaron que en hombres caucásicos portadores del alelo R junto con el incremento de leptinemia también presentaron mayor IMC y porcentaje de masa grasa frente a los no portadores. También en el estudio realizado en población mediterránea indicaron que el 5% de la variabilidad en la composición corporal detectada en su población puede ser debida a la presencia del alelo R (Yiannakouris N et al, 2001). También, Mattevi VS et al (2002) observaron en

población brasileña mayor frecuencia del genotipo RR en hombres con obesidad central. Posteriormente, en hombres de origen caucásico también se observó una fuerte asociación entre el alelo R y el riesgo de obesidad y fenotipos relacionados (Masuo K et al, 2008). En el presente estudio las diferencias según el genotipo en el IMC se observaron también solo en hombres. Diferentes estudios, incluido este, han demostrado un marcado dimorfismo sexual en las concentraciones de leptina (Saad MF et al, 1997; Pardo IM et al, 2004), cuyas diferencias pueden ser debidas a variaciones en las hormonas sexuales. Los receptores para estas hormonas se expresan en el núcleo del hipotálamo, considerándose fuertes candidatos a modular la sensibilidad del SNC de las señales mediadas por la leptina (Rosenbaum M et al 1999), pudiendo explicar así algunas de las diferencias de género observadas en algunas variantes genéticas (Mattevi VS et al, 2002).

Sin embargo, el alelo R también se ha relacionado con un incremento de la adiposidad en mujeres postmenopáusicas europeas (Fairbrother UL et al, 2007). Además, van Rossum CT et al (2003) indicó que el efecto del polimorfismo sobre la ganancia de peso es limitada. Por otro lado, otros autores obtienen resultados opuestos como en el estudio realizado por Quinton ND et al (2001) en mujeres postmenopáusicas donde en este caso las portadoras del alelo Q presentaron mayor IMC y adiposidad. También se observó esta tendencia en población mejicana (Guízar-Mendoza JM et al, 2005) y en hombres obesos de población tunesina (Ben Ali S et al, 2009). Así como también se ha detectado una falta de asociación entre el polimorfismo rs1137101 y la obesidad en diferentes poblaciones caucásicas (Mergen H et al 2007; Constatin A et al, 2010). Además, los resultados de previos metanálisis no han confirmado la asociación entre polimorfismos situados en el gen RLEP con fenotipos relacionados con la obesidad (Heo M et al, 2001; Heo M et al, 2002; Paracchini V et al, 2005).

El polimorfismo rs1137101 (Q223R) produce el cambio de una glutamina (Q) a una arginina (R) generando un cambio de carga de neutra a positiva en la proteína, la cual se sugirió inicialmente que podría alterar la funcionalidad del receptor (Changnon YC et al, 2000). Este polimorfismo se encuentra ubicado en la región extracelular del receptor de la leptina, en un bucle situado en el primer dominio homólogo a receptores de citoquinas. Pero más recientemente se ha sugerido que este cambio no afecta a la capacidad de señalización del receptor, ya que estudios *in vitro* reflejan la activación de STAT3 para la transmisión de la señal tanto en presencia o no de la mutación, indicando que este polimorfismo presenta poca probabilidad de influir en el riesgo de obesidad en humanos (Stratigopoulos G et al, 2009).

Con ello, las diferencias entre los distintos estudios pueden ser debidas a variaciones en las frecuencias alélicas como a diferencias en su segregación con otras variantes según la población. Aunque diferencias en la definición de obesidad o del diseño estadístico también pueden contribuir a esta variabilidad. Por otro lado, dado que la obesidad es una enfermedad compleja en la que intervienen varios genes, posibles interacciones entre ellos e incluso con factores ambientales pueden enmascarar el efecto de los polimorfismos, por lo que futuras investigaciones deberían tener en cuenta estas consideraciones (Paracchini V et al, 2005).

En este sentido, en población brasileña de descendencia europea la asociación entre el polimorfismo rs1137101 y el IMC fue más fuerte en individuos no fumadores que en el total de la muestra estudiada (Mattevi VS et al, 2002). Sin embargo, en el presente estudio no se detectó una interacción entre el polimorfismo y el hábito tabáquico debido probablemente a la baja prevalencia de individuos fumadores, tan solo el 12,5%.

En conclusión, el alelo R del polimorfismo rs1137101 (Q223R) es un marcador de riesgo de obesidad en esta población de elevado riesgo cardiovascular, sin presentar heterogeneidad según el sexo. En cambio, el efecto del polimorfismo sobre el IMC fue más determinante en hombres. Sin embargo, el genotipo del polimorfismo rs1137101 no influyó en la determinación de la concentración de leptina plasmática.

5.4.2 Polimorfismos en genes relacionados con la ingesta energética

5.4.2.1 Polimorfismo rs4684677 del gen GHRL

En el presente trabajo se ha analizado el polimorfismo rs4684677 (Leu90Gln) situada en el exón 4 del gen GHRL. Esta variante presenta una prevalencia muy baja en la población, con una frecuencia alélica del alelo A de 0,046. Esta frecuencia es similar a la observada en otros estudios realizados en población europea (Wieczorek S et al, 2010), incluida la cohorte del estudio EPIC que incluye individuos de 10 países europeos (Dossus L et al, 2008). Sin embargo, en otros estudios realizados también con población europea el alelo T fue considerado el menos prevalente, con una frecuencia de 0,06-0,08 (Hinney A et al, 2002; Gueorguiev M et al, 2009). Por otro lado, se ha observada una frecuencia similar del alelo A a la observada en este estudio en población canadiense (Martin GR et al, 2008).

La ghrelina actúa como hormona endocrina en el tracto gastrointestinal y en el cerebro interviniendo en la regulación de la ingesta y el balance energético (Tschöp M et al, 2000; Wren AM et al, 2001). Por ello, un fallo en su regulación puede ser crucial en la etiología de la obesidad (Eisenstein J et al, 2003). De hecho, variaciones genéticas con baja prevalencia ubicados en la región codificante del gen de la ghrelina se han vinculado con el desarrollo de la obesidad (Ukkola O et al, 2001).

En el presente estudio el alelo de menor prevalencia del polimorfismo rs4684677 se ha mostrado como un factor protector frente al riesgo de obesidad, incluso tras ajustar por sexo y edad. Este polimorfismo fue identificado por primera vez por Hinney A et al (2002) en población adolescente europea donde tras el análisis del genotipo consideraron que se producía un cambio de Gln a Leu, de manera que el alelo menos frecuente era el alelo T. En este sentido, observaron una menor prevalencia del alelo menor en niños y adolescentes con obesidad extrema, aunque esta misma tendencia fue observada en individuos adultos nomopeso y entre estudiantes que presentaban un peso inferior a lo normal. Tras este hallazgo diversos estudios se han sucedido en varias poblaciones. Así, en una cohorte francesa que incluía 263 familias con miembros obesos, el polimorfismo rs4684677 se asoció con obesidad, aunque en este caso el alelo T se consideraba también el alelo minoritario, por lo que el alelo A se asoció con mayor IMC, en cambio, estos resultados no fueron replicados en una cohorte alemana formada por individuos con un temprano desarrollo de obesidad extrema (Gueorguiev M et al, 2009). Paralelamente, otros estudios no han encontrado relación entre esta variante genética y el riesgo de obesidad tanto en población europea (Vivenza D et al, 2004; Dossus L et al, 2008) como en población caucasica americana descendiente de población europea (Steinle NI et al, 2005).

El mecanismo biológico que vincula el rs4684677 con parámetros relacionados con la obesidad se desconocen. El gen de la ghrelina da lugar a un péptido pre-proghrelina que tras sufrir modificaciones postraduccionales puede originar dos hormonas gastrointestinales; la ghrelina y otra de menor tamaño, la obestatina (Zhang JV et al, 2005). El polimorfismo rs4684677 se encuentra en una región conservada en la obestatina, cuyos efectos se ha postulado que pueden ser opuestos a los de la ghrelina, considerándose inicialmente la obestatina como un péptido anorexigénico (Zhang JV et al, 2005; Lagand GJ et al, 2007; Green BD et al, 2007), aunque estos efectos no están todavía claramente dilucidados (Gourcerol G et al, 2007; Holst B et al, 2007; Samson WK et al, 2007). Por ello, sería interesante profundizar en el estudio del mecanismo de acción de ambas hormonas, así como del posible efecto del rs4684677 en su funcionalidad para tratar de dilucidar su vinculación con la obesidad, y la variante implicada o si el alelo de menor prevalencia varía según determinadas poblaciones, como también ayudar a

determinar si estas asociaciones son debidas al azar dada la baja prevalencia de dicha variante genética.

Por otro lado, en esta población de elevado riesgo cardiovascular los portadores del alelo A mostraron mayor concentración de c-HDL tras ajustar por factores de confusión, siendo esta asociación más fuerte en mujeres, aunque no se detectó una interacción estadísticamente significativa con el sexo. En este caso, las diferencias según el sexo pueden ser debidas a un menor tamaño de muestra en los hombres junto con la baja prevalencia de la variante genética.

En este sentido, estudios previos han encontrado que la concentración de ghrelina en plasma se correlaciona de manera positiva con el c-HDL (Purnell JQ et al, 2003; Poykko SM et al, 2003). En otros estudios se detectó una unión específica entre la ghrelina y el c-HDL (Beaumont NJ et al, 2003), sugiriendo la posibilidad de que el c-HDL actúe como transportador de la ghrelina en la circulación (Purnell JQ et al, 2003). Otros estudios han corroborado la modulación de la concentración de c-HDL por polimorfismos situados en el gen GHRL (Choi HJ et al, 2006; Martin GR et al, 2008; Hubacek JA et al, 2007). Martin GR et al (2008) detectó en población canadiense una asociación entre el polimorfismo rs4684677 con los niveles de c-HDL, aunque estos resultados se quedaron en el límite de la significación.

Por otro lado, la relación entre el rs4684677 y la concentración de c-HDL se mostró influenciada por el hábito tabáquico, ya que solo entre los no fumadores los portadores A presentaban mayor concentración de c-HDL, siendo resistentes los individuos fumadores a los efectos del rs4684677 sobre el c-HDL. Sin embargo, la interacción gen*tabaco no fue significativa, debido probablemente a la baja prevalencia tanto de la frecuencia del alelo minoritario como de fumadores en la muestra estudiada. En cambio, si se observó una modulación del IMC en función de la interacción gen*tabaco de manera significativa (p interacción rs4684677*consumo de tabaco=0,037). De este modo, se observó que los portadores del alelo A presentaban menor IMC y menor riesgo de obesidad solo en el caso de los no fumadores, sin encontrarse este efecto entre los fumadores. No se han hallado estudios previos que consideren la modulación de los efectos del polimorfismo rs4684677 por el consumo de tabaco, por ello, estudios adicionales se requieren para confirmar tales interacciones.

En conclusión, el polimorfismo rs4684677 se ha asociado con un menor riesgo de obesidad entre los portadores del alelo minoritario A, así como con un incremento en la concentración de c-HDL, siendo más fuerte esta asociación en mujeres. Además, dicho efecto sobre la obesidad y el c-HDL se ha mostrado modulado por el hábito tabáquico. Serán necesarios futuros estudios que confirmen

la modulación de los efectos de esta variante sobre la obesidad y la concentración de c-HDL según el consumo de tabaco.

5.4.2.2 Polimorfismo rs572169 del gen GHSR

El gen GHSR está localizado en un locus del cromosoma 3q26-q29 que se ha vinculado con diferentes fenotipos presentes en el síndrome metabólico (Baessler A et al, 2005). El receptor de la ghrelina junto con su ligando endógeno, la ghrelina, proporcionan una señal que estimula el apetito, contrarestando un gran número de señales inhibitorias mediadas por la leptina, la insulina y el PYY (Cummings DE et al, 2003; Barazzoni R et al, 2003). Además, durante el ayuno se ha demostrado que se produce un incremento en la expresión de GHSR, indicando que este hecho puede conducir a un aumento de la señalización del receptor y, por lo tanto, en una mayor sensación de apetito (Kim MS et al, 2003). Por ello, variaciones genéticas en el gen GHSR pueden modificar la expresión del mismo, produciendo alteraciones en la regulación del apetito.

En este trabajo se ha estudiado el polimorfismo rs572169 del gen GHSR, localizado en el exón 1, siendo una de las variantes con resultados controvertidos en la literatura. La frecuencia del alelo A en la población analizada en este estudio sigue el mismo patrón que el observado en otros estudios llevados a cabo en población europea (0,27-0,31) (Wang HJ et al, 2004; Baessler A et al, 2005; Garcia EA et al, 2008) y en familias caucásicas norteamericanas (0,29) (Baessler A et al, 2005). Aunque en el estudio realizado por Gueorguiev M et al (2009) también en población europea la frecuencia del alelo A fue levemente inferior (0,20).

La asociación entre polimorfismos y haplotipos de la región del gen GHSR y la obesidad humana ha sido evaluada en diversos estudios. Baessler A et al (2005) observó que el polimorfismo rs572169 se encuentra incluido en un bloque de desequilibrio de ligamiento asociado con obesidad en población caucásica americana formada por 178 familias con miembros con obesidad, confirmándose en el mismo estudio esta asociación en población general formada por individuos caucásicos europeos. Esta asociación fue replicada en una cohorte francesa que incluía 263 familias con miembros obesos, aunque no se corroboró esta asociación en población alemana formada por individuos con un temprano desarrollo de obesidad extrema (Gueorguiev M et al, 2009).

En contraposición, Wang HJ et al (2004) no obtuvieron evidencia de asociación entre polimorfismos del gen GHSR, entre los cuales estaba incluido el rs572169, y la regulación del peso corporal en una población formada por niños y adolescentes de origen alemán. Posteriormente, otros estudios han indicado la falta de asociación entre distintos polimorfismos del gen GHSR, incluido el rs572169,

con fenotipos relacionados con la obesidad en distintas poblaciones europeas (Garcia EA et al, 2008, Gjesing AP et al, 2010). En la línea de estos resultados, en esta población de elevado riesgo cardiovascular el polimorfismo rs572169 del gen GHSR no se ha mostrado como indicador de riesgo de obesidad, ni se ha asociado con fenotipos relacionados con la misma. La falta de concordancia en los resultados se desconoce, se ha especulado que dada la falta de confirmación por parte de otros estudios es posible que esta relación podría haber sido debido al azar o que esta asociación pueda ser modificada por factores ambientales o genéticos, ya que variaciones en el gen de la ghrelina (GHRL) pueden contribuir al riesgo de obesidad directamente o por la interacción con variantes del gen GHSR (Garcia EA et al, 2008).

En conclusión, en esta población de elevado riesgo cardiovascular el polimorfismo rs572169 del gen GHSR no se ha asociado con el riesgo de obesidad, tampoco se han observado variaciones según el genotipo con parámetros relacionados con la obesidad.

5.4.2.3 Polimorfismo rs1058046 del gen PYY

La frecuencia del alelo R del polimorfismo rs1058046 (T72R) observada en la población estudiada es similar a la obtenida en población europea (Hung CC et al 2004; Torekov SS et al, 2005; Lavebratt C et al, 2006; Siddiq A et al, 2007; Du H et al, 2011), y en población canadiense (Ahituv N et al, 2006). Sin embargo, en Africa Subsahariana la frecuencia de este alelo es inferior, incluso en Asia se ha observado que el alelo R presenta una frecuencia completamente invertida (Shih PA et al, 2009).

El polimorfismo rs1058046 se encuentra localizado en una posición muy próxima al punto de proteólisis de la preproteína PYY, ubicado en el extremo C-terminal (Cerdá-Reverter JM et al, 2000). El proceso proteolítico del péptido PYY permite la existencia de dos formas endógenas de esta proteína en el torrente circulatorio. En un estudio realizado en humanos se observó que ambas formas no presentaban los mismos efectos, ya que mientras la administración del PYY₃₋₃₆ producía una sensación de saciedad, la toma de la forma PYY₁₋₃₆ no proporcionó cambios en la sensación de apetito (Sloth B et al, 2007). Por ello sus efectos sobre el riesgo de obesidad y factores relacionados ha sido objeto de estudio en diversos trabajos.

Así pues, el alelo que codifica para la Arg, la R, se ha observado de manera más prevalente en individuos diabéticos, además de asociarse con intolerancia a la glucosa y sobrepeso en población del norte de Europa (Torekov SS et al, 2005). Este polimorfismo también se ha relacionado con diferencias en la ganancia de

peso según el genotipo en población control, formada principalmente por individuos que no muestran una fácil ganancia de peso, aunque sin alcanzar la significación al ajustar por factores de confusión (Du H et al, 2011). Sin embargo, otros estudios llevados a cabo también en población europea han detectado una ausencia de asociación del polimorfismo rs1058046 con parámetros relacionados con la obesidad (Hung CC et al, 2004; Lavebratt C et al, 2006; Siddiq A et al, 2007). Además, se ha indicado la probabilidad de que este polimorfismo se encuentre en un punto de procesamiento de la proteína, sin embargo, se ha observado un efecto similar para ambos alelos (Cartegni L et al, 2003). De manera paralela, en el presente estudio no se ha encontrado asociación entre este polimorfismo y el riesgo de obesidad o DMT2, en población de elevado riesgo cardiovascular.

Por otro lado, las discrepancias encontradas en la asociación del polimorfismo rs1058046 con parámetros relacionados con la obesidad también pueden ser debidas a la influencia de factores ambientales. Así, en el presente estudio se ha observado como el consumo de frutos secos influye en el efecto del polimorfismo sobre la determinación del IMC. En un estudio previo se evaluó la modulación genética del polimorfismo rs1058046 en la pérdida de peso en respuesta a dietas bajas en grasa o carbohidratos, sin detectarse un efecto de este polimorfismo en dicha modulación (Seip RL et al, 2008). En el presente estudio el rs1058046 tampoco mostró diferencias en parámetros relacionados con la obesidad según la diferente adherencia a la DM. Sin embargo, entre los componentes más característicos de la DM se observó una interacción con el consumo de frutos secos (p interacción rs1058046*frutos secos=0,038). Existe abundante evidencia científica que indica que los frutos secos a pesar de su alto valor calórico, un consumo moderado a penas produce cambios en el peso e incluso pueden llegar a asociarse de manera inversa con la adiposidad (Hu FB et al, 1998; García-Lorda P et al, 2003; Casas-Agustench P et al, 2010). Esto puede ser atribuido a un efecto saciante por parte de los frutos secos, así como una menor absorción de las grasas (García-Lorda P et al, 2003). Paralelamente, se ha observado que el consumo de frutos secos induce la liberación de hormonas que suprimen el apetito, detectándose esta tendencia en el PYY, aunque sin alcanzar la significación estadística (Pasman WJ et al, 2008). En este sentido, en esta población de elevado riesgo cardiovascular un consumo de más de 3 veces por semana de frutos secos se asoció entre los portadores T con un descenso en el IMC y un menor riesgo de obesidad, quedándose estos resultados en el límite de la significación. Por ello, son necesarios más estudios que examinen la modulación de los efectos del rs1058046 no solo según un patrón dietético, sino también según el consumo de alimentos específicos e incluso nutrientes sobre la sensación de saciedad y su consecuente asociación con la obesidad.

En conclusión, en población mediterránea el polimorfismo rs1058046 no se ha asociado con el riesgo de obesidad o DMT2 ni con fenotipos relacionados con ambas patologías. En cambio, se ha observado una modulación de los efectos del polimorfismo sobre el IMC según el consumo de frutos secos, cuya asociación con el riesgo de obesidad entre los consumidores de frutos secos se quedó en el límite de la significación, por lo que sería interesante que futuros estudios analizaran la modulación de los efectos del polimorfismo según el consumo de determinados alimentos o nutrientes.

5.4.2.4 Polimorfismo rs17782313 del gen MC4R

En este estudio se ha analizado el polimorfismo rs17782313 situado a 188Kb del gen MC4R. El alelo C presenta una frecuencia similar a la observada en población europea (Loss RJ et al, 2008; Qi L et al, 2008; Haupt A et al, 2009; Kring SI et al, 2010). En individuos europeos-americanos se ha detectado una frecuencia dentro del mismo rango, sin embargo, en africanos-americanos el alelo C presenta una frecuencia levemente superior (Liu G et al, 2010).

Recientemente, estudios de GWA destinados a la identificación de variaciones genéticas que influyen en el desarrollo de la obesidad, identificaron al polimorfismo rs17782313, entre otros, como un fuerte determinante del riesgo de obesidad, siendo el alelo minoritario C el alelo de riesgo (Loos RJ et al 2008; Chambers JC et al, 2008). Tras estos hallazgos, numerosos estudios independientes se han sucedido indicando la asociación entre este polimorfismo y la obesidad y fenotipos relacionados con la misma, tales como el peso, el perímetro de la cintura y el IMC en diversas poblaciones (Qi L et al, 2008; Haupt A et al, 2009; Liu G et al, 2010; Beckers S et al, 2011). A pesar de no conocerse el mecanismo biológico que subyace la vinculación entre el rs17782313 con la obesidad, se ha postulado que al situarse en una región donde está ubicado el gen MC4R, el cual está envuelto en la regulación del consumo de energía y del apetito (Tao YX et al, 2005), puede estar implicado en la modulación de su expresión (Zobel DP et al, 2009).

En el presente estudio, los portadores C mostraron mayor peso, quedándose en el límite de la significación la asociación con el riesgo de obesidad. Este hecho podría deberse a que este estudio se ha realizado en población de edad avanzada con alto riesgo cardiovascular, ya que estudios previos mostraron que la asociación de este polimorfismo con el riesgo de obesidad o fenotipos relacionados se debilita con la edad (Cauchi S et al, 2009; Hardy R et al, 2010). Además, diversos estudios han mostrado una interacción gen*sexo en la determinación de los fenotipos relacionados con la obesidad. Sin embargo, los resultados son inconsistentes ya que en población sueca y en europea-americana la asociación se ha detectado en

mujeres (Renström et al, 2009; Liu G et al, 2010), mientras que en población francesa se ha observado en hombres (Cauchi S et al, 2009). En esta población no se ha detectado heterogeneidad según el sexo, por lo que sería interesante que futuras investigaciones trataran de dilucidar si el sexo modula la asociación entre el polimorfismo y la obesidad.

Además, en este estudio los portadores C también mostraron mayor concentración de triglicéridos y de AGNE circulantes. Otros estudios han observado una asociación entre variantes del gen de la MC4R con alteraciones en la concentración de triglicéridos (Bronner G et al, 2006). Esta relación puede ser debida a que el desarrollo de la obesidad se ha relacionado con un incremento en la concentración tanto de triglicéridos como de AGNE (Carr MC et al, 2004; Boden G et al, 2008). Por lo que esta alteración en el metabolismo lipídico puede ser vinculada con la influencia del MC4R en la regulación de la homeostasis de la energía (Garfield AS et al, 2009).

Por otro lado, el rs17782313 también se ha vinculado con el desarrollo de la resistencia a la insulina y la DMT2 (Loss RJ et al, 2008; Qi L et al, 2008), aunque esta asociación no ha sido confirmada en otros estudios (Haupt A et al, 2009, Liu G et al, 2009). En este sentido, se ha propuesto que el efecto diabetogénico de este polimorfismo puede estar mediado a través de su vinculación con la obesidad, ya que el aumento de peso se asocia con un aumento de la resistencia a la insulina y consecuentemente con la aparición de diabetes (Zobel DP et al, 2009; Cauchi S et al, 2009). En esta población no se ha encontrado asociación con DMT2, aunque el incremento de AGNE entre los portadores C puede ser un indicador del efecto del rs17782313 sobre el desarrollo de DMT2 vinculado con la obesidad, ya que el aumento de ácidos grasos se asocia con la aparición de resistencia a la insulina (Pankow JS et al, 2004).

Por otro lado, diversos estudios han analizado la modulación de los efectos del polimorfismo por factores ambientales. Sin embargo, aunque se ha indicado que este alelo puede modular el patrón alimenticio en individuos europeos (Stutzman F et al, 2009), no se han detectado interacciones singnificativas entre la ingesta alimentaria o la actividad física con el polimorfismo en la determinación de fenotipos relacionados con la obesidad o la DMT2 (Qi L et al, 2008; Cauchi S et al, 2009; Haupt A et al, 2009). Sin embargo, en el presente estudio se ha observado una modulación del efecto del rs17782313 en la concentración de AGNE según la frecuencia de consumo de legumbres (p interacción rs17782313*consumo de legumbres=0,007). Concretamente, los individuos portadores del alelo C presentaban mayores niveles de AGNE plasmáticos si su consumo de legumbres era inferior a 3 veces por semana, sin detectarse diferencias según el genotipo entre los que tenían un consumo más elevado. Las legumbres presentan un bajo índice

glicémico y un alto contenido en fibra (Villegas R et al, 2008). Se ha observado que una asociación inversa entre la frecuencia de consumo de legumbres y la concentración de glucosa, en población europea (Feskens EJ et al, 1995) y en individuos de edad avanzada también de población europea (Feskens EJ et al, 1991). Además, existe evidencia que indica que el consumo de legumbres y cereales reduce la sensibilidad a la insulina y la hiperinsulinemia, relacionadas ambas con los niveles de AGNE plasmáticos, en pacientes con enfermedad arterio-coronaria con y sin diabetes (Jang Y et al, 2001).

Además, la influencia del genotipo en la concentración de AGNE también se ha visto modulada por el hábito tabáquico, detectándose una interacción gen*tabaco (p interacción rs17782313*tabaco=0,009). En este caso, solo en individuos fumadores se observaron diferencias según el genotipo en la concentración de AGNE, mostrando los homocigotos TT menor concentración respecto a los portadores del alelo C, sin detectarse estas diferencias entre los no fumadores. De manera inversa al consumo de legumbres, fumar puede incrementar la resistencia a la insulina (Chiolo A et al, 2008), siendo dependiente el aumento de la resistencia a la insulina con el aumento del consumo de tabaco (Facchini FS et al, 1992). Además, los individuos fumadores también presentan mayor riesgo de DMT2 (Eliasson B, 2003; Willi C et al, 2007). Por ello, el efecto del polimorfismo rs17782313 sobre parámetros relacionados con el desarrollo de DMT2 puede estar mediado por factores ambientales que podrían explicar la falta de asociación del polimorfismo con el riesgo de DMT2 en diversos estudios. Sin embargo, es necesario que otras investigaciones confirmen la interacción entre el rs17782313 y el consumo de legumbres y tabaco u otros factores ambientales relacionados con el desarrollo de resistencia a la insulina en la modulación de los efectos del polimorfismo.

En conclusión, el polimorfismo rs17782313 localizado en una región en la que se encuentra el gen MC4R se ha asociado con IMC y con la concentración de triglicéridos y AGNE plasmáticos, en esta población de edad avanzada con elevado riesgo cardiovascular. Sin embargo, la asociación con el riesgo de obesidad se ha observado algo más limitada. Por otro lado, el efecto del polimorfismo rs17782313 sobre la concentración de AGNE se ha observado que esta modulada por el consumo de legumbres y por el hábito tabáquico.

5.4.2.5 Polimorfismos del gen CNR1

El receptor CB1 del sistema endocannabinoide esta codificado por el gen CNR1. En humanos, antagonistas del CB1 inducen a una pérdida de peso, reducen la ingesta de alimentos y mejoran el perfil lipídico (Van Gaal LF et al, 2005; Despres JP et al, 2005; Pi-Sunyer FX et al, 2006). Por ello, se indicó que

variaciones genéticas en el CNR1 podrían tener un efecto sobre la adiposidad. En este sentido, diferentes estudios han sugerido que existe asociación entre varios polimorfismos del CNR1 y obesidad en diversas poblaciones (Gazzerro P et al, 2007; Peeters A et al, 2007; Russo P et al, 2007; Müller TD et al, 2007). En el presente trabajo se han analizado el posible efecto de los polimorfismos rs806381 y rs6454674 en esta población de elevado riesgo cardiovascular.

Las frecuencias del alelo G del polimorfismo rs806381 observada en esta población muestra el mismo patrón que el obtenido en distintas poblaciones europeas (Benzinou M et al, 2008; Frost M et al, 2010). Igualmente, para el alelo G del polimorfismo rs806381 se ha obtenido una frecuencia similar a la observada en población con origen principalmente europeo (Feng Q et al, 2010). Además, en el presente estudio se ha observado que ambos polimorfismos presentan un fuerte desequilibrio de ligamiento, de manera consistente con un estudio previo en población europea que indica que ambos polimorfismos se encuentran en el mismo bloque haplotípico (Benzinou M et al, 2008).

En esta población de elevado riesgo cardiovascular los individuos homocigotos GG para ambos polimorfismos presentaron mayor IMC que los individuos heterocigotos u homocigotos para el alelo más prevalente, alcanzando la significación para el rs806381 incluso tras ajustar por factores de confusión. En este sentido, Benzinou M et al (2008) detectó que el alelo G del polimorfismo rs806381 se asociaba con mayor riesgo de obesidad en un estudio de casos y controles en población francesa. En este mismo estudio, se observó que el alelo G se asociaba con un incremento del IMC tanto en población obesa de origen suizo, como en población general danesa. Además, diversos estudios han indicado que ambos polimorfismos se han asociado con distintos efectos metabólicos (Dinu IR et al, 2009).

De hecho, en el presente estudio también se ha observado que los individuos homocigotos GG muestran mayor concentración de leptina plasmática respecto a los portadores del genotipo heterocigoto u homocigoto para el alelo más prevalente, detectándose esta asociación de manera significativa para ambos polimorfismos. En un estudio previo también se observó como entre variantes el gen CNR1 mostraban una nominal asociación ($p < 0,05$) con los niveles de leptina, tras ajustar por sexo, edad e IMC, aunque no se conservaron tras múltiples ajustes (Schleinitz D et al, 2010). En este sentido, se ha observado que los endocannabinoides aumentan el consumo de alimentos a través de su interacción con el sistema de leptina y los circuitos neuronales reguladores del apetito (Di Marzo V et al, 2001; Jo YH et al, 2005). Además, se ha observado que en ratones deficientes para el gen CNR1 muestran una resistencia a la ganancia de peso tras el seguimiento con dietas hipocalóricas, junto con un descenso en los niveles de

leptina e insulina (Ravinet TC et al, 2004). Además, la hiperactivación del receptor CB1 a nivel de los tejidos periféricos puede estar relacionado con el desarrollo de ciertas condiciones fisiopatológicas adversas (Kunos G et al, 2009). Por ello, sería interesante que futuras investigaciones analizaran el efecto de estos polimorfismos en la actividad funcional del receptor CB1 y su relevancia con fenotipos relacionados con la obesidad.

Además, se ha observado una interacción entre ambos polimorfismos y el sexo en la determinación del peso y la concentración de leptina, quedándose en el límite de la significación la interacción con el polimorfismo rs6454674 para el peso (peso: p interacción rs806381*sexo=0,005, p interacción rs6454674*sexo=0,095; leptina: p interacción rs806381*sexo=0,024, p interacción rs6454674*sexo=0,006). Así en esta población se observa un mayor efecto de estos polimorfismos en mujeres, donde las homocigotas GG presentan mayor peso y concentración de leptina respecto a los otros genotipos en ambos polimorfismos, observándose una tendencia opuesta en hombres, aunque sin alcanzar la significación estadística. En este sentido, el polimorfismo rs806381 no mostró asociación con IMC en una población de hombres daneses, y en función de la distribución de la grasas solo mostró una asociación, aunque sin tendencia, con la grasa visceral, pero no se detectaron diferencias según el genotipo con la grasa intermuscular, indicando una diferente asociación de variantes del CNR1 en función de la distribución de la grasa corporal (Frost M et al, 2010). Además, existe un dimorfismo sexual tanto en la distribución de la grasa corporal (Wells JC, 2007) como en los niveles de leptina (Saad MF et al, 1997; Pardo IM et al, 2004). Sin embargo, son necesarios más estudios para confirmar si los efectos de ambos polimorfismos están modulados por el sexo, o son debidos al azar o a las características de la población estudiada.

Por otro lado, el haplotipo formado por los homocigotos GG de ambos polimorfismos frente al haplotipo formado por los individuos homocigotos AA del rs806381 y los homocigotos TT del rs6454674 también mostraron mayor IMC y leptina. Benzinou M et al (2008) no pudo distinguir entre el efecto que los polimorfismos rs806381 y rs6454674 ejercen sobre la obesidad. Sin embargo, en esta población al comparar los homocigotos GG frente a los homocigotos de alelo más prevalente para cada uno de los polimorfismos rs806381 (GG vs AA) y rs6454674 (GG vs TT) respectivamente, se observa un efecto similar en ambos polimorfismos en el aumento del IMC, sin embargo, el rs6454674 ejerce un mayor efecto en el incremento de la concentración de leptina según el genotipo (rs806381: IMC 3,7% y leptina 31,0%, rs6454674: IMC 3,6% y leptina 33,0%). Además, al analizar estas diferencias según el haplotipo de ambos polimorfismos se potencia más este incremento tanto en el IMC como en la concentración de leptina, que el que produce cada polimorfismo de manera independiente.

Además, se ha observado que el efecto de ambos polimorfismos sobre el IMC y la concentración de leptina se encuentra modulado por el consumo de verduras u hortalizas obteniéndose una interacción significativa en todos los casos salvo la interacción del rs6454674 para la determinación del IMC, que se mostró en el límite de la significación (IMC: p interacción rs806381*consumo de verduras u hortalizas<0,001, p interacción rs6454674*consumo de verduras u hortalizas=0,060; leptina: p interacción rs806381*consumo de verduras u hortalizas<0,001, p interacción rs6454674*consumo de verduras u hortalizas=0,013). Concretamente, se observó que los individuos homocigotos GG para ambos polimorfismos presentaban mayor IMC y concentración de leptina plasmática de manera estadísticamente significativa cuando su consumo de verduras y hortalizas al día era menor de dos veces al día. Sin embargo, no se detectaron diferencias en el IMC o la leptina en aquellos individuos cuyo consumo de verduras y hortalizas era más elevado. Las verduras, así como las frutas, poseen una baja densidad energética debido a su alto contenido en agua y baja cantidad de energía (Drewnowski A et al, 2004(b)). Además, presentan un alto contenido en fibra, relacionada con la reducción del apetito y el aumento de la saciedad (Rolls BJ et al, 2004), como también poseen flavonoides, compuestos fotoquímicos que pueden presentar efectos contra la obesidad (Hughes LA et al, 2008). Diversos estudios han indicado que el consumo de verduras, o de verduras combinado con frutas, se asocian con una menor ganancia de peso (Kahn HS et al, 1997; He K et al, 2004; Vioque J et al, 2008; Buijsse B et al, 2009). Además, un consumo de verduras, a pesar de no encontrarse diferencias en este estudio, se ha observado que se asocia de manera inversa con la concentración de leptina, y esta relación puede ser debida a su alto contenido en fibra (Murakami K et al, 2007).

En conclusión, los homocigotos GG de los polimorfismos rs806381 y rs6454674 han mostrado asociación con fenotipos relacionados con la obesidad, observándose estas asociaciones de forma más marcada en mujeres. Además, el haplotipo formado por ambos polimorfismos presenta un mayor incremento en el IMC y la concentración de leptina que el efecto independiente producido por cada polimorfismo. También se ha detectado una modulación de los efectos de los polimorfismos sobre el IMC y la leptina según el consumo de verduras y hortalizas. Estudios experimentales que ayuden a entender el efecto de estos polimorfismos sobre la funcionalidad del receptor CB1 pueden contribuir al desarrollo de nuevas dianas para la prevención y tratamiento de la obesidad, incluso con el uso de recomendaciones dietéticas específicas.

5.4.2.6 Polimorfismo rs925946 del gen BDNF

El factor BDNF, además de su vinculación con trastornos mentales, también se ha identificado como un componente del control hipotalámico para la regulación del peso corporal y la homeostasis de la energía (Wisse BE et al, 2003).

En este sentido, estudios de GWA han identificado la región donde se encuentra ubicado el gen BDNF como un loci susceptible para la obesidad, con la identificación de distintos polimorfismos asociados con la misma (Thorleifsson G et al, 2009; Willer CJ et al, 2009). En el presente trabajo se ha analizado el polimorfismo rs925946. La frecuencia obtenida para el alelo T se encuentra en el rango de valores observados en población europea y americana (Thorleifsson G et al, 2009). Sin embargo, en población asiática este alelo ha mostrado una frecuencia muy disminuida respecto del resto de poblaciones (0,04) (Ng MC et al, 2010).

Posteriores estudios han analizado la asociación entre el polimorfismo rs925946 y diferentes medidas relacionadas con la obesidad, observando un incremento en el IMC, peso y perímetro de la cintura entre los portadores del alelo T en distintas poblaciones europeas (Bauer F et al, 2009; Li S et al, 2010), así como un mayor riesgo de obesidad y sobrepeso (Li S et al, 2010). Sin embargo, en este estudio no se observaron diferencias en parámetros relacionados con la obesidad, ni en el riesgo de obesidad según el genotipo. En este sentido, existe inconsistencia en los resultados entre los niveles de BDNF y el riesgo de DM2 y obesidad en humanos (Suwa M et al, 2006; Krabbe KS et al, 2007). Sin embargo, se ha detectado que los niveles de BDNF están correlacionados positivamente con los de triglicéridos, glucosa y resistencia a la insulina (Levinger I et al, 2008). Además, se ha observado en individuos de media y avanzada edad que los niveles de BDNF están asociados con diversos indicadores metabólicos de riesgo cardiovascular (Golden E et al, 2010). Así pues, más estudios en población de elevado riesgo cardiovascular son necesarios para indicar la posible influencia del polimorfismo rs925946 del gen BDNF sobre la obesidad, o si esta falta de asociación con obesidad a sido debida al azar o incluso a la influencia de factores ambientales.

En este sentido, se ha detectado una interacción entre el polimorfismo rs925946 y el consumo de tabaco que determina el perímetro de la cintura (p interacción rs925946*tabaco=0,014). Se observó que en individuos fumadores, los portadores T presentan mayor perímetro de la cintura respecto a los homocigotos GG, sin observarse diferencias entre los no fumadores. No se han encontrado estudios previos que analizaran esta interacción, sin embargo, variantes en el gen BDNF se han asociado con una mayor disposición al consumo de tabaco en población caucásica (Laug UE et al, 2007). Además, en un estudio realizado para

evaluar los efectos del tabaco en los niveles de BDNF, se ha observado que los fumadores presentan menores niveles, produciéndose un incremento tras 2 meses de abandono del tabaco (Kim TS et al, 2007). Se desconoce el posible efecto del polimorfismo rs925946 en la concentración de BDNF, aunque los niveles disminuidos en individuos fumadores podrían hacer más latente su modulación. De todos modos, son necesarios más estudios que den consistencia a esta interacción, para confirmar las diferencias en el efecto del polimorfismo según el consumo de tabaco.

Por otro lado, en este estudio se encontró una asociación entre los portadores T y un aumento de los niveles de PAD, así como un incremento en el riesgo de HTA. No se han encontrado estudios previos que analizaran la influencia de este polimorfismo en el riesgo de HTA. Sin embargo, otros estudios han detectado asociación entre la presión arterial y variantes del gen BDNF (Hong KW et al, 2010). El BDNF y el receptor tirosina quinasa B (Trk B) están distribuidos por el tronco del núcleo cerebral pudiendo regular la presión arterial (Kato-Semba R et al, 1997; Yan Q et al, 1997). De hecho, se ha observado que niveles elevados en plasma de BDNF se asocian con un incremento de presión arterial (Golden E et al, 2010). Aunque también sería interesante que este efecto en el riesgo de HTA según el genotipo del polimorfismo rs925946 fuera corroborado en otros estudios con población de elevado riesgo cardiovascular.

En conclusión, en esta población de elevado riesgo cardiovascular el polimorfismo rs925946 no se ha mostrado como un marcador del riesgo de obesidad, aunque se ha detectado una interacción con el consumo de tabaco, encontrándose una asociación con el perímetro de la cintura solo en individuos fumadores. Sin embargo, se ha mostrado por primera vez una asociación con el riesgo de hipertensión. Serán necesarios futuros estudios que confirmen estas observaciones en poblaciones con similares características que contribuyan a dilucidar los complejos mecanismos en los que está involucrado el BDNF.

5.4.2.7 Polimorfismo rs2880411 del gen NPY2R

El NPY2R es un receptor con 7 dominios transmembrana acoplado a una proteína G a través de la cual transmite su señal (Misra S et al, 2004). Se encuentra altamente expresado en el sistema nervioso central, con gran representación en el núcleo arcuado del hipotálamo, siendo uno de los más importantes centros reguladores del apetito (Broberger C et al, 1997). Diversos estudios han analizado la asociación entre polimorfismos del gen NPY2R con obesidad, en el presente estudio se ha analizado el polimorfismo rs2880411.

Este polimorfismo fue analizado en la cohorte del estudio Framingham, sin hallarse otras referencias en la literatura científica que examinaran esta misma variante. De modo que para poder establecer una mayor comparación entre las frecuencias obtenidas en el presente estudio con las observadas en otras poblaciones se referenciaron las disponibles en la base de datos Hapmap (<http://hapmap.org>). De esta manera, la frecuencia del alelo G obtenida en esta población mediterránea es similar a la indicada en población europea en la base de datos del proyecto HapMap. Sin embargo, el alelo G presenta una frecuencia más elevada en población africana que en europea, en cambio en asiáticos, tanto en población china como japonesa, la frecuencia de este alelo es aproximadamente una tercera parte de la europea.

En el estudio Framingham realizaron un análisis del GWA entre polimorfismos contenidos en un chip genómico (100Kaffymetrix) y su asociación con diversas medidas de adiposidad (Fox CS et al, 2007(a)). Entre la gran variedad de polimorfismos que mostraron asociación con estas medidas, el rs28804111 se asoció tanto con IMC como con el perímetro de la cintura. En esta población de elevado riesgo cardiovascular, esta asociación fue detectada solo en individuos obesos, donde los portadores G presentaron mayor IMC frente a los homocigotos TT, quedándose en el límite de la significación tras ajustar por factores de confusión. En este sentido, en el estudio de intervención *Inter99* realizado con población europea para la prevención de enfermedades cardiovasculares también observaron como otra variante localizada en la región 5' del gen NPY2R mostraba solo asociación con IMC entre el grupo de individuos con IMC mayor o igual 28kg/m^2 , mientras que no se alcanzó la significación en el grupo de individuos con IMC inferior (Torekov SS et al, 2006). El hecho de que variantes del gen NPY2R presenten mayor influencia en individuos obesos en ciertas poblaciones podría deberse a la existencia de una modulación de los efectos del polimorfismo por factores ambientales. En este sentido, en esta población se ha detectado una interacción entre el polimorfismo rs2880411 y el consumo de carne roja y derivados cárnicos en la determinación del IMC (p interacción rs2880411*consumo de carne roja y derivados cárnicos=0,020). De modo que los portadores G presentaban mayor IMC solo si mostraban un consumo diario de carnes rojas o sus derivados cárnicos, sin encontrarse diferencias con un menor consumo. En este sentido, el consumo elevado de carnes rojas se ha asociado con un incremento del IMC, así como con un elevado riesgo de síndrome metabólico, explicando esta asociación debido a su alto contenido en colesterol y AGS (Azadbakht L et al, 2009). Paralelamente, en un estudio realizado en animales se ha mostrada que una semana de alimentación con una dieta rica en AGS dio lugar a un descenso del 50% y el 20% de la expresión del NPY en el núcleo arcuato del hipotálamo en comparación con una dieta baja en grasa o una dieta rica en AGP, respectivamente (Wang H et al, 2002). Además en modelos animales se ha

observado que el NPY2R regula la producción de NPY, AgRP, POMC y CART y los cambios de producción están asociados con diferencias en la ingesta alimentaria (Sainsbury A et al, 2002). Por lo que diferencias en el patrón alimenticio según las poblaciones puede modular los efectos del polimorfismo. De hecho, se ha observado que en países como los EE.UU. la principal fuente alimentaria de AGS proviene en parte del alto consumo de carnes rojas (US Department of Health and Human Services, 2005). En cambio en los países del sur de Europa se caracterizan por el patrón dietético de la DM con un menor consumo de carne roja frente a la carne de pollo, pavo o conejo ya que poseen menor aporte de grasa (Mata P et al, 1994; Plaz Pérez I et al, 2000). De todos modos, sería interesante que futuros estudios dieran consistencia a esta interacción indicando la posible modulación del efecto del polimorfismo en el IMC según el contenido de grasa de los alimentos.

Por otro lado, en esta población se ha encontrado una asociación entre el polimorfismo rs2880411 con parámetros lipídicos, de modo que los portadores G presentaron mayores niveles de colesterol y c-LDL. No se ha encontrado estudios previos que examinaran esta relación con el polimorfismo rs2880411, sin embargo, se ha observado como otros polimorfismos situados en este gen también influyen en el perfil lipídico. Así, en un estudio realizado en hombres sanos de Suecia se detectó asociación entre el polimorfismo 585 T>C y los niveles plasmáticos de triglicéridos, aunque esta relación fue dependiente del IMC (Lavebratt C et al, 2006). En cambio, este mismo polimorfismo se asoció con un incremento de AGNE en hombres de población inglesa, independientemente del efecto del polimorfismo sobre el IMC (Hung CC et al, 2004) En esta población la asociación entre el polimorfismo y los niveles de colesterol y c-LDL se mantuvo incluso tras ajustar por factores de confusión, entre el que estaba incluido el IMC.

El mecanismo biológico que explica la modulación del perfil lipídico por medio de polimorfismos ubicados en el gen NPY2R no se conoce hasta el momento. Se ha observado en un estudio realizado con animales de experimentación que el sistema NPY-NPY2R está involucrado en el fomento de la proliferación y diferenciación de adipocitos, así como en el proceso de angiogénesis del tejido adiposo, tras ser sometidos los animales a estrés y a una dieta rica en grasa (Kuo LE et al, 2007) El incremento de tejido adiposo, especialmente el visceral, está asociado con un perfil metabólico de riesgo, al incrementar los triglicéridos, el colesterol, la presión arterial y la glucosa (Fox CS et al, 2007(b)). Además, en otro estudio realizado con ratones *ob/ob* la ausencia de NPY2R produce un descenso en los niveles de colesterol entre otros parámetros (Naveihan P et al, 2002). Por lo que polimorfismos que afecten a la capacidad funcional de este receptor pueden provocar alteraciones tanto en parámetros antropométricos como lipídicos, aunque son necesarios más estudios que

confirman la influencia sobre estos factores, así como la determinación del polimorfismo marcador de estos efectos.

En conclusión el polimorfismo se ha asociado con un incremento del IMC solo en individuos obesos en esta población mediterránea de elevado riesgo cardiovascular. Además, los efectos del polimorfismo sobre el IMC han sido fuertemente modulados por el consumo de carnes rojas y sus derivados carnicos. Por otro lado, este polimorfismo ha mostrado una tendencia hacia un perfil metabólico más desfavorable.

5.4.3 Polimorfismos en genes relacionados con la DMT2

5.4.3.1 Polimorfismos rs5219 del gen KCNJ11 y rs757110 del gen ABCC8

En esta población de elevado riesgo cardiovascular los polimorfismos rs5219 (E23K) del gen KCNJ11 y el rs757110 del gen ABCC8 no se han mostrado como marcadores de riesgo de diabetes, aunque ambos polimorfismos han mostrado asociación con PAD, tras ajustar por factores de confusión.

En el presente trabajo la frecuencia del alelo K del polimorfismo E23K cuya prevalencia sigue el mismo patrón que el alelo G del polimorfismo del gen ABCC8 en este estudio, es similar a la detectada en población caucasica tanto europea (Gloyn AL et al, 2003; Thorsby PM et al, 2009) como americana (Flores JL et al, 2007). Si embargo, en individuos africanos-americanos se ha observado una frecuencia del alelo K significativamente menor comparada con caucásicos (0,08) (Flores JC et al 2007). En población japonesa la frecuencia del alelo K del polimorfismo E23K sigue también una tendencia similar a la descrita en poblaciones caucásicas, con un leve incremento en la frecuencia del alelo G del polimorfismo rs757110 del gen ABCC8 (0,39–0,41) (Yokoi N et al 2006) respecto al descrito en esta población (0,37). Ambos polimorfismos se encontraron en elevado desequilibrio de ligamiento, coincidiendo con lo descrito en población europea (Willer CJ et al, 2007), en población americana de distintas etnias (Flores JC et al, 2007), así como en individuos japoneses (Yokoi N et al, 2006).

Los genes KCNJ11 y ABCC8 residen adyacentes en el cromosoma 11p 15.1, codificando para el canal rectificador interno de potasio (kir 6.2) y para el receptor de sulfonilureas (SUR1) respectivamente. Estos productos forman un complejo con cuatro subunidades de cada uno, dando lugar a los canales de potasio dependientes de ATP (Aguilar-Bryan L et al, 1999). En las células β pancreáticas estos canales controlan la secreción de insulina, por ello, variaciones que afecta a su funcionalidad están asociadas con el desarrollo del DMT2. (Flores JC et al, 2004).

En este sentido, estudios *in vitro* han indicado que el alelo K del polimorfismo E23K produce un incremento de la actividad de las células β pancreáticas, aumentando el umbral de concentración ATP para la liberación de insulina (Schwansecher C et al, 2002). Sin embargo, el efecto biológico del polimorfismo rs787110 es menos conocido, aunque se ha observado que los individuos homocigotos para el alelo G de este polimorfismo presentan una mayor respuesta al tratamiento antidiabético con gliclazina (Feng Y et al, 2008).

Por ello, diversos estudios han hallado asociaciones entre estos polimorfismos y la DMT2 (Altshuler D et al, 2000; Recí AF et al, 2000; Gloyn AL et al, 2003; Barroso L et al, 2003; Florez JC et al, 2004), detentándose asociaciones más robustas para el polimorfismo del gen KCNJ11, aunque, se ha indicado que dado el desequilibrio de ligamento que presentaban ambos polimorfismos es difícil discernir el efecto genético que muestran por separado (Florez JC et al, 2004). Sin embargo estos resultados no han sido replicados en todos los estudios. En este sentido, Nielsen EM et al (2003) no halló asociación entre el polimorfismo E23K con diabetes en población europea, aunque los portadores del alelo K presentaban menor secreción de insulina. Además, en el metaanálisis realizado con poblaciones caucásicas, en este mismo estudio, el genotipo KK se asoció con DMT2. De manera paralela, van Dam RM et al (2005) en un subestudio con población europea el polimorfismo E23K tampoco se asoció con DMT2, aunque en el metanálisis realizado si se relacionó tanto con DMT2 como con intolerancia a la glucosa. En esta población, no se ha encontrado asociación con DMT2 ni en cada polimorfismo por separado, ni en función del haplotipo formado por ambos polimorfismos. Esta falta de asociación puede ser debida a la necesidad de un tamaño muestral mayor para identificar el efecto de estos polimorfismos, ya que en los estudios realizados por Nielsen EM y Van Dam RM solo se detectó tras la realización del metanálisis. Aunque también puede subyacer el hecho de tratarse de población de edad avanzada, puesto que igualmente Nielsen EM y van Dam RM realizaron los subestudios con población de edad media avanzada. Además estudios realizados en población japonesa (Yokoi N et al, 2006) y en población europea (Thorsby PM et al, 2009) de edad avanzada no encontraron asociación entre el polimorfismo E23K y la DMT2.

Por otro lado, la región 11p15.1 en la que se encuentra ubicado el locus del gen SUR1 se ha identificado como una región vinculada con variaciones en la frecuencia cardíaca en reposo en individuos blancos prehipertensos, indicando un posible efecto pleitrópico de esta región sobre la frecuencia cardíaca en reposo y la presión arterial (An P et al, 2006). De hecho estudios previos en población europea han detectado asociación entre una variante del gen SUR1 (Arg1273Arg) e HTA en individuos diabéticos que presentaban obesidad (ReisAF et al, 2000), así como en

individuos con intolerancia a la glucosa (Hart LM et al, 1999). En ambos estudios, el alelo que se asoció con DMT2 fue el opuesto al asociado con hipertensión.

En el presente estudio, también los alelos no vinculados con la DMT2 se asociaron con mayores niveles de PAD tanto en el polimorfismo E23K del gen KCNJ11 como en el rs757110 del gen ABCC8, alcanzando la significación en este último tras ajustar por factores de confusión, sin detectarse heterogeneidad en estos resultados entre individuos diabéticos y no diabéticos. No se han hallado estudios con estos polimorfismos que analizaran estas asociaciones en población caucásica. Sin embargo, en población japonesa han observado variaciones en los niveles de presión arterial según el genotipo del polimorfismo E23K, aunque el alelo asociado con un mayor incremento varía entre los estudios (Kokubo Y et al, 2006; Sakamoto Y et al, 2007).

Aunque el mecanismo biológico que subyace esta asociación no está dilucidado, se ha indicado como un posible efecto secundario de la asociación con DMT2, dada la íntima relación existente en el desarrollo de ambas patologías (Sakamoto Y et al, 2007). Aunque dada la inversa asociación del alelo implicado también puede ser debido a un efecto independiente. En este sentido, los canales de potasio dependientes de ATP se expresan en diversos tipos celulares, como el músculo y células neuronales (Seino S et al, 2003). Estos canales en el músculo cardíaco están implicados en la actividad eléctrica, contracción muscular, y adaptación al estrés (Zingman LV et al, 2002; Kane GC et al 2005) cuyo aumento de actividad por variaciones genéticas puede dar lugar a una respuesta desmesurada a factores ambientales que a su vez pueden aumentar la presión arterial (Sakamoto Y et al, 2007). También variaciones genéticas que alteran la actividad de estos canales en el SNC, pueden modular el SN simpático, cuya activación se cree que está asociada con el aumento de presión arterial y el desarrollo de la hipertensión, además la alteración de estos canales también puede afectar a la secreción de otras hormonas distintas a la insulina, implicadas en el control de la presión arterial (Sakamoto Y et al, 2007).

En conclusión, los polimorfismos rs5219 del gen KCNJ11 y el rs757110 del gen ABCC8 no se asociaron con DMT2 en esta población de elevado riesgo cardiovascular. Sin embargo, ambos polimorfismos mostraron asociación con PAD, manteniendo la significación tras ajustar por factores de confusión para el polimorfismo rs757110, y detetándose mayores niveles de PAD entre los portadores del alelo no relacionado con DMT2 en cada polimorfismo respectivamente.

5.4.3.2 Polimorfismo rs1044498 del gen ENPP1

En el presente estudio se ha investigado la asociación del polimorfismo rs1044498 (K121Q) del gen ENPP1 con el riesgo de DMT2 y fenotipos relacionados con población mediterránea de elevado riesgo cardiovascular. La frecuencia del alelo Q es de 0,182, siendo levemente superior a la obtenida en otros estudios realizados en población española (0,14-0,15) (González-Sánchez JL et al 2003; González-Sánchez JL et al 2008). Las frecuencias observadas para este alelo en población europea oscila entre 0,12-0,17 (Grarup N et al 2006; Meyre D et al 2007; Müssig K et al 2010), encontrándose en ese rango la indicada en población caucásica americana (Stolerman ES et al 2008). Sin embargo la frecuencia del alelo Q es más elevada en hispanos (0,22) y presenta un gran incremento en africanos-americanos (0,78 aproximadamente) (Chandalia M et al 2007).

El gen ENPP1, también conocido como PC-1, codifica para una proteína que interacciona con la subunidad α del receptor de la insulina con la consecuente inhibición de la señal ya que reduce la autofosforilación de la subunidad β (Maddux BA et al, 2000). Respecto al polimorfismo K121Q, experimentos *in vitro* han indicado que el cambio de lisina a glutamina que produce este polimorfismo incrementa la afinidad de la proteína por el receptor de la insulina, acentuando con ello la inhibición del mismo comparado con la proteína con la secuencia salvaje (Costanzo BV et al, 2001).

En este sentido, el polimorfismo rs1044498 se ha asociado con resistencia a la insulina (Pizzuti A et al, 1999; Gu HF et al, 2000; Frittitta L et al, 2001; Kubaszek A et al, 2003; Kubaszek A et al, 2004; Stolerman ES et al, 2008), diabetes (Kubaszek A et al, 2004; Abate N et al, 2005; Bacci S et al, 2005; Willer CJ et al, 2007), sobrepeso y obesidad (Grarup N et al, 2006; Wan C et al, 2006). En distintos estudios realizados en diversas poblaciones se observó que este polimorfismo forma parte de un haplotipo el cual se ha asociado con obesidad y DMT2 tanto en niños como en adultos (Meyre D et al, 2005). En cambio en otros estudios se ha detectado una falta de asociación con estos fenotipos. Así, en población danesa no se encontró ninguna asociación con DMT2 (Grarup N et al, 2006), como tampoco se encontró relación con obesidad o DMT2 en población americana y europea (Lyon HN et al, 2006; Weedon MN et al 2006). Además, en el metaanálisis realizado por McAteer JB et al (2008) se observó que el polimorfismo K121Q confiere un modesto incremento del riesgo de diabetes, y este riesgo parece estar modulado por el IMC. En esta población de elevado riesgo cardiovascular este polimorfismo no mostró asociación con niveles de glucosa o riesgo de DMT2, en cambio, los individuos portadores del alelo Q presentaron mayor perímetro de la cintura. Paralelo a nuestros resultados son los observados en otros estudios llevados a cabo en población española, donde observaron que el

polimorfismo K121Q no mostró un significativo impacto sobre la sensibilidad a la insulina (González-Sánchez JL et al 2003). En cambio, en otro estudio realizado por los mismos autores, el alelo Q se asoció con un incremento del IMC y el perímetro de la cintura entre los individuos que presentaban síndrome metabólico, comparable con los resultados del presente estudio, al tratarse de población con elevado riesgo cardiovascular (González-Sánchez JL et al, 2008).

Por otro lado, se ha propuesto que dadas las discrepancias detectadas en el efecto del alelo Q sobre los distintos rasgos metabólicos, las diferencias entre los estudios pueden ser debidas a la influencia de factores ambientales o variantes genéticas localizadas en otros genes que modulan su efecto (Baratta R et al, 2003).

En este sentido, se ha observado en esta población de edad avanzada que la actividad física ejerce una fuerte influencia en los efectos del polimorfismo sobre la concentración de glucosa y el peso, detectándose una interacción significativa en ambos casos (Glucosa: p interacción K121Q*actividad física=0,017; Peso: p interacción K121Q*actividad física<0,001). Dos estudios previos han examinado la modulación de los efectos del polimorfismo tras un periodo de intervención. Así, en el estudio *Diabetes Prevention Program* observaron que al inicio del estudio los individuos QQ presentaban mayor nivel de glucosa y hemoglobina glicosilada, sin embargo, tras un año de intervención con dieta y actividad física se reduce el incremento del riesgo a desarrollar diabetes asociada al genotipo del polimorfismo K121Q (Moore AF et al, 2009). Sin embargo, en el estudio realizado por Müssig F et al (2010), se observan resultados opuestos. En este caso, al inició de la intervención el polimorfismo K121Q no se asoció con medidas de obesidad o rasgos relacionados con el desarrollo de DMT2. En cambio, tras 9 meses con seguimiento de una dieta reducida en grasas saturadas y un incremento de actividad física aeróbica los homocigotos Q presentaron un deterioro en la sensibilidad a la insulina, mientras que los KK incrementaron su sensibilidad. En el presente estudio no se ha podido evaluar el efecto conjunto de la actividad física y del seguimiento de una dieta tipo mediterránea según el genotipo del polimorfismo K121Q puesto que podría perderse poder estadístico dada la baja prevalencia de los subgrupos. Sin embargo, se ha observado que los homocigotos KK no sedentarios presentaron menor concentración de glucosa en comparación con los individuos sedentarios, sin detectarse diferencias entre los portadores Q según la realización de actividad física.

Además, los homocigotos KK no sedentarios también presentaron menor peso que los sedentarios. Por lo que los efectos beneficiosos de la realización de actividad física sobre la mejora de la sensibilidad a la insulina (Harding AH et al, 2001) y el descenso en la concentración de glucosa (Boule NG et al, 2001) y la grasa corporal (Walker KZ et al 1999) pueden hacerse mas visibles según el

genotipo del polimorfismo rs1044498. Sin embargo, puesto que hay pocos estudios que analicen la modulación del polimorfismo K121Q por factores ambientales sería preciso que se confirmara ésta y otras interacciones que podrían explicar la discordancia de los resultados entre los distintos estudios.

Por otro lado, en esta población de elevado riesgo cardiovascular también se observó que los portadores Q presentaban mayores niveles de PAS, incluso tras ajustar por factores de confusión, aunque no se alcanzó la significación en la asociación con PAD. Estos resultados son consistentes con los obtenidos en estudios previos. En este sentido, Gu HF et al (2000) detectó que los portadores del genotipo QK presentaban mayor concentración de glucosa y PAS que los homocigotos KK, indicando que el gen ENPP1 podría estar involucrado en la regulación de la glucosa y la insulina tanto como de la presión arterial. Abate N et al (2005) también detectó asociación entre el polimorfismo K121Q y PAS en diabéticos de población asiática. Además, Bacci S et al (2009) examinó la vinculación entre el polimorfismo K121Q, asociado con resistencia a la insulina y DMT2, con presión arterial y el pulso cardíaco en individuos caucásicos con independencia de la presencia de la DMT2. Estos autores observaron que el alelo Q se asociaba con un incremento del pulso y de la PAS, pero no con PAD en una de las poblaciones analizadas, así como en el metanálisis realizado con todas ellas. Por ello, se ha propuesto que la asociación del polimorfismo K121Q con la presión arterial y la hipertensión se puede producir por su efecto en la resistencia a la insulina, como también debido a su papel enzimático en la regulación de la señal a través de receptores purinérgicos que puede ser importante en el desarrollo de la hipertensión (Kubaszeka et al, 2004).

En conclusión aunque no se ha observado asociación entre el polimorfismo rs1044498 con DMT2 u obesidad, se ha detectado una diferente respuesta según el genotipo de este polimorfismo en la determinación de la concentración de la glucosa y del peso en función de la actividad física. Además ha mostrado un fuerte impacto sobre los niveles de PAS en esta población de elevado riesgo cardiovascular.

5.4.3.3 Polimorfismos rs7961581 situado en la región TSPAN8/LGR5

La frecuencia observada en esta población de elevado riesgo cardiovascular para el alelo minoritario C es similar a la observada en población del centro de Europa (Staiger M et al, 2008). Sin embargo, en estudios realizados en poblaciones del norte de Europa, la frecuencia del alelo C es levemente inferior (Grarup N et al 2008, Brito EC et al, 2009). En población caucásica americana la frecuencia del alelo C es similar a la detectada en este estudio (An P et al, 2009), aunque en

población japonesa este alelo también ha mostrado una menor prevalencia (Takenchi F et al, 2009)

El polimorfismo rs7961581 se encuentra en una región intergénica entre los genes TSPAN8 y LGR5, siendo una de las recientes variaciones genéticas asociadas con DMT2 identificadas en un metanálisis que incluía 3 estudios de GWA con un total de 10.128 individuos de descendencia europea, con una replicación de los análisis en una muestra independiente de 56.975 participantes (Zeoggin E et al, 2008) siendo el alelo C el de riesgo. Posteriormente, diversos estudios han detectado asociación entre este polimorfismo con fenotipos intermedios relacionados con un posible desarrollo de DMT2, como la tasa de liberación de insulina o los niveles de glucosa tras 2 horas del TTOG (Grarup N et al, 2008; Brito EC et al 2009).

El mecanismo biológico responsable de los efectos de este polimorfismo en su asociación con el riesgo de DMT2 no se conoce de manera clara. Sin embargo, en un estudio en ratas observaron que tras el seguimiento de una dieta rica en grasas y alto contenido en carbohidratos, altamente diabetogénica, las células de los islotes pancreáticos de los animales incrementaban aproximadamente 4 veces la expresión del TSPAN8, sin detectarse variación en el LGR5, indicando la posibilidad de que el TSPAN8 este más relacionado con el desarrollo de DMT2 que el LGR5 (Dreja T et al, 2010). Además el gen TSPAN8 codifica para una glicoproteína de la superficie celular, la cual se ha observado en líneas celulares cancerígenas que forma complejos con las integrinas para la regulación de la movilidad celular (Gesierich S et al, 2005). Se ha mostrado que la unión de la integrina-6 a la laminina afecta negativamente a las células pancreáticas (Kilkenny DM et al, 2008), por lo cual se ha indicado la posibilidad de que variaciones en el gen TSPAN8 influyan en la función de las células pancreáticas (Grarup N et al, 2008).

Sin embargo, Lango H et al (2008) observó en población escocesa que la asociación de este polimorfismo con DMT2 se quedaba en el límite de la significación. De manera paralela, en el presente estudio la asociación entre portadores C y DMT2 también se mostró en el límite de la significación. Además, otros estudios no han detectado relación entre el polimorfismo rs7961581 con DMT2 o con secreción o sensibilidad a la insulina en diversas poblaciones (An P et al, 2009; Boesgard TW et al, 2009; Takenchi F et al, 2009).

Dada la variabilidad de los resultados en los estudios independientes, en el presente trabajo se analizó la posible influencia del sexo o de factores ambientales en la modulación del efecto del polimorfismo sobre el riesgo de DMT2, aunque no se detectaron interacciones significativas con estos factores, por lo cual son necesarios mas estudios independientes que analicen la posible asociación de este

polimorfismo con DMT2 y con fenotipos relacionados con el posible desarrollo de la misma.

Por otro lado, pocos estudios han examinado la posible asociación de este polimorfismo con parámetros relacionados con obesidad. Dos estudios en población europea no encontraron influencia del polimorfismo rs7961581 sobre diferentes medidas de adiposidad como el IMC y el perímetro de la cintura (Garup N et al, 2008; Staiger H et al, 2008). Sin embargo Stankakova A et al, (2009) detectaron una asociación nominal ($p=0,031$) entre este polimorfismo y el IMC en hombres finlandeses no diabéticos. En esta población de elevado riesgo cardiovascular el polimorfismo rs7961581 ha mostrado una fuerte influencia en la determinación del peso y el IMC, siendo los individuos heterocigotos y los homocigotos para el alelo de riesgo C los que presentaron menores valores de ambos parámetros, incluso tras ajustar por diversos factores de confusión. En consistencia con estos resultados, en un estudio realizado para evaluar los efectos del polimorfismo asociados a DMT2 y obesidad con la ganancia de peso durante el embarazo, se observó en mujeres caucásicas como las portadoras de dos copias del alelo de riesgo presentaban menor riesgo de un excesivo incremento de peso (Stuebe AM et al, 2010). Además, también se ha observado que la ablación genética del TSPAN8 en ratas resulta en una reducción (-15,6%) del peso solo en machos alimentados con dieta normal y con una resistencia a la ganancia de peso en animales alimentados con dieta elevada en grasa y carbohidratos. Sin embargo, no detectaron diferencias entre los niveles de glucosa e insulina. También observaron que en ratas, el TASPAN8 presenta una elevada expresión en tejidos digestivos, aunque se encuentra prácticamente ausente en el páncreas, sin embargo, en humanos presenta una expresión sustancial en ambos, indicando que estas diferencias en las expresiones pueden conllevar diferentes funciones en este organismo. Por lo que sería interesante que futuras investigaciones individuales estudiaran la asociación del polimorfismo con fenotipos relacionados con la obesidad para confirmar su asociación en humanos.

En conclusión, la asociación del polimorfismo rs7961581 situado en una región intergénica próximo al TSPAN8 con DMT2 se ha mostrado en el límite de la significación, sin detectarse modulación por sexo o factores ambientales. Sin embargo, se observó una fuerte influencia del polimorfismo rs7961581 con IMC y peso.

5.4.4 Polimorfismos en genes relacionados con el metabolismo lipídico

5.4.4.1 Polimorfismos del gen CD36

El CD36 es una glicoproteína integral de membrana, expresada en distintos tipos celulares (Klein BE et al, 2002; Malik S et al, 2004), que presenta gran variedad de funciones implicadas en el transporte de lípidos, resistencia a la insulina, inflamación y arteriosclerosis (Duggirala R et al, 2000; Klein BE et al, 2002; Ford ES et al, 2002; Arya R et al, 2002; An P et al, 2005; Malik S et al, 2004). Por ello variaciones en el gen CD36 se han relacionado con una alteración de estas funciones.

En el presente trabajo se han analizado los polimorfismos rs1761667 (-3118 G>A) y el rs2151916 (-22674 T>C) del gen CD36. La frecuencia del alelo A del rs1761667 obtenida en esta población (0,573) es más elevada que la observada en otras poblaciones europeas (0,51- 0,53) (Ma K et al, 2004; Madden J et al, 2008; Lecompte S et al, 2011). Además se ha indicado que en población caucásica el alelo G es el alelo minoritario, frente al alelo A en población africana-americana (Love-Gregory L et al, 2010). Por otro lado, la frecuencia del alelo C del rs2151916 también es más baja (0,34) que la observada en una subpoblación de individuos españoles con sobrepeso y obesidad (0,38) (Goyenechea E et al, 2008), así como en otras poblaciones europeas (Goyenechea E et al, 2008; Teupaer D et al, 2008). También se ha detectado en esta población un débil desequilibrio de ligamiento entre ambos polimorfismos. No se han encontrado estudios previos que analizaran el patrón de segregación de ambos polimorfismos conjuntamente. Sin embargo, el polimorfismo rs2151916 (-22674) se ha encontrado en fuerte desequilibrio de ligamiento con el polimorfismo rs33137 el cual forma parte de un bloque haplotípico que incluye el rs1761667 (Ma X et al, 2008).

El receptor CD36 facilita el transporte de los ácidos grasos de cadena larga en el músculo y el tejido adiposo (Ibrahimi A et al, 1996), por lo que su alteración puede producir variaciones en la concentración de ácidos grasos. En este sentido, Ma X et al (2004) analizó la asociación entre distintos polimorfismos del gen CD36 con niveles de ácidos grasos libres y el riesgo de enfermedad arterio-coronaria en población caucasica no diabética. Estos autores observaron que en hombres los portadores del alelo G del polimorfismo rs1761667 presentaban mayores niveles de ácidos grasos libres respecto a los homocigotos AA. En cambio, en el presente estudio respecto a la concentración de AGNE fue en mujeres donde las homocigotas GG mostraron mayor concentración respecto a las heterocigotas u homocigotas AA. Ma X et al (2004) indicó que estas diferencias según el género podrían ser debidas a las diferencias en el metabolismos de los ácidos grasos libres, reflejado en parte por las diferencias hormonales y de

distribuciones de la grasa según el sexo. A diferencia del presente estudio, estos autores encontraron que la correlación entre la concentración de ácidos grasos libres y el peso y el perímetro de la cintura es más débil en mujeres, mientras que en esta población de elevado riesgo cardiovascular fue más débil en hombres. Este hecho podría explicar que en cada estudio la asociación entre el polimorfismo rs1761667 y los niveles de ácidos grasos se observara en géneros distintos.

Además modificaciones en la expresión del gen CD36 o del contenido proteico se han relacionado con resistencia a la insulina, probablemente ocasionado por la alteración en el transporte de los ácidos grasos (Corpeleijn E et al, 2006), ya que esta alteración puede contribuir al almacenamiento de triglicéridos intramiocelulares en el músculo esquelético, que pueden producir resistencia a la insulina y DMT2 (Schmitz-Peiffer C, 2000). Con ello, en un estudio realizado con familias francesas identificaron la asociación entre una mutación rara (pL360X) del gen CD36 con un historial de DMT2, además el alelo mutado también se asoció con un descenso en la concentración de adiponectina (Leprêtre F et al, 2004(a)), considerando la adiponectina como un marcador de sensibilidad a la insulina (Weyer C et al, 2001; Vasseur F et al, 2002). Estos mismos autores también detectaron asociación entre un polimorfismo situado en la región del promotor del CD36 (-178 A/C) con la concentración de adiponectina, sugiriendo que variaciones en el gen del CD36 pueden estar asociadas con diferencias en los niveles de adiponectina en humanos relacionado con la modulación de la sensibilidad a la insulina (Leprêtre F et al, 2004(b)) aunque este efecto no incrementa el riesgo de DMT2. Otros polimorfismos de este gen también se han asociado con DMT2 en población europea (Corpeleijn E et al, 2006).

En el presente estudio ninguno de los polimorfismos mostró diferencias directamente según el genotipo en la concentración de adiponectina, en cambio, aunque el polimorfismo rs2151916 no se asoció con DMT2, el polimorfismo rs1761667 se quedó en el límite de la significación, siendo los portadores G los que presentaron mayor riesgo de DMT2. En el caso de las mujeres la asociación entre el polimorfismo rs1761667 y DMT2 también se quedó en el límite de la significación. En el estudio de Banergee M et al (2010) con población del norte de la India, el polimorfismo rs1761667 fue también relacionado con DMT2, aunque en este caso observaron que el genotipo heterocigoto mostraba mayor prevalencia entre los diabéticos que entre los controles. Además, a diferencia del presente estudio indicaron que el alelo A puede contribuir al incremento del riesgo de diabetes, sin embargo en esta población de la India el alelo A fue el menos prevalente, mientras que en el presente estudio el alelo A del polimorfismo rs1761667 fue más frecuente que el alelo G, por lo que estas diferencias alélicas podrían explicar las diferencias en la determinación del alelo de riesgo.

Por otro lado, el CD36 también se une a lipoproteínas nativas (Calvo D et al, 1998; Cornnelly MA et al, 1999) y actúa en la absorción de ésteres de colesterol, y facilita la captación de c-LDL y c-HDL oxidados (Nicholson AC et al, 2004; Thorne RF et al 2007). Además, se ha observado que interviene en el aumento de la captación de triglicéridos en el músculo esquelético, especialmente en individuos obesos y diabéticos (Bonen A et al, 2004). Ma X et al (2004) observó que el haplotipo en el que estaba incluido el alelo G del polimorfismo rs1761667 además de asociarse con mayor concentración de ácidos grasos libres, también se asoció con un incremento en los niveles de triglicéridos, postulando que este haplotipo se asocia con algún grado de deficiencia del CD36 en el músculo esquelético, donde es altamente expresado.

Sin embargo, Noel SE et al (2010) no encontró asociación entre el polimorfismo rs1761667 con niveles de c-HDL o triglicéridos en población hispana reclutada en Boston. En esta población de elevado riesgo cardiovascular no se encontró asociación directa entre estos polimorfismos y la concentración de triglicéridos o c-HDL, aunque se observaron diferencias en la concentración de c-LDL, pero sin mostrar una tendencia según el genotipo. Tampoco se encontraron diferencias en la concentración de AGNE o c-LDL según el haplotipo formado por ambos polimorfismos.

En cambio, se ha observado una fuerte modulación de los efectos de ambos polimorfismos según la dieta. En este sentido, Goyenechea E et al (2008) observó en mujeres del Reino Unido un descenso en la concentración de c-LDL entre los homocigotos CC del rs2151916 frente a los portadores del alelo T sin observarse estas diferencias en una población de individuos españoles con sobrepeso y obesidad. Sin embargo, tras 6 meses de intervención con una dieta baja en calorías en la población española de dicho estudio se observó que el alelo C se asoció con un descenso de la concentración de colesterol y c-LDL y un incremento de c-HDL. Además, Madden J et al (2008) observó que solo los homocigotos GG del polimorfismo rs1761667 presentaban un descenso de la concentración de triglicéridos tras doce semanas de tratamiento con un suplemento enriquecido con aceite de pescado. En el presente estudio no se encontraron diferencias de los efectos del polimorfismo rs2151916 entre individuos que siguen una dieta con una alta o baja adherencia a la DM. Sin embargo, en concordancia con los resultados observados por Madden J et al (2008) en el presente estudio los individuos homocigotos GG del rs1761667 fueron más susceptibles al efecto del consumo de pescado o marisco en la determinación de la concentración de triglicéridos, adiponectina y AGNE, observándose una interacción significativa en todos los casos (Triglicéridos: p interacción rs1761667*consumo de pescado=0,019; AGNE: p interacción rs1761667*consumo de pescado=0,026; Adiponectina: p interacción rs1761667*consumo de pescado=0,008). De este modo, los individuos

homocigotos GG que consumen tres veces o más a la semana pescado presentan menor concentración de triglicéridos y de AGNE, así como mayor concentración de adiponectina respecto a los individuos con el mismo genotipo pero que consumen pescado con menor frecuencia. Sin embargo, no se observaron diferencias en estos parámetros en los individuos heterocigotos u homocigotos AA en función del consumo de pescado. El aceite de pescado es rico en n-3 AGP, principalmente EPA y DHA, y sus efectos sobre el descenso de lípidos pueden ser regulados a través de rutas bioquímicas moduladas por los PPAR α , para los cuales los n-3 AGP son agonistas (Madden J et al, 2008). La activación de los PPAR α decrece la síntesis de triglicéridos (Wong S et al, 1985), e incrementa la β -oxidación mitocondrial y la oxidación en los peroxisomas (Halminski MA et al, 1991; Gronn M et al, 1992; Willumsen N et al, 1993; Jump DB et al, 1996). Además se ha observado que el EPA incrementa la expresión del CD36 en cultivos de células humanas del músculo esquelético (Aas V et al, 2006). Por ello, Madden J et al (2008) sugirieron que tanto el EPA como el DHA, los cuales están altamente presentes en el pescado, pueden suplir la deficiencia de actividad del CD36 generada por ciertos polimorfismos, a través de su papel como agonistas de los PPAR.

En conclusión, en esta población de elevado riesgo cardiovascular se ha observado una mayor influencia del polimorfismo rs1761667 sobre la concentración de AGNE en mujeres, siendo las homocigotas GG las que presentan mayor concentración, observándose además una modesta asociación entre este polimorfismo y el riesgo de DMT2, tanto en la población total como solo en mujeres. Paralelamente, no se observó modulación de los efectos del polimorfismo rs2151916 según la adherencia a la DM, en cambio, el consumo de pescado se mostró como un fuerte modulador de la concentración de triglicéridos, AGNE y adiponectina entre los individuos homocigotos GG del polimorfismo rs1761667.

5.4.4.2 Polimorfismos del gen MLXIPL

En el presente estudio, llevado a cabo con población mediterránea de elevado riesgo cardiovascular se ha observado que el polimorfismo rs3812316 del gen MLXIPL y el polimorfismo rs17145738 son potentes determinantes genéticos de la concentración plasmática de triglicéridos.

La frecuencia del alelo C del polimorfismo rs3812316 detectada en este estudio es similar a la observada en población europea (Kooner J et al, 2008; Polgár N et al, 2010). En cambio, el alelo C del polimorfismo rs17145738 muestra una prevalencia mayor a la obtenida en otros estudios en población europea (0,85-0,87) (Kathiresan S et al, 2008; Polgár N et al, 2010). Además, ambos polimorfismos presentan un fuerte desequilibrio de ligamiento en esta población.

No se han encontrado estudios previos que analizaran el patrón de segregación de estos polimorfismos, sin embargo, el polimorfismo rs17145738 esta en un intervalo que se encuentra en desequilibrio de ligamiento con gran parte de la región que codifica para el gen MLXIPL y las asociaciones observadas con ambos polimorfismos han permitidos especular la posibilidad de que se encuentre en desequilibrio de ligamiento en europeos (Polgár N et al, 2010; Nakayama K et al, 2009).

La asociación entre los alelos mayoritarios C de los polimorfismos rs3812316 y rs17145738 con una mayor concentración de triglicéridos se ha mostrado de manera consistente en diversos estudios llevados a cabo con poblaciones de diferentes grupos étnicos (Kooner JS et al, 2008; Willer C et al, 2008; Kathiresan S et al, 2008; Lanktree M et al, 2009; Nakayama K et al, 2009; Murray A et al, 2009). Sin embargo, Vrablik M et al (2008) no encontró relación entre el polimorfismo rs3812316 con la concentración de triglicéridos en población del centro de Europa. Tampoco Polgár N et al (2010) demostró en población húngara diferencias según el genotipo de ambos polimorfismos en la concentración de triglicéridos, colesterol o riesgo de ictus. Estos autores indicaron la posibilidad de la influencia de factores genéticos o ambientales en la variabilidad de la asociación de estos polimorfismos. Sin embargo, en esta población de elevado riesgo cardiovascular no se detectó heterogeneidad en el efecto de los polimorfismos sobre la concentración de triglicéridos en función de la dieta, el consumo de tabaco o la realización de actividad física.

Por otro lado, el haplotipo formado por los homocigotos CC para ambos polimorfismos mostró mayor concentración de triglicéridos que los portadores del alelo minoritario de ambos polimorfismos. Además, al comparar las diferencia de concentración de triglicéridos entre los homocigotos CC frente a los portadores del alelo minoritario de los polimorfismos rs3812316 (CC vs portadores G) y del rs17145738 (CC vs portadores T), se observa que el polimorfismo rs3812316 produce un mayor incremento en la concentración de triglicéridos que el rs17145738 (4,3 vs 2,2%, respectivamente). Además, el efecto del rs3812316 es igual al detectado al comparar el haplotipo homocigoto CC para ambos polimorfismos frente al formado por los portadores del alelo minoritario de ambos (4,3%). Por lo que, en esta población es el polimorfismo rs3812316 el que ejerce el impacto en la concentración de triglicéridos, al encontrarse en fuerte desequilibrio de ligamiento con el rs17145738. En este sentido, Kooner JS et al (2008) entre los cuatro polimorfismos de la región del gen MLXIPL con los que encontró asociación con triglicéridos (rs12056034, rs17145732, rs3812316 y rs799160) también fue el rs3812316 el que mostró una asociación más fuertemente significativa.

El MLXIPL es un factor de transcripción implicado en la utilización de la glucosa y el almacenamiento de energía (Uyeda K et al, 2006; Ma L et al, 2006). El flujo de glucosa en los hepatocitos conduce a la traslocación del MLXIPL al núcleo, allí dimeriza con MLX e incrementa la transcripción de genes implicados en la glucólisis, la lipogénesis, síntesis de triglicéridos y secreción de LDL. Por ello, se ha sugerido que el polimorfismo rs3812316 reduce la función del MLXIPL, porque son los portadores del alelo minoritario los que presentan menor concentración de triglicéridos (Kooner JS et al, 2008). Además, se ha observado que los ratones nulos para el MLXIPL presentan bajos niveles de triglicéridos (Uyeda K et al, 2006).

Por otro lado, ambos polimorfismos así como el haplotipo formado por ellos dos se han asociado con fenotipos relacionados con la obesidad como el peso, el perímetro de la cintura e incluso la concentración de adiponectina, aunque estas asociaciones se pierden tras ajustar por factores de confusión. Además, las diferencias de concentración de adiponectina según el genotipo del rs3812316 pierden la significación tras incluir los triglicéridos entre las variables de confusión, poniendo de manifiesto que el efecto del polimorfismo rs3812316 sobre la concentración de adiponectina depende de su influencia en la concentración de triglicéridos en esta población.

Sin embargo, se ha observado una asociación entre el polimorfismo rs3812316 y el IMC en función de la adherencia a la DM. Así pues, los individuos homocigotos CC mostraron mayor IMC que los portadores G solo si presentaban una baja adherencia a la DM, incluso tras ajustar por triglicéridos. De igual manera, los homocigotos CC presentaron mayor riesgo de obesidad que los portadores G, quedándose estos resultados en el límite de la significación. Sin embargo, entre los individuos que mostraban una alta adherencia a la DM no se detectaron diferencias en el IMC según el genotipo.

Además, se detectó que el componente de la DM determinante en la asociación con el IMC fue el consumo de legumbres. De modo, que los homocigotos CC con un consumo de legumbres inferior a 3 veces por semana presentaron mayor IMC y riesgo de obesidad, quedándose en el borde de la significación tras incluir los incluir los triglicéridos entre los factores de confusión. No se detectaron estas diferencias entre los individuos con un consumo de legumbres igual o superior a 3 veces por semana. En este sentido, se ha observado que en ratones *ob/ob* con el gen MLXIPL inhibido se produce una reducción de los efectos del síndrome metabólico, tales como la obesidad y la intolerancia a la glucosa (Iizuka Y et al, 2008). El patrón de DM se ha asociado con efectos beneficiosos sobre el síndrome metabólico, así como con sus componentes individuales como parámetros antropométricos relacionados con la obesidad, perfil

lipídico y glucosa (Kastorini CM et al, 2010). Además, en población española la adherencia a la DM se ha asociado inversamente con el IMC y con obesidad (Schröder H et al, 2004). Paralelamente, en otro estudio realizado con población española también se observó que la adherencia a la DM se asociaba con menor riesgo de síndrome metabólico, y entre sus componentes el consumo de legumbres fue asociado con menor prevalencia del mismo (Babio N et al, 2010). Además, diversos estudios han detectado una relación inversa entre el consumo de legumbres y fenotipos relacionados con la obesidad (Williams D et al, 2000; Haveman-Nies A et al, 2001; Newby P et al, 2004; Azadbakht L et al, 2005). Por ello, sería interesante que futuros estudios analizaran también si el posible efecto de este polimorfismo sobre el riesgo de obesidad se encuentra modulado por el consumo de legumbres o por alguno de sus nutrientes, y si su efecto es independiente de su asociación con la concentración de triglicéridos.

En conclusión, se ha observado una fuerte influencia de los polimorfismos rs3812316 y rs17145738 sobre la concentración de triglicéridos en esta población de elevado riesgo cardiovascular, siendo los homocigotos CC para ambos polimorfismos los que presentan mayor concentración. Además, el haplotipo formado por ambos polimorfismos también se asoció con la concentración de triglicéridos, aunque el polimorfismo rs3812316 es el que ha mostrado un mayor impacto en la determinación de la concentración. Por otro lado, se ha detectado una influencia del polimorfismo rs3812316 sobre el IMC y el riesgo de obesidad modulada por la adherencia a la DM, y en concreto por el consumo de legumbres. Aunque sería interesante que otros estudios confirmaran estas asociaciones.

5.4.4.3 Polimorfismo rs3754686 del gen MCM6

El gen MCM6 se encuentra ubicado en una región adyacente al gen LCT, mostrando regiones reguladoras para la expresión de dicho gen (Enattah NS et al, 2002). Por ello, efectos significantes en el gen MCM6 pueden modificar su función reguladora sobre el LCT (Ma L et al, 2010). En el presente estudio se ha analizado el polimorfismo rs3754686 ubicado en el intrón 15 del gen MCM6.

La frecuencia del alelo G es similar a la detectada en población francesa, siendo más disminuida en población italiana. En cambio, en población del norte de Europa de origen finlandés la frecuencia de este alelo es más elevada a la observada en el sur (Enattah NS et al, 2007).

El producto del gen de la lactasa contribuye al metabolismo de los carbohidratos a través de la digestión de la lactasa (Kettunen J et al, 2010). En los adultos se produce un descenso en la actividad de la lactasa, sin embargo, se han detectado individuos que presentan una persistencia en su actividad. Estudios

moleculares han permitido la identificación de variaciones específicas en regiones reguladoras del gen LCT ubicadas en el MCM6 que conducen a una persistencia de al lactasa (Kettunen J et al, 2010). Por ello, el consumo de productos lácteos puede depender de la persistencia en la actividad de la lactasa y esta modulación se ha indicado que puede tener un impacto sobre la obesidad o fenotipos relacionados con la misma (Kettunen J et al, 2010, Corella D et al, 2010).

En este sentido, en el presente estudio se ha observado una tendencia de los homocigotos AA a los homocigotos GG en el incremento del peso, el perímetro de la cintura y el IMC, alcanzando la significación en el caso del IMC, aunque no se mantuvo tras ajustar por factores de confusión. Sin embargo, los homocigotos GG y los heterocigotos presentaban de manera significativa mayor prevalencia de individuos obesos frente a los no obesos. Además los individuos portadores del alelo G mostraron mayor riesgo de obesidad frente a los homocigotos AA. No se han hallado estudios previos en otras poblaciones que analizaran la asociación de este polimorfismo con parámetros relacionados con la obesidad. Aunque en el estudio de GWA realizado por Heard-Costa NL et al (2009) para la identificación de variantes que influyen en la obesidad abdominal en la cohorte CHARGE (*Cohorts for Heart and Aging Research Epidemiology*) encontraron asociación con distintos polimorfismos de la región del gen LCT. También, en un metanálisis reciente llevado a cabo con 31720 individuos de 8 poblaciones europeas en el que analizaron el polimorfismo del gen MCM6 relacionado con la persistencia a la lactasa (rs4988235) se observó mayor IMC entre los portadores del alelo asociado con dicha persistencia (Kettunen J et al, 2010).

En un estudio previo con esta población mediterránea de elevado riesgo cardiovascular también se encontró asociación entre el polimorfismo rs4988235 con diversos fenotipos relacionados con la obesidad, siendo también los portadores del alelo asociado con la persistencia a la lactasa los que presentaron mayor riesgo de obesidad (Corella D et al, 2010). Además, en esta misma población también se ha observado que el polimorfismo rs4988235 presenta un parcial desequilibrio de ligamiento con el polimorfismo rs3754686 (Arregui M et al, 2010), objeto de estudio del presente trabajo.

Por otro lado, no se detectaron diferencias en la frecuencia de consumo de productos lácteos según el genotipo del rs3754686 en esta población. Tampoco se detectaron diferencias en el estudio previo realizado con el polimorfismo rs4988235 (Corella D et al, 2010). La falta de asociación con el consumo de lácteos puede subyacer en el hecho de tratarse de población de edad avanzada, que puede presentar mayor consumo de lácteos por recomendaciones médicas para ayudar en la prevención y tratamiento de la osteoporosis (Corella D et al, 2010). Además, otros estudios han detectado diferencias en la asociación entre el polimorfismo

relacionado con la persistencia a la lactasa y el consumo de productos lácteos en función de la edad y el sexo (Gugatschka M et al, 2005; Lehtimäki T et al, 2006; Torniaainen S et al, 2007; Gugatschka M et al, 2007; Sacerdote C et al, 2007; Lehtimäki T et al, 2008; Laaksonen MM et al, 2009; Smith GD et al, 2009; Almon R et al, 2010). En este sentido, en función del sexo en esta población se ha detectado una interacción gen*sexo en la determinación del consumo de productos lácteos (p interacción rs3754686*consumo de lacteos=0,025). De manera que en mujeres, las homocigotas AA muestran un menor consumo respecto de las que presentan el genotipo heterocigoto u homocigoto GG, sin detectarse estas diferencias en hombres. Una posible explicación podría ser el hecho de las diferencias en la sensibilidad a los síntomas gastrointestinales según el sexo, siendo mayor en mujeres (Vesa TH et al, 1998). Incluso otra posible explicación podría subyacer en posibles diferencias en el consumo de lácteos entre géneros, junto con el hecho de que los síntomas gastrointestinales no suponen un problema hasta que no se alcanza un consumo de 12 gramos de lactasa al día (Wilt TJ et al, 2010).

Paralelamente, se ha observado que el polimorfismo rs3754686 muestra un efecto sobre el riesgo de obesidad en función de la frecuencia de consumo de lácteos. Así, en individuos con un consumo inferior a 20,5 veces por semana no se encontraron diferencias con parámetros relacionados con la obesidad, en cambio, entre los que presentaron un consumo superior los portadores del alelo G del rs3754686 mostraron mayor IMC, quedándose estos resultados en el límite de la significación, así como mayor riesgo de obesidad de manera significativa, incluso tras ajustar por sexo y edad. Una tendencia similar fue observada también en esta población con el polimorfismo rs4988235, siendo la primera vez que se describe la modulación de los efectos de los polimorfismos rs4988235 y rs3754686 sobre el riesgo de obesidad y fenotipos relacionados según el consumo de lácteos.

El mecanismo biológico que explica la asociación entre variantes del gen MCM6 con parámetros relacionados con la obesidad no está esclarecido. Aunque, diversos estudios han detectado diferencias en la microbiota intestinal existente en individuos obesos y los no obesos (Turnbaugh PJ et al, 2006; Armougom F et al, 2009; Sanz Y et al, 2010). Además, también se han observado diferencias en el contenido de bifidobacterias y lactobacilos entre los que muestran una persistencia de la lactasa frente a los que no (Szilagyi A et al, 2010). Por ello, es posible que los cambios en la microbiota intestinal según la persistencia a la lactasa pueden estar involucrados con variaciones en la extracción calórica de los alimentos ingeridos, y su posible asociación con obesidad, debido a la diferente capacidad de fermentación de la lactasa (Corella D et al, 2010), cuyos efectos pueden verse acentados por el consumo de productos lácteos. Sin embargo, son necesarios otros estudios que confirmen esta asociación con obesidad y su modulación según la frecuencia de consumo de lácteos en otras poblaciones, así como la identificación

de la variante causal de estos efectos o si estos polimorfismos ejercen una acción sinérgica en la regulación de la expresión del gen LCT.

En conclusión, el polimorfismo rs3754686 se ha mostrado como un marcador de riesgo de obesidad, siendo el alelo G el asociado con un incremento del riesgo en esta población mediterránea de elevado riesgo cardiovascular. Además, esta asociación se ha detectado que se encuentra altamente modulada según la frecuencia de consumo de productos lácteos, observándose un mayor impacto entre los que presentan un consumo más elevado sobre el riesgo de obesidad.

5.4.4.4 Polimorfismo rs7120118 del gen NR1H3

Recientes estudios han indicado que variaciones en el gen NR1H3 se han asociado con diferencias en la concentración de c-HDL en adultos (Robitaille J et al, 2007; Legry V et al, 2008; Sabatti C et al, 2009). En el presente trabajo se ha analizado el efecto del polimorfismo rs7120118 de dicho gen en población mediterránea. En dicha población la frecuencia observada para el alelo C es levemente inferior a la observada en población caucásica europea (0,21-0,27) (Lanktree MB et al, 2009). Sin embargo, en población del norte de Finlandia este alelo presenta una mayor prevalencia (0,42) (Sabatti C et al, 2009). En población del sur asiático también se ha observado que la frecuencia de este alelo es de 0,40 (Lanktree MB et al, 2009).

En este sentido, Sabatti C et al (2009) en un estudio de GWA realizado con la *Northern Finland Birth Cohort 1996* (NFBC1996), cuyos participantes han nacido todos en ese año y presentan unos antecedentes genéticos y exposición ambiental relativamente homogénea, identificaron por primera vez la asociación, entre obesos, del polimorfismo rs7120118 con la concentración de c-HDL, donde el alelo C se relaciona con un incremento de dicha concentración. Posteriormente, se replicó esta misma asociación en una población multiétnica formada por individuos con orígenes europeos, del sur de Asia y de China (Lanktree MB et al, 2009). No se han encontrado estudios individuales previos que examinaran dicha asociación. No obstante, en el presente estudio los portadores del alelo C también presentaron mayor concentración de c-HDL tras ajustar por factores de confusión, aportando evidencia científica de la asociación de este polimorfismo sobre la concentración de c-HDL en población mediterránea de elevado riesgo cardiovascular. Aunque, son necesarios estudios funcionales que ayuden a entender el posible efecto de este polimorfismo sobre el NR1H3.

Sin embargo, estudios llevados a cabo con ratones han demostrado que el incremento de la actividad de la proteína LXR α , codificada por el gen NR1H3, produce un aumento de los niveles de c-HDL así como una inhibición de la

absorción intestinal de colesterol (Lund EG et al, 2003; Levin N et al, 2005). El LXR α pertenece a la superfamilia de receptores nucleares, los receptores X hepáticos, encontrándose altamente expresado en el hígado, tejido adiposo, intestino y en los macrófagos (Kalaany NY et al, 2006), siendo un factor de transcripción clave que regula la expresión de genes implicados en el metabolismo del colesterol, entre los que se encuentran ABCA1, LPL y CETP, altamente implicados en la regulación del c-HDL (Clee SM et al, 2009). Por ello, polimorfismos en este gen que afecten a su funcionalidad, tanto por exceso como por defecto, pueden ocasionar variaciones en la concentración de c-HDL.

Aunque, en esta población mediterránea la asociación entre el polimorfismo rs7120118 y la concentración de c-HDL se ha mostrado dependiente de la adherencia a la DM, y entre sus componentes se ha observado que el consumo de aceite de oliva es el que ejerce una mayor influencia en esta modulación. En un estudio previo se observó como otras variantes de este gen modulan la relación entre la ingesta de colesterol y el perfil lipídico (Robitaille J et al, 2007). En el presente estudio los individuos portadores del alelo C presentaron mayor concentración de c-HDL que los homocigotos TT solo si presentaban una baja adherencia a la DM, sin detectarse diferencias según el genotipo entre los individuos con una alta adherencia. El patrón de DM se caracteriza por una amplia variedad de alimentos cardiosaludables, con un bajo contenido en AGS y colesterol, y con un aporte de grasa formada por AGM procedente del aceite de oliva y AGP procedentes del pescado, entre otros (Ros E et al, 2008). Diversos estudios han indicado un efecto beneficioso de la adherencia a la DM sobre la concentración de c-HDL en comparación con la baja adherencia a la DM (Chrysohoou C et al, 2004; Mantzoros CS et al, 2006; Tzima N et al, 2007). En este sentido, en el estudio piloto del estudio PREDIMED tras 3 meses de seguimiento de los participantes distribuidos en 3 grupos distintos de intervención; dieta baja en grasa o DM con suplementación de frutos secos o aceite de oliva, se observó un incremento en la concentración de c-HDL entre los individuos pertenecientes a ambos grupos de intervención de DM, especialmente en los que recibieron una suplementación de aceite de oliva (Estruch R et al, 2006).

Además, se ha indicado que el alto contenido de AGM del aceite de oliva ejerce efectos beneficiosos sobre el riesgo cardiovascular, sin embargo, existe evidencia de que sus componentes minoritarios también influyen sobre sus propiedades beneficiosas (López-Miranda J et al, 2010). De hecho, en el estudio EUROLIVE se mostró que el consumo de aceite de oliva con un alto contenido de componentes fenólicos proporciona un mayor beneficio sobre el incremento de la concentración de c-HDL y la reducción del daño oxidativo (Covas MI et al, 2006). Así, en el presente estudio se ha observado que la diferencia en la concentración de c-HDL según el genotipo del polimorfismo rs7120118 solo se detecta en

individuos con un consumo de aceite de oliva inferior a 4 cucharadas al día, sin detectarse este efecto entre los que poseen un consumo superior, quedándose en el límite de la significación el valor de la interacción en la modulación de la concentración de c-HDL (p interacción rs7120118*consumo de aceite de oliva=0,090).

En conclusión, en el presente estudio se añade evidencia de la asociación del polimorfismo rs7120118 sobre la concentración de c-HDL, tras ajustar por factores de confusión, ya que el efecto del polimorfismo es menos latente en individuos con una alta adherencia a la DM, y en concreto con un elevado consumo de aceite de oliva, puesto que ambos factores ambientales están relacionados por sí solos con un aumento de la concentración de c-HDL.

5.5 Discusión del efecto de combinaciones genotípicas entre polimorfismos sobre parámetros relacionados con la obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular

En esta sección se muestra la discusión del efecto de la combinación genotípica de los polimorfismos rs17782313 del gen MC4R y el rs3812316 del gen MLXIPL sobre la concentración de triglicéridos, y la combinación genotípica entre el polimorfismo rs7120118 del gen NR1H3 y la variante genética rs4684677 del gen GHSR sobre la concentración de colesterol HDL.

Los polimorfismos rs17782313 y rs3812316 de los genes MC4R y MLXIPL, respectivamente, han mostrado asociación con la concentración de triglicéridos en esta población del estudio PREDIMED del nodo de Valencia.

En este sentido, los portadores del alelo C del polimorfismo rs17782313 del gen MC4R mostraron mayor concentración de triglicéridos que los homocigotos TT, con un incremento del 2,1%. Respecto al polimorfismo rs3812316 del gen MLXIPL, el aumento en la concentración de triglicéridos de los portadores G a los homocigotos CC fue del 4,3%, siendo esta diferencia en la concentración según el genotipo del polimorfismo del gen MLXIPL prácticamente el doble de la detectada para el polimorfismo del gen MC4R. Al estudiar la asociación con la concentración de triglicéridos entre la combinación genotípica formada por los genotipos asociados con menor concentración (TT/Portadores G) frente a los portadores del genotipo relacionados con un incremento de triglicéridos (Portadores C/CC), se detectó una diferencia del 5,0%, siendo superior a la observada para cada polimorfismo de manera independiente. No se detectó una interacción gen*gen estadísticamente significativa entre los polimorfismos rs17782313 del gen MC4R y

el rs3812316 del gen MLXIPL en la determinación de la concentración de triglicéridos (p interacción rs12782313*rs3812316=0,270).

Diversos estudios han detectado la asociación entre polimorfismos del gen MLXIPL con la concentración de triglicéridos (Kooner JS. et al, 2008; Willer C. et al, 2008; Kathiresan S. et al, 2008; Lanktrec M. et al, 2009; Nakayama K. et al, 2009; Murray A. et al, 2009). Sin embargo otros estudios no han hallado esta asociación (Vrablik M. et al, 2008; Polgar N. et al, 2010). Paralelamente otras variantes del gen de la MC4R se han asociado con la concentración de triglicéridos (Bronner G et al, 2006). Este efecto puede ser debido a que ambos genes están implicados en el balance de energía. Así, el MC4R se encuentra implicado en la regulación de la ingesta energética, aunque también está relacionado con el control del gasto de energía. (Balthasar N et al, 2005; Garfield AS. Et al, 2009). Respecto al MLXIPL se ha observado que está relacionado con el almacenamiento de energía (Uyeda k. ET AL, 2006; Ma L. et al, 2006), así como con la transcripción de genes implicados con la síntesis de triglicéridos, entre otros. Sin embargo, son necesarios más estudios que analicen la asociación entre ambos genes.

Por otro lado, se detectaron diferencias en la concentración de c-HDL según el genotipo del polimorfismo rs7120118 del gen NRIH3 y de la variante genética rs4684677 del gen GHRL. Así, los portadores C del rs7120118 del NRIH3 frente a los homocigotos TT mostraron un aumento del 3,9% en la concentración de c-HDL. En cambio, dicho incremento fue superior en el caso de la variante genética rs4684677 del GHRL, donde los portadores A mostraron un aumento del 5,3% de c-HDL respecto a los homocigotos TT. Aunque las diferencias en ambos polimorfismos no fueron estadísticamente significativas en los análisis en crudo, alcanzaron la significación tras ajustar con factores de confusión. Además, el análisis de la combinación de genotipos de ambas variaciones genéticas mostró un efecto mayor, ya que los individuos portadores de los alelos minoritarios de cada una de las variaciones (portadores C/portadores A) mostraron un incremento del 13,5% en la concentración de c-HDL. No se observó una interacción gen*gen estadísticamente significativa entre estas variaciones genéticas en la determinación de la concentración de c-HDL (p interacción rs7120118*rs4684677=0,310).

En este sentido, se ha identificado que la ghrelina puede actuar como regulador de la activación de los PPAR- γ a través de su receptor en los macrófagos (Demers A. et al, 2009). La activación del PPAR- γ induce la expresión del LXR α , (Chawla A. et al, 2001), codificado por el gen NRIH3, el cual, como se ha indicado en el apartado de la discusión del polimorfismo del gen NRIH3, es un factor de transcripción implicado en la regulación de genes relacionados con el metabolismo del c-HDL, como el ABCA1, LPL y CETP (Clee SM et al, 2009). Por ello, ambos polimorfismos pueden tener un efecto sinérgico en la modulación de la

concentración de c-HDL. Aunque son necesarios más estudios que analicen el efecto combinado de polimorfismos en estos genes sobre el c-HDL.

En conclusión, el polimorfismo rs3812316 del gen MLXIPL ha mostrado un mayor impacto sobre la concentración de triglicéridos que el polimorfismo rs17782313 del gen MC4R, sin embargo el efecto de ambos polimorfismos se ha mostrado potenciado en los individuos portadores de los alelos de ambos polimorfismos asociados con un mayor incremento. De manera paralela, la variante genética rs4684677 del gen GHRL mostró un mayor efecto sobre la concentración de c-HDL que el rs7120118 del gen NRIH3, aunque la combinación de ambos genotipos presentó un mayor incremento en la concentración de c-HDL que el mostrado por cada polimorfismo de manera independiente.

5.6 Discusión de las interacciones gen*gen

En este apartado se presenta la discusión entre el polimorfismo rs17782313 del gen MC4R y el rs572169 del gen GHSR sobre el perímetro de la cintura, y la interacción entre los polimorfismos rs806381 y rs6454674 del gen CNR1 con el rs17782313 del gen MC4R sobre el IMC.

5.6.1 Discusión de la interacción entre el rs17782313 del gen MC4R y el rs572169 del gen GHSR sobre el perímetro de la cintura

Como se ha indicado en los apartados de discusión de los polimorfismos rs17782313 del gen MC4R y rs572169 del gen GHSR, la asociación entre el polimorfismo rs17782313 del gen MC4R con obesidad y fenotipos relacionados ha sido consistentemente observada en diversos estudios (Qi L. et al, 2008; Hampt A et al, 2009; Liu G et al, 2010; Beckers S. et al, 2011). Sin embargo, la relación entre variantes del gen GHSR, incluido el rs572169, con fenotipos relacionados con la obesidad es controvertida. De hecho, García EA et al (2008) indicó que la falta de consistencia entre los estudios podría ser debida a asociaciones al azar o incluso a la interacción con factores ambientales o genéticos. En este sentido, en esta población de elevado riesgo cardiovascular del estudio PREDIMED del nodo de Valencia se ha detectado una interacción gen*gen entre el polimorfismo rs17782313 del gen MC4R y el rs572169 del gen GHSR en la modulación del perímetro de la cintura (p interacción rs17782313*rs572169=0,003).

De este modo, se observó que la asociación del polimorfismo rs572169 sobre el perímetro de la cintura dependía del genotipo del polimorfismo rs17782313 del

gen MC4R. Así, los portadores del alelo A del rs572169 del GHSR mostraron mayor perímetro de la cintura solo en individuos portadores del alelo C del rs17782313 del gen MC4R. Sin embargo, no se detectaron diferencias entre los homocigotos GG del rs572169 del GHSR según el genotipo del polimorfismo rs17782313 del gen MC4R. No se han detectado estudios previos que describieran una interacción entre estos polimorfismos. Aunque, una explicación podría subyacer bajo el hecho de que la acción de la ghrelina sobre el balance energético esta mediado, en parte, a través de sus efectos sobre los centros reguladores del apetito, como es el sistema de la melanocortina (DeBoer MD et al, 2006; DeBoer MD et al, 2010). La unión de la ghrelina al GHSR en el nucleo arcuato y ventromedial estimula el aumento de la expresión y liberación de péptidos orexigénicos como el AgRP y el NPY (Chen HY et al, 2004) y el descenso de la expresión de péptidos anoréxigénicos, como la POMC, la cual es procesada proteolíticamente para generar la hormona α estimulante de melanocitos (α -MHS) (Cowley MA et al, 2003). Estos efectos finalmente inducen un descenso en la señalización del MC4R y un incremento de la del receptor Y1 (DeBoer MD et al, 2011), siendo el resultado un incremento en la ingesta alimenticia y una disminución de la tasa metabólica basal (Marks DL et al, 2001; Laviano A. et al, 2008) Aunque sean necesarios futuros estudios que indiquen como los polimorfismos rs572169 del gen GHSR y el rs17782313 del gen MC4R pueden afectar a la funcionalidad de sus productos y confirmar si ambos pueden interactuar contribuyendo a un desorden en el balance energético.

En conclusión, se ha detectado en esta población mediterránea de elevado riesgo cardiovascular que el efecto de los portadores A del polimorfismo rs 572169 del gen GHSR sobre el perímetro de la cintura depende del genotipo del polimorfismo rs 17782313 del gen MC4R.

5.6.2 Discusión de la interacción entre los polimorfismos rs806381 y rs6454674 del gen CNR1 y el rs17782313 del gen MC4R sobre el IMC

Existe evidencia científica que indica que el alelo C del polimorfismo rs17782313 del gen MC4R se asocia con un mayor riesgo de obesidad (Laos RJ et al, 2008; Chambers JC. Et al, 2008) así como con fenotipos relacionados con la misma (Qi L et al, 2008; Hampt A. et al, 2009; Liu G. et al, 2010; Beckers S. et al, 2011) resultados también observados en el presente estudio mostrado en la discusión de este polimorfismo. Paralelamente, los polimorfismos rs826381 y rs6454674 del gen CNR1 se han relacionado con diversos efectos metabólicos (Dinu IR et al, 2009). Aunque, en el presente estudio la asociación entre estas variantes del gen CNR1 y el IMC solo alcanzó la significación en el caso rs806381.

Sin embargo, se ha observado que la relación entre el polimorfismo rs6454674 en el IMC se encuentra modulada por una interacción gen*gen con el polimorfismo rs17782313 del gen MC4R (p interacción rs6454674*rs17782313=0,035). En este sentido, se detectó que en individuos portadores del alelo C del polimorfismo rs17782313 del gen MC4R los portadores del genotipo homocigoto GG del rs6454674 mostraron mayor IMC respecto a los heterocigotos u homocigotos TT, de manera estadísticamente significativa. En cambio, en individuos homocigotos TT del polimorfismo del gen MC4R no se detectaron diferencias según el genotipo del rs6454674 del CNR1 en el IMC. Esta interacción podría explicar la falta de asociación de este polimorfismo con fenotipos relacionados con obesidad en esta población. Sin embargo, en el caso del polimorfismo rs806381 los homocigotos GG también mostraron mayor IMC entre los portadores G del rs17782313 del gen MC4R pero no se observó una interacción estadísticamente significativa entre los polimorfismos rs17782313 del gen MC4R y el rs806381 del gen CNR1, para la determinación del IMC (p interacción rs17782313*rs806381=0,456).

La regulación de la homeostasis de la energía es un complejo proceso en donde diversos mecanismos fisiológicos están implicados (Jandacek RJ et al, 2004) incluyendo la interacción entre receptores CB1 y MC4R (Verty AN et al, 2004). En este sentido Verty AN et al (2004) demostró por primera vez una interacción entre el sistema melacortina y el sistema canabinoide en la regulación de la ingesta de alimentos. Estos autores sugirieron que en el papel que desempeña el sistema melanocortina en la regulación de la ingesta alimentaria se encuentra implicado el receptor 1 del sistema cannabinoide, codificado por el CNR1. Sin embargo, Sinnayah P et al (2008) indicó que los efectos de los cannabinoides sobre el balance energético son independientes de la función hipotálamica del sistema melanocortina. Estos autores indicaron que las diferencias observadas respecto al estudio de Verty AN et al (2004) pueden ser debidas a diferencias en los sistemas utilizados para bloquear o activar el MC4R o el sistema canabinoide respectivamente, así como el uso de especies de animales diferentes para la investigación. Por ello, son necesarios otros estudios que analicen la posible interacción entre ambos sistemas en la regulación de la ingesta energética, así como el posible efecto de polimorfismos en los receptores de la melacortina y del sistema canabinoide.

En conclusión, no se ha encontrado modulación de la asociación del polimorfismo rs806381 con el IMC por el polimorfismo rs17782313 del gen de la MC4R, en cambio, en el caso del rs6454674, el genotipo del polimorfismo rs17782313 influye en la determinación de su asociación con el IMC en esta población de elevado riesgo cardiovascular.

5.7 Discusión de la secuenciación de los exones del gen ADIPOQ

El gen ADIPOQ, el cual codifica para la hormona del tejido adiposo; la adiponectina, es un gen altamente polimórfico (Kyriakov T et al, 2008). Diversas variantes genéticas del gen ADIPOQ han mostrado asociación con los niveles de concentración de adiponectina y con distintos factores de riesgo cardiovascular en poblaciones diversas. Sin embargo, existen resultados contradictorios en estas asociaciones (Kyriakov T et al, 2008), como se ha indicado en el apartado de la discusión de los polimorfismos del gen ADIPOQ. La falta de consistencia en estos hallazgos hace hincapié en la necesidad de caracterizar variantes genéticas en el gen ADIPOQ, así como en sus regiones próximas (Mengazhi C et al, 2007).

En este sentido, en el presente estudio se analizó la secuencia de los 3 exones del gen ADIPOQ en individuos que habían mostrado concentraciones extremas de adiponectina ($> 30\mu\text{g/mL}$ y $<5\ \mu\text{g/mL}$) para tratar de identificar nuevas variantes en esta región. Entre las muestras analizadas se detectaron 2 polimorfismos y una variante genética en heterocigosis, las cuales estaban ya previamente identificadas. Entre estos polimorfismos se encontraba el rs17366653 situado en el intrón 1 del gen ADIPOQ (GU HF et al, 2009), para el cual no se han hallado estudios previos que indiquen la asociación de este polimorfismo con concentración de adiponectina o con características antropométricas, bioquímicas o clínicas. También se identificaron el polimorfismo rs2241766 y la variante genética rs17366743, previamente incluidos entre los seleccionados para analizar en el presente trabajo. La asociación entre el polimorfismo rs2241766 y la concentración de adiponectina, así como con obesidad y DMT2 es controvertida (Vasseur F et al, 2002; Yang WS et al, 2003; Hu FB et al, 2004(b); Fumeren F et al, 2004; Sutton BS et al, 2005; Pollin TI et al, 2005; Menzaghi C et al, 2007; Hivert MF et al, 2008; Siitonen N et al, 2011). Respecto al rs17366743, el mayor impacto de esta variante genética ha sido su asociación con DMT2 o características relacionadas (Vasseur F et al 2002; Hivert MR et al 2008; Ukkola O et al, 2005), aunque algunos estudios no han detectado distintas asociaciones (Heid IM et al, 2006; Siitonen N et al, 2011).

Distintos polimorfismos distribuidos en diferentes regiones del gen ADIPOQ han mostrado asociación con la concentración de adiponectina, sin embargo, se ha detectado una fuerte influencia en la concentración de adiponectina por polimorfismos situados en la región del promotor (Laumen H et al 2009), así como una variante situada en el intrón 1 (Heid IM et al, 2010), siendo polimorfismos que presentan mayoritariamente una baja prevalencia. También, recientemente se ha identificado en el gen ADIPOQ una variante (G45R) con una baja prevalencia (1,1%), que puede explicar aproximadamente el 17% de la variación en los niveles de adiponectina plasmática en población americana de origen hispano (Bowden

DW et al, 2010). Así, el hecho de tratarse de polimorfismos con baja prevalencia hace que se dificulte su identificación.

Por lo tanto, son necesarios estudios que realicen una caracterización completa del gen ADIPOQ con un elevado tamaño muestral, así como la identificación de variantes en genes adicionales implicados en la regulación de los niveles de adiponectina que no están situados en el locus del ADIPOQ (Menzaghi C et al, 2007; Heid IM et al, 2010).

En conclusión, en esta población de elevado riesgo cardiovascular no se han detectado nuevas variantes en el gen de la adiponectina. Sin embargo, dada la variabilidad en la asociación entre distintos polimorfismos del gen ADIPOQ con la concentración de adiponectina y con distintos factores de riesgo cardiovascular sería interesante que futuros estudios caracterizaran polimorfismos situados tanto en el locus ADIPOQ como en otras regiones que pueden modular la concentración de adiponectina.

Los resultados obtenidos nos permiten llegar a las siguientes conclusiones:

1. En esta población mediterránea de elevado riesgo cardiovascular, un nivel bajo de estudios se asocia a una mayor prevalencia de obesidad. Del mismo modo, el sedentarismo y una baja adherencia a la Dieta Mediterránea también se asocian con una mayor prevalencia de obesidad.
2. Las concentraciones de adipocitoquinas plasmáticas presentan un amplio intervalo en esta población de alto riesgo cardiovascular, identificando algunos factores consistentemente asociados con las mismas. Así, hemos encontrado diferencias importantes en función del sexo, peso, diabetes y concentraciones plasmáticas de lípidos. En general, la concentración plasmática de adiponectina se relaciona con un perfil lipídico más favorable y una menor presencia de factores de riesgo cardiovascular, salvo de hipertensión. En cambio, las concentraciones de leptina y AGNE se muestran aumentadas en individuos con mayor peso y un perfil de riesgo cardiovascular más desfavorable, siendo más evidente esta asociación en individuos obesos.
3. Hemos identificado algunos factores ambientales que modulan las concentraciones de adipocitoquinas y AGNE en esta población. Así, la realización de actividad física ejerce una importante disminución en la modulación de la concentración de AGNE. Además, el consumo de alimentos característicos de la Dieta Mediterránea favorece el incremento de la concentración de adiponectina mientras que disminuye la de leptina y AGNE.
4. El análisis de polimorfismos situados en genes de adipocitoquinas y sus receptores, en genes relacionados con la ingesta energética, en genes relacionados con la DMT2 y en genes relacionados con el metabolismo lipídico ha revelado la gran variabilidad en la prevalencia de las distintas variantes genéticas en esta población. Así, los polimorfismos menos prevalentes fueron el rs17366743 del gen ADIPOQ y el rs4684677 del gen GHRL. En cambio, los polimorfismos rs7799039 del gen LEP y el rs3754686 del gen MCM6 fueron los que mostraron una mayor prevalencia, situándose los demás en valores intermedios. Por otra parte, se detectó un fuerte desequilibrio de ligamiento entre los polimorfismos rs806381 y rs6454674 del gen CNR1, entre el rs5219

del gen KCNJ11 y rs757110 del gen ABCC8 y entre el rs3812316 y rs17145738 de la región del gen MLXIPL. El análisis de los exones del gen ADIPOQ mediante secuenciación directa ha resultado en la detección de variantes genéticas que ya estaban previamente descritas y no hemos podido por tanto realizar el cribado de nuevas variantes en la población.

5. Algunas de las variantes genéticas estudiadas han mostrado importantes asociaciones significativas con los fenotipos de interés. Destacamos las asociaciones entre polimorfismos de distintos genes con la concentración de adipocitoquinas y de AGNE. Entre ellos resaltamos la asociación entre los polimorfismos rs17300539 y rs1501299 del gen ADIPOQ y del haplotipo formado por ambos con la adiponectinemia, sugiriendo la posible modulación de estos parámetros a través de distintas rutas reguladoras. También se han mostrado asociaciones con fenotipos relacionados con la obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular entre las que destacan las asociaciones del polimorfismo rs17366743 del gen ADIPOQ con glucosa, el rs17782313 del gen MC4R con peso, niveles de triglicéridos y AGNE y la asociación de los polimorfismos rs3812316 y rs17145738 de la región del MLXIPL con triglicéridos, e igualmente el haplotipo formado por ambos.
6. Paralelamente, en esta población con un marcado riesgo cardiovascular diversos polimorfismos han mostrado una elevada relevancia en el riesgo de obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular, siendo las asociaciones más relevantes las detectadas entre el polimorfismo rs1137101 del gen RLEP con obesidad, previamente descrita en otras poblaciones, aunque con variaciones respecto al alelo responsable, y entre el rs3754686 del gen MCM6 con obesidad y el rs925946 del gen BDNF con hipertensión descritas por primera vez.
7. Se han detectado interacciones gen*gen en la determinación de factores relacionados con la obesidad entre los polimorfismos rs17782313 del gen MC4R y rs572169 del gen GHSR sobre el perímetro de la cintura y entre los polimorfismos rs6454674 del gen CNR1 y rs17782313 del gen MC4R sobre el IMC. Estas interacciones muestran que el impacto de una variante genética sobre un fenotipo también puede depender de la presencia de otra variante en otro gen distinto, indicando una posible relación entre ambos o de su efecto. Del mismo modo, hemos encontrado varias interacciones gen*ambiente, de manera que los efectos de determinadas variantes genéticas son modulados por distintos factores ambientales. Entre estas interacciones destacamos las siguientes: la interacción con tabaco del polimorfismo rs4684677 del gen GHRL sobre el IMC, las interacciones con actividad física del polimorfismo rs1044498 del gen ENPP1 sobre el peso y la glucosa y las interacciones con

dieta del polimorfismo rs17300539 del gen ADIPOQ y el consumo de legumbres sobre el peso y la adiponectina, del polimorfismo rs2880411 del gen NPY2R y el consumo de carnes rojas y productos cárnicos sobre el IMC y la interacción entre el polimorfismo rs1761667 en el gen CD36 con el consumo de pescado/marisco sobre la concentración de triglicéridos, adiponectina y AGNE. La detección de estas modulaciones constituye una evidencia de la importancia de la consideración tanto de factores genéticos como ambientales en el estudio de la obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular.

En este Capítulo se han incluido todas las referencias consultadas a lo largo de esta tesis según el orden alfabético:

Aas V, Rokling-Andersen MH, Kase ET, Thoresen GH, Rustan AC. Eicosapentaenoic acid (20:5 n-3) increases fatty acid and glucose uptake in cultured human skeletal muscle cells. *J Lipid Res.* 2006;47:366-74.

Aasheim ET, Hofso D, Hjelmestaeth J, Birkeland KI, Bohmer T. Vitamin status in morbidly obese patients: a cross-sectional study. *Am J Clin Nutr.* 2008;87:362-9.

Abate N, Garg A, Peshock RM, Stray-Gundersen J, Grundy SM. Relationships of generalized and regional adiposity to insulin sensitivity in men. *J Clin Invest.* 1995;96:88-98.

Abate N, Chandalia M, Snell PG, Grundy SM. Adipose tissue metabolites and insulin resistance in nondiabetic Asian Indian men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:2750-5

Abate N, Chandalia M, Satija P, Adams-Huet B, Grundy SM, Sandeep S, Radha V, Deepa R, Mohan V. ENPP1/PC-1 K121Q polymorphism and genetic susceptibility to type 2 diabetes. *Diabetes.* 2005;54:1207-13.

Abbasi F, Farin HM, Lamendola C, McLaughlin T, Schwartz EA, Reaven GM, Reaven PD. The relationship between plasma adiponectin concentration and insulin resistance is altered in smokers. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:5002-7.

Aberle J, Flitsch J, Beck NA, Mann O, Busch P, Peitsmeier P, Beil FU. Genetic variation may influence obesity only under conditions of diet: analysis of three candidate genes. *Mol Genet Metab.* 2008;95:188-91.

Adamczak M, Wiecek A, Funahashi T, Chudek J, Kokot F, Matsuzawa Y. Decreased plasma adiponectin concentration in patients with essential hypertension. *Am J Hypertens.* 2003;16:72-5.

Agencia española de seguridad alimentaria (AES): Estrategia NAOS. Estrategia para la Nutrición, Actividad Física y Prevención de la Obesidad. Ministerio de Sanidad y Consumo; Madrid; 2005.

Aguilar-Bryan L, Bryan J. Molecular biology of adenosine triphosphate-sensitive potassium channels. *Endocr Rev.* 1999; 20:101-35

Aguilera-Zubizarreta E, Ugarte-Miota T, Muñoz Cacho P, Vara-González L, Sanz de Castro S; Grupo CANHTABRIA. Prevalence of overweight and obesity in Cantabria. *Gac Sanit.* 2008;22:461-4.

Ahima RS, Osei SY. Leptin signaling. *Physiol Behav.* 2004;81:223-41.

Ahima RS, Antwi DA. Brain regulation of appetite and satiety. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2008;37:811-23.

Ahituv N, Kavaslar N, Schackwitz W, Ustaszewska A, Collier JM, Hébert S, Doelle H, Dent R, Pennacchio LA, McPherson R. A PYY Q62P variant linked to human obesity. *Hum Mol Genet.* 2006;15:387-91.

- Ajuwon KM, Spurlock ME. Adiponectin inhibits LPS-induced NF-kappaB activation and IL-6 production and increases PPARgamma2 expression in adipocytes. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2005;288:R1220-25.
- Akbarbartoortoori M, Lean ME, Hankey CR. The associations between current recommendation for physical activity and cardiovascular risks associated with obesity. *Eur J Clin Nutr.* 2008;62:1-9.
- Alarcon-Aguilar FJ, Almanza-Perez J, Blancas G, Angeles S, Garcia-Macedo R, Roman R, Cruz M. Glycine regulates the production of pro-inflammatory cytokines in lean and monosodium glutamate-obese mice. *Eur J Pharmacol.* 2008;599:152-8.
- Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1. Diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med.* 1998;15:539-53.
- Alfenas RC, Mattes RD. Effect of fat sources on satiety. *Obes Res.* 2003;11:183-7.
- Almon R, Alvarez-Leon EE, Engfeldt P, Serra-Majem L, Magnuson A, Nilsson TK. Associations between lactase persistence and the metabolic syndrome in a cross-sectional study in the Canary Islands. *Eur J Nutr.* 2010;49:141-6.
- Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.* 1997;25:3389-402.
- Altschuler D, Hirschhorn JN, Klannemark M, Lindgren CM, Vohl MC, Nemesh J, Lane CR, Schaffner SF, Bolk S, Brewer C, Tuomi T, Gaudet D, Hudson TJ, Daly M, Groop L, Lander ES. The common PPARgamma Pro12Ala polymorphism is associated with decreased risk of type 2 diabetes. *Nat Genet.* 2000;26:76-80.
- An P, Rice T, Rankinen T, Leon AS, Skinner JS, Wilmore JH, Bouchard C, Rao DC. Genome-wide scan to identify quantitative trait loci for baseline resting heart rate and its response to endurance exercise training: the HERITAGE Family Study. *Int J Sports Med.* 2006;27:31-6.
- An P, Freedman BI, Hanis CL, Chen YD, Weder AB, Schork NJ, Boerwinkle E, Province MA, Hsiung CA, Wu X, Quertermous T, Rao DC. Genome-wide linkage scans for fasting glucose, insulin, and insulin resistance in the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Blood Pressure Program: evidence of linkages to chromosome 7q36 and 19q13 from meta-analysis. *Diabetes.* 2005;54:909-14.
- An P, Feitosa M, Ketkar S, Adelman A, Lin S, Borecki I, Province M. Epistatic interactions of CDKN2B-TCF7L2 for risk of type 2 diabetes and of CDKN2B-JAZF1 for triglyceride/high-density lipoprotein ratio longitudinal change: evidence from the Framingham Heart Study. *BMC Proc.* 2009;3:S71.
- Andreason NC, Black DW (eds). *Mood disorders.* In: *Introductory Textbook of Psychiatry.* 2nd ed. Washington, DC: American Psychiatric Press, Inc. 1995;247-88.
- Andersson K, Arner P. Systemic nicotine stimulates human adipose tissue lipolysis through local cholinergic and catecholaminergic receptors. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2001;25:1225-32.
- Andreoli A, Lauro S, Di Daniele N, Sorge R, Celi M, Volpe SL. Effect of a moderately hypoenergetic Mediterranean diet and exercise program on body cell mass and cardiovascular risk factors in obese women. *Eur J Clin Nutr.* 2008;62:892-7.
- Aparici M, Fernández González AL, Alegría E. Somatometría y perfil lipídico en fumadores. Modificaciones tras el abandono del tabaco. *Med Clin (Barc).* 1991;97:86-8.
- Apovian CM, Bigornia S, Mott M, Meyers MR, Ulloor J, Gagua M, McDonnell M, Hess D, Joseph L, Gokce N. Adipose macrophage infiltration is associated with insulin resistance and vascular endothelial dysfunction in obese subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008;28:1654-9.

Aranceta J, Pérez Rodríguez C, Serra Majem L, Ribas Barba L, Quiles Izquierdo J, Vioque J, Tur Marí J, Mataix Verdú J, Llopis González J, Tojo R, Foz Sola M, Grupo Colaborativo para el Estudio de la Obesidad en España. Prevalencia de la obesidad en España: resultados del estudio SEEDO 2000. *Med Clin (Barc)*. 2003;120:608-12.

Aranceta J, Pérez Rodrigo C, Serra Majem L, Vioque J, Tur Marí JA, Mataix Verdú J. Estudio DORICA: dislipemia, obesidad y riesgo cardiovascular. En: Aranceta J, Foz M, Gil B, Jover E, Mantilla T, Millán J, Monereo S, Moreno B, editores. *Obesidad y riesgo cardiovascular. Estudio DORICA*. Madrid: Panamericana; 2004:125-56.

Aranceta Bartrina J, Serra Majem LL, Foz-Sala M, Moreno Estaban B y grupo colaborativo SEEDO. Prevalencia de obesidad en España. *Med Clin (Barc)* 2005;125:460-6 (a)

Aranceta Bartrina J, Pérez Rodrigo C, Ribas Barba L, Serra Majem L. Epidemiología y factores determinantes de la obesidad infantil y juvenil en España. *Rev Pediatr Aten Primaria*. 2005;7:S13 20 (b)

Argente J, Martos-Moreno GA, Hernandez M. El tejido adiposo como glándula endocrina. *Bol. Pediatr*. 2006; 46: 269-274.

Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;257:79-83.

Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, Kumada M, Hotta K, Nishida M, Takahashi M, Nakamura T, Shimomura I, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y. Adipocyte-derived plasma protein adiponectin acts as a platelet-derived growth factor-BB-binding protein and regulates growth factor-induced common postreceptor signal in vascular smooth muscle cell. *Circulation*. 2002;105:2893-8.

Armougom F, Henry M, Vialettes B, Raccach D, Raoult D. Monitoring bacterial community of human gut microbiota reveals an increase in *Lactobacillus* in obese patients and *Methanogens* in anorexic patients. *PLoS ONE*. 2009;4:7125.

Arnaud J, Bertrais S, Roussel AM, Arnault N, Ruffieux D, Favier A, Berthelin S, Estaquio C, Galan P, Czernichow S, Hercberg S. Serum selenium determinants in French adults: the SU.VI.M.AX study. *Br J Nutr*. 2006;95:313-20.

Arner P. Free fatty acids—do they play a central role in type 2 diabetes?. *Diabetes Obes Metab*. 2001;3:S11–S19

Arner P. Insulin resistance in type 2 diabetes: role of fatty acids. *Diabetes Metab Rev*. 2002;18:5-9.

Arregui M, Coltell O, Portolés O, Asensio EM, Olivares L, Corella D. Asociación del polimorfismo rs3754686 del gen MCM6 con peso y obesidad en población mediterránea española. Comunicaciones póster presentadas al Simposium Nacional De Obesidad: Aspectos Básicos y Aplicados. X EDICIÓN. Reus, 1 y 2 de marzo de 2010. (Simposium Satélite del II Congreso FESNAN-2010). *Nutr. Hosp*. 2010;25:491-2.

Arya R, Blangero J, Williams K, Almasy L, Dyer TD, Leach RJ, O'Connell P, Stern MP, Duggirala R. Factors of insulin resistance syndrome--related phenotypes are linked to genetic locations on chromosomes 6 and 7 in nondiabetic mexican-americans. *Diabetes*. 2002;51:841-7.

Asakawa A, Inui A, Kaga T, Yuzuriha H, Nagata T, Ueno N, Makino S, Fujimiya M, Nijjima A, Fujino MA, Kasuga M. Ghrelin is an appetite-stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin. *Gastroenterology*. 2001;120:337-45.

Asakura H. Fetal and neonatal thermoregulation. *J Nippon Med Sch*. 2004; 71: 360-370

Asferg C, Mogelvang R, Flyvbjerg A, Frystyk J, Jensen JS, Marott JL, Appleyard M, Jensen GB, Jeppesen J. Leptin, not adiponectin, predicts hypertension in the Copenhagen City Heart Study. *Am J Hypertens*. 2010;23:327–33.

- Ashton WD, Nanchahal K, Wood DA. Body mass index and metabolic risk factors for coronary heart disease in women. *Eur Heart J*. 2001;22:46–55.
- Astrup A and Finer N. Redefining type 2 diabetes: 'diabesity' or 'obesity dependent diabetes mellitus?'. *Obes Rev*. 2000;1:57-9.
- Azadbakht L, Mirmiran P, Shiva N, Azizi F. General obesity and central adiposity in a representative sample of Tehranian adults: prevalence and determinants. *Int J Vitam Nutr Res*. 2005;75:297-304.
- Azadbakht L, Esmailzadeh A. Red meat intake is associated with metabolic syndrome and the plasma C-reactive protein concentration in women. *J Nutr*. 2009;139:335-9.
- Babio N, Bulló M, Basora J, Martínez-González MA, Fernández-Ballart J, Márquez-Sandoval F, Molina C, Salas-Salvadó J, Nureta-PREDIMED Investigators. Adherence to the Mediterranean diet and risk of metabolic syndrome and its components. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2009;19:563-70.
- Bacci S, Menzaghi C, Ercolino T, Ma X, Rauseo A, Salvemini L, Vigna C, Fanelli R, Di Mario U, Doria A, Trischitta V. The +276 G/T single nucleotide polymorphism of the adiponectin gene is associated with coronary artery disease in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2004;27:2015-20.
- Bacci S, Ludovico O, Prudente S, Zhang Y-Y, Di Paola R, Mangiacotti D, Rauseo A, Nolan D, Duffy J, Fini G, Salvemini L, Amico C, Vigna C, Pellegrini F, Menzaghi C, Doria A, Trischitta V. The K121Q polymorphism of the ENPP1/PC-1 gene is associated with insulin resistance/atherogenic phenotypes, including earlier onset of type 2 diabetes and myocardial infarction. *Diabetes*. 2005;54:3021-5.
- Bacci S, Di Paola R, Menzaghi C, Di Fulvio P, Di Silvestre S, Pellegrini F, Baratta R, Marucci A, Mastroianno S, Fini G, Formoso G, Consoli A, Perticone F, Frittitta L, Pandolfi A, Trischitta V. ENPP1 Q121 variant, increased pulse pressure and reduced insulin signaling, and nitric oxide synthase activity in endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2009;29:1678-83.
- Badman MK, Flier JS. The gut and energy balance: Visceral allies in the obesity wars. *Science*. 2005;307:1909-1914.
- Bado A, Levasseur S, Attoub S, Kermorgant S, Laigneau JP, Bortoluzzi MN, Moizo L, Lehy T, Guerre-Millo M, Le Marchand-Brustel Y, Lewin MJ. The stomach is a source of leptin. *Nature*. 1998;394:790-3.
- Baessler A, Hasinoff MJ, Fischer M, Reinhard W, Sonnenberg GE, Olivier M, Erdmann J, Schunkert H, Doering A, Jacob HJ, Comuzzie AG, Kissebah AH, Kwitek AE. Genetic linkage and association of the growth hormone secretagogue receptor (ghrelin receptor) gene in human obesity. *Diabetes*. 2005;54:259-67.
- Baessler A, Fischer M, Mayer B, Koehler M, Wiedmann S, Stark K, Doering A, Erdmann J, Riegger G, Schunkert H, Kwitek AE, Hengstenberg C. Epistatic interaction between haplotypes of the ghrelin ligand and receptor genes influence susceptibility to myocardial infarction and coronary artery disease. *Hum Mol Genet*. 2007;16: 887–899.
- Bakker AH, Van Dielen FM, Greve JW, Adam JA, Buurman WA. Preadipocyte number in omental and subcutaneous adipose tissue of obese individuals. *Obes Res*. 2004 ;12:488-498.
- Balding DJ. A tutorial on statistical methods for population association studies. *Nat Rev Genet*. 2006;7:781-91.
- Balthasar N, Dalgaard LT, Lee CE, Yu J, Funahashi H, Williams T, Ferreira M, Tang V, McGovern RA, Kenny CD, Christiansen LM, Edelstein E, Choi B, Boss O, Aschkenasi C, Zhang CY, Mountjoy K, Kishi T, Elmquist JK, Lowell BB. Divergence of melanocortin pathways in the control of food intake and energy expenditure. *Cell*. 2005;123:493-505.
- Banegas JR, Rodríguez-Artalejo F, Ruilope LM, Graciani A, Luque M, de la Cruz-Troca JJ, García-Robles R, Tamargo J, Rey-Calero J. Hypertension magnitude and management in the elderly population of Spain. *J Hypertens*. 2002;20:2157-64.

Banegas JR, Vegazo O, Serrano P, Luengo E, Mantilla T, Fernández R, Civeira F; HISPALIPID Study Group Investigators. The gap between dyslipidemia control perceived by physicians and objective control patterns in Spain. *Atherosclerosis*. 2006;188:420-4.

Banegas JR, Jovell A, Abarca B, Aguilar D, Aguilera L, Aranda P, Bertoméu V, Capilla P, Conthe P, De Álvaro F, Fernández-Pro A, Hormiguera X, Frias J, Guerrero L, Llisterri JL, Macías JF, Martín de Francisco AL, Millán J, Morales JC, Palomo V, Roca-Cusachs A, Román J, Sanchos C, Sarriá A, Segura J, De la Sierra A, Verde L, Zarco J, Ruilope LM. Hipertensión arterial y política de salud en España. Documento de consenso. *Medicina Clínica (Barc)*. 2009;132:222-9.

Banerjee M, Gautam S, Saxena M, Bid HK, Agrawal CG. Association of CD36 gene variants rs1761667 (G > A) and rs1527483 (C > T) with Type 2 diabetes in North Indian population. *Int J Diabetes Mellit*. 2010;2:179-83.

Banks WA, Kastin AJ, Huang W, Jaspan JB, Maness LM. Leptin enters the brain by a saturable system independent of insulin. *Peptides*. 1996;17:305-311.

Baratta R, Amato S, Degano C, Farina MG, Patané G, Vigneri R, Frittitta L. Adiponectin relationship with lipid metabolism is independent of body fat mass: evidence from both cross-sectional and intervention studies. *Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:2665-71.

Baratta R, Di Paola R, Spampinato D, Fini G, Marucci A, Coco A, Vigneri R, Frittitta L, Trischitta V. Evidence for genetic epistasis in human insulin resistance: the combined effect of PC-1 (K121Q) and PPARGgamma2 (P12A) polymorphisms. *J Mol Med*. 2003;81:718-23.

Barazzoni R, Zanetti M, Stebel M, Biolo G, Cattin L, Guarnieri G. Hyperleptinemia prevents increased plasma ghrelin concentration during shortterm moderate caloric restriction in rats. *Gastroenterology*. 2003; 124:1188-92.

Barden A. Pre-eclampsia: contribution of maternal constitutional factors and the consequences for cardiovascular health. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006;33:826-830.

Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics* 2005;21:263-5.

Barroso I, Luan J, Middelberg RP, Harding AH, Franks PW, Jakes RW, Clayton D, Schafer AJ, O'Rahilly S, Wareham NJ. Candidate gene association study in type 2 diabetes indicates a role for genes involved in beta-cell function as well as insulin action. *PLoS Biol*. 2003;1:E20.

Baskin, DG, Blevins, JE, Schwartz, MW. How the brain regulates food intake and body weight: the role of leptin. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2001;14:1417-21.

Bastard JP, Maachi M, Van Nhieu JT, Jardel C, Bruckert E, Grimaldi A, Robert JJ, Capeau J, Hainque B. Adipose tissue IL-6 content correlates with resistance to insulin activation of glucose uptake both in vivo and in vitro. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:2084-9.

Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, Kim MJ, Caron M, Vidal H, Capeau J, Feve B. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw*. 2006;17:4-12.

Bastarrachea-Sosa R, Laviada-Molina H, Vargas-Ancona L. La obesidad y enfermedades relacionadas con la nutrición en Yucatán. *Rev. Endocrinol. Nutr*. 2001;9: 73-76.

Bates SH, Stearns WH, Dundon TA, Schubert M, Tso AW, Wang Y, Banks AS, Lavery HJ, Haq AK, Maratos-Flier E, Neel BG, Schwartz MW, Myers MG Jr. STAT3 signalling is required for leptin regulation of energy balance but not reproduction. *Nature*. 2003;421:856-9.

Batterham RL, CowleyMA, Small CJ, Herzog H, CohenMA, Dakin CL, Wren AM, Brynes AE, Low MJ, Ghatei MA, Cone RD, Bloom SR. Gut hormone PYY(3-36) physiologically inhibits food intake. *Nature*. 2002;418:650-4

Batterham RL, Bloom SR. The gut hormone peptide YY regulates appetite. *Ann N Y Acad Sci*. 2003;994:162-8

Bauer F, Elbers CC, Adan RA, Loos RJ, Onland-Moret NC, Grobbee DE, van Vliet-Ostaptchouk JV, Wijmenga C, van der Schouw YT. Obesity genes identified in genome-wide association studies are associated with adiposity measures and potentially with nutrient-specific food preference. *Am J Clin Nutr.* 2009;90:951-9.

Bautista-Castaño I, Molina-Cabrillana J, Montoya-Alonso JA, Serra-Majem L. Variables predictive of adherence to diet and physical activity recommendations in the treatment of obesity and overweight, in a group of Spanish subjects. *Int Obes Relat Metab Disord.* 2004;28:697-705.

Bays H, Abate N, Chandalia M. Adiposopathy: sick fat causes high blood sugar, high blood pressure and dyslipidemia. *Future Cardiol.* 2005;1:39-59.

Beaumont NJ, Skinner VO, Tan TM, Ramesh BS, Byrne DJ, MacColl GS, Keen JN, Bouloux PM, Mikhailidis DP, Bruckdorfer KR, Vanderpump MP, Srai KS. Ghrelin can bind to a species of high density lipoprotein associated with paraoxonase. *J Biol Chem.* 2003;278:8877-80

Beckers S, Peeters AV, de Freitas F, Mertens IL, Verhulst SL, Haentjens D, Desager KN, Van Gaal LF, Van Hul W. Association study and mutation analysis of adiponectin shows association of variants in APM1 with complex obesity in women. *Ann Hum Genet.* 2009;73:492-501.

Beckers S, Zegers D, de Freitas F, Mertens IL, Van Gaal LF, Van Hul W. Association study of MC4R with complex obesity and replication of the rs17782313 association signal. *Mol Genet Metab.* 2011;103:71-5.

Beer-Borst S, Morabia A, Hercberg S, Vitek O, Bernstein MS, Galan P, Galasso R, Giampaoli S, Houterman S, McCrum E, Panico S, Pannozzo F, Preziosi P, Ribas L, Serra-Majem L, Verschuren WM, Yarnell J, Northridge ME. Obesity and other health determinants across Europe: the EURALIM project. *J Epidemiol Community Health.* 2000;54:424-30.

Belahsen R, Rguibi M. Population health and Mediterranean diet in southern Mediterranean countries. *Public Health Nutr.* 2006;9:1130-5.

Bell CG, Walley AJ, Froguel P. The genetics of human obesity. *Nat Rev Genet.* 2005;6:221-34.

Bellido Casado J, Martín Escudero JC, Dueñas Laita A, Mena Martí FJ, Arzua Mouronte D, Simal Blanco F. Hábito tabáquico en una población general: descripción de la prevalencia, grado de consolidación y fase de abandono. *Arch Bronconeumol.* 2001;37:75-80.

Belza MJ, Quiroga J, Beland F, Zunzunegui MV. La hipertensión en las personas ancianas: prevalencia, conocimiento, tratamiento y control. *Aten Primaria.* 1997;19:367-71.

Ben Ali S, Kallel A, Sediri Y, Ftouhi B, Feki M, Slimene H, Jemaa R, Kaabachi N. LEPR p.Q223R Polymorphism influences plasma leptin levels and body mass index in Tunisian obese patients. *Arch Med Res.* 2009;40:186-90.

Bensaïd A, Tomé D, Gietzen D, Even P, Morens C, Gausseres N, Fromentin G. Protein is more potent than carbohydrate for reducing appetite in rats. *Physiol Behav.* 2002;75:577-82.

Benzinou M, Chèvre JC, Ward KJ, Lecoecur C, Dina C, Lobben S, Durand E, Delplanque J, Horber FF, Heude B, Balkau B, Borch-Johnsen K, Jørgensen T, Hansen T, Pedersen O, Meyre D, Froguel P. Endocannabinoid receptor 1 gene variations increase risk for obesity and modulate body mass index in European populations. *Hum Mol Genet.* 2008;17:1916-21.

Berdasco A. Evaluación del estado nutricional del adulto mediante la antropometría. *Revista Cubana Aliment Nutr* 2002;16:146-52

Berg AH, Combs TP, Scherer PE. ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. *Trends Endocrinol Metab.* 2002;13:84-9

Berg AH, Scherer PE. Adipose tissue, inflammation, and cardiovascular disease. *Circ Res.* 2005;96:939-49.

- Berghöfer A, Pischon T, Reinhold T, Apovian CM, Sharma AM, Willich SN. Obesity prevalence from a European perspective: a systematic review. *BMC Public Health*. 2008;8:200.
- Berneis KK, Krauss RM. Metabolic origins and clinical significance of LDL heterogeneity. *J Lipid Res*. 2002;43:1363-79.
- Berthier MT, Houde A, Côté M, Paradis AM, Mauriège P, Bergeron J, Gaudet D, Després JP, Vohl MC. Impact of adiponectin gene polymorphisms on plasma lipoprotein and adiponectin concentrations of viscerally obese men. *J Lipid Res*. 2005;46:237-44.
- Bertomeu V, Fácila L, González-Juanatey JR, Cea-Calvo L, Aznar J, Mazón P, Bertomeu González V. Control de las cifras de presión arterial en los pacientes hipertensos con hipertrofia ventricular: estudio VIIDA. *Rev Esp Cardiol*. 2007;60:1257-63.
- Beynen AC, Katan MB, Van Zutphen LF. Hypo and hyperresponders: individual differences in the response of serum cholesterol concentration to changes in diet. *Adv Lipid Res*. 1987;22:115-71.
- Bianchini F, Kaaks R, Vainio H. Weight control and physical activity in cancer prevention. *Obes Rev*. 2002;3:5-8.
- Bibbins-Domingo K, Coxson P, Pletcher MJ, Lightwood J, Goldman L. Adolescent Overweight and Future Adult Coronary Heart Disease. *N Engl J Med*. 2007;357:2371-9.
- Bjørbaek C, Uotani S, da Silva B, Flier JS. Divergent signaling capacities of the long and short isoforms of the leptin receptor. *J Biol Chem*. 1997;272:32686-95.
- Björntorp P. Classification of obese patients and complications related to the distribution of surplus fat. *Nutrition*. 1990;6:131-7.
- Blanco-Colio LM, Valderrama M, Alvarez-Sala LA, Bustos C, Ortego M, Hernández-Presa MA, Cancelas P, Gómez-Gerique J, Millán J, Egido J. Red wine intake prevents nuclear factor-kappaB activation in peripheral blood mononuclear cells of healthy volunteers during postprandial lipemia. *Circulation*. 2000;102:1020-6.
- Blangero J. Localization and identification of human quantitative trait loci: king harvest has surely come. *Curr Opin Genet Dev*. 2004;14:233-40.
- Blann AD, Steele C, McCollum CN. The influence of smoking on soluble adhesion molecules and endothelial cell markers. *Thromb Res*. 1997;85:433-8.
- Blüher M, Engeli S, Klötting N, Berndt J, Fasshauer M, Bátkai S, Pacher P, Schön MR, Jordan J, Stumvoll M. Dysregulation of the peripheral and adipose tissue endocannabinoid system in human abdominal obesity. *Diabetes*. 2006;55:3053-60.
- Blüher M, Williams CJ, Klötting N, Hsi A, Ruschke K, Oberbach A, Fasshauer M, Berndt J, Schön MR, Wolk A, Stumvoll M, Mantzoros CS. Gene expression of adiponectin receptors in human visceral and subcutaneous adipose tissue is related to insulin resistance and metabolic parameters and is altered in response to physical training. *Diabetes Care*. 2007;30:3110-5.
- Blundell JE, King N, Halford JCG. Appetite control system and functional foods for the control of energy intake. En: Palou A, Bonet ML, Serra F (eds). *Study on Obesity and Functional Foods in Europe*. Luxembourg: European Commission, Directorate General for Research, 2002;302-16.
- Bochenski J, Placha G, Wanic K, Malecki M, Sieradzki J, Warram JH, Krowleski AS. New polymorphism of ENPP1 (PC-1) is associated with increased risk of type 2 diabetes among obese individuals. *Diabetes*. 2006;55:2626-30.
- Bodart V, Bouchard JF, McNicoll N, Escher E, Carrière P, Ghigo E, Sejlitz T, Sirois MG, Lamontagne D, Ong H. Identification and characterization of a new growth hormone-releasing peptide receptor in the heart. *Circ Res*. 1999;85:796-802.

- Boden G. Interaction between free fatty acids and glucose metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2002;5:545-549.
- Boden G, Sargrad K, Homko C, Mozzoli M, Stein TP. Effect of a lowcarbohydrate diet on appetite, blood glucose levels, and insulin resistance in obese patients with type 2 diabetes. *Ann Intern Med*. 2005;142:403-411.
- Boden G. Obesity and free fatty acids. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2008;37:635-46.
- Bodnar LM, Ness RB, Harger GF, Roberts JM. Inflammation and triglycerides partially mediate the effect of prepregnancy body mass index on the risk of preeclampsia. *Am J Epidemiol*. 2005;162:1198-206.
- Boesgaard TW, Gjesing AP, Grarup N, Rutanen J, Jansson PA, Hribal ML, Sesti G, Fritsche A, Stefan N, Staiger H, Häring H, Smith U, Laakso M, Pedersen O, Hansen T; EUGENE2 Consortium. Variant near ADAMTS9 known to associate with type 2 diabetes is related to insulin resistance in offspring of type 2 diabetes patients-EUGENE2 study. *PLoS One*. 2009;4:7236.
- Bonen A, Parolin ML, Steinberg GR, Calles-Escandon J, Tandon NN, Glatz JF, Luiken JJ, Heigenhauser GJ, Dyck DJ. Triacylglycerol accumulation in human obesity and type 2 diabetes is associated with increased rates of skeletal muscle fatty acid transport and increased sarcolemmal FAT/CD36. *FASEB J*. 2004;18:1144-6.
- Bonet ML, Ribot J, Palou A. Citocinas y control metabólico. *Rev Esp Obes*. 2009;7: 22-4
- Borrajo E. Aspectos actuales de la obesidad. *An Esp Pediatr*. 2002; 56:1S-11S.
- Borrás JM, Fernández E, Schoaffino A, Villalbí JR, García M, Saltó E. Prevalencia del consumo de tabaco en España entre 1945 y 1995: Reconstrucción a partir de las Encuestas Nacionales de Salud. *Med Clin (Barc)* 2003;120:14-6.
- Bottner A, Kratzsch J, Muller G, Kapellen TM, Bluher S, Keller E, Bluher M, Kiess W. Gender differences of adiponectin levels develop during the progression of puberty and are related to serum androgen levels. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:4053-61.
- Bouatia-Naji N, Meyre D, Lobbens S, Seron K, Fumeron F, Balkau B, Heude B, Jouret B, Scherer PE, Dina C, Weill J, Froguel P. ACDC/Adiponectin polymorphisms are associated with severe childhood and adult obesity. *Diabetes*. 2006;55:545-50.
- Bouchard C. Genetic determinants of regional fat distribution. *Hum Reprod*. 1997;12:1-5 (a).
- Bouchard C. Genetics of human obesity: recent results from linkage studies. *J Nutr*. 1997;127:188S-189S (b).
- Bouchard C. The biological predisposition to obesity: beyond the thrifty genotype scenario. *Int J Obes (Lond)*. 2007;31:1337-9.
- Bougoulia M, Triantos A, Koliakos G. Plasma interleukin-6 levels, glutathione peroxidase and isoprostane in obese women before and after weight loss. Association with cardiovascular risk factors. *Hormones*. 2006;5:192-9.
- Boule NG, Haddad E, Kenny GP, Wells GA, Sigal RJ. Effects of exercise on glycemic control and body mass in type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of controlled clinical trials. *JAMA*. 2001;286:1218-27.
- Bouloumie A, Marumo T, Lafontan M, Busse R. Leptin induces oxidative stress in human endothelial cells. *FASEB J*. 1999; 13:1231-38.
- Bouza A, Bellido D, Rodríguez B, Pita S, Carreira J. Estimación de la grasa abdominal visceral y subcutánea en pacientes obesos a través de ecuaciones de regresión antropométricas. *Rev Esp Obes*. 2008;6:143-62.
- Bowden DW, An SS, Palmer ND, Brown WM, Norris JM, Haffner SM, Hawkins GA, Guo X, Rotter JI, Chen YD, Wagenknecht LE, Langefeld CD. Molecular basis of a linkage peak: exome sequencing and family-based analysis identify a rare genetic variant in the ADIPOQ gene in the IRAS Family Study. *Hum Mol Genet*. 2010;19:4112-20.

- Bowman SA, Gortmaker SL, Ebbeling CB, Pereira MA, Ludwig DS. Effects of fast-food consumption on energy intake and diet quality among children in a national household survey. *Pediatrics*. 2004;113:112-8.
- Branca F, Nikogosian H, Lobstein T (eds): *The challenge of Obesity in the WHO European Region and the Strategies for Response: Summary*. Copenhagen, WHO Regional Office for Europe, 2007.
- Brasaemle DL, Rubin B, Harten IA, Gruia-Gray J, Kimmel AR, Londos C. Perilipin A increases triacylglycerol storage by decreasing the rate of triacylglycerol hydrolysis. *J Biol Chem*. 2000;275:38486-38493.
- Bravo PE, Morse S, Borne DM, Aguilar EA, Reisin E. Leptin and hypertension in obesity. *Vasc Health Risk Manag*. 2006;2:163-9.
- Bray GA. Overweight is risking fate. Definition, classification, prevalence, and risks. *Ann N Y Acad Sci*. 1987;499:14-28.
- Bray GA: Obesity. In: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL (eds). *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 14th ed. New York: McGraw-Hill, 1998;454-62.
- Bray GA, Ryan DH. Clinical evaluation of the overweight patient. *Endocrine*. 2000;13:167-86.
- Bray GA, Lovejoy JC, Smith SR, DeLany JP, Lefevre M, Hwang D, Ryan DH, York DA. The influence of different fats and fatty acids on obesity, insulin resistance and inflammation. *J Nutr*. 2002;132:2488-91.
- Breivogel CS, Sim LJ, Childers SR. Regional differences in cannabinoid receptor/G-protein coupling in rat brain. *J Pharmacol Exp Ther*. 1997; 282:1632-1642.
- Brennan RO. *Nutrigenetics: new concepts for relieving hypoglycemia*. New York: Evans & Co; 1975.
- Briscoe CP, Hanif S, Arch JR, Tadayyon M. Leptin receptor long-form signalling in a human liver cell line. *Cytokine*. 2001;14:225-9.
- Brito EC, Lyssenko V, Renström F, Berglund G, Nilsson PM, Groop L, Franks PW. Previously associated type 2 diabetes variants may interact with physical activity to modify the risk of impaired glucose regulation and type 2 diabetes: a study of 16,003 Swedish adults. *Diabetes*. 2009;58:1411-8.
- Broberger C, Landry M, Wong H, Walsh JN, Hökfelt T. Subtypes Y1 and Y2 of the neuropeptide Y receptor are respectively expressed in pro-opiomelanocortin- and neuropeptide-Y-containing neurons of the rat hypothalamic arcuate nucleus. *Neuroendocrinology*. 1997;66:393-408.
- Broberger C. Brain regulation of food intake and appetite: molecules and networks. *J Intern Med*. 2005;258:301-27.
- Brønner G, Sattler AM, Hinney A, Soufi M, Geller F, Schäfer H, Maisch B, Hebebrand J, Schaefer JR. The 1031 variant of the melanocortin 4 receptor is associated with low serum triglyceride levels. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:535-8.
- Brun LD, Gagne C, Julien P, Tremblay A, Moorjani S, Bouchard C, Lupien PJ. Familial lipoprotein lipase activity deficiency: study of total body fatness and subcutaneous fat tissue distribution. *Metabolism*. 1989;38:1005-1009.
- Buchwald H. Is morbid obesity a surgical disease? *General Surgery News*, 2007;6: 9-15.
- Buckland G, Bach-Faig A, Serra-Majem L. Obesity and the Mediterranean diet: a systematic review of observational and intervention studies. *Obes Rev*. 2008;9:582-93.
- Buijsse B, Feskens EJ, Schulze MB, Forouhi NG, Wareham NJ, Sharp S, Palli D, Tognon G, Halkjaer J, Tjønneland A, Jakobsen MU, Overvad K, van der A DL, Du H, Sørensen TI, Boeing H. Fruit and vegetable intakes and subsequent changes in body weight in European populations: results from the project on Diet, Obesity, and Genes (DiOGenes). *Am J Clin Nutr*. 2009;90:202-9.

- Burleson MA, O'Bryant HS, Stone MH, Collins MA, Triplett-McBride T. Effect of weight training exercise and treadmill exercise on post exercise oxygen consumption. *Med Sci Sports Exerc.* 1998; 30:518–22.
- Burniat W, Cole TJ, Lissau I, Poskitt E (eds). *Child and adolescent obesity. Causes and consequences. Prevention and management.* Cambridge University Press: Cambridge, London; 2002.
- Buse JB, Ginsberg HN, Bakris GL, Clark NG, Costa F, Eckel R, Fonseca V, Gerstein HC, Grundy S, Nesto RW, Pignone MP, Plutzky J, Porte D, Redberg R, Stitzel KF, Stone NJ. Primary prevention of cardiovascular diseases in people with diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2007;30:162-72.
- Butterfield DA. Amyloid beta-peptide (1-42)-induced oxidative stress and neurotoxicity: implications for neurodegeneration in Alzheimer's disease brain. A review. *Free Radic Res.* 2002;36:1307-13.
- Buttriss, J, Nugent A.. LIPGENE: an integrated approach to tackling the metabolic syndrome. *Proc Nutr Soc.* 2005;64:345–347.
- Bysted A, Holmer G, Lund P, Sandstrom B, Tholstrup T. Effect of dietary fatty acids on the postprandial fatty acid composition of triacylglycerol-rich lipoproteins in healthy male subjects. *Eur J Clin Nutr.* 2005;59:24–34.
- Caballero B. The global epidemic of obesity: an overview. *Epidemiol Rev.* 2007;29:1-5.
- Cabrero A, Cubero M, Llaverías G, Laguna JC, Vázquez CM. Originales. La leptina reduce los valores de ARNm del receptor activado en macrófagos humanos. *Clin Invest Arterioscl.* 2002; 14:67-73.
- Cai G, Cole SA, Butte NF, Voruganti VS, Comuzzie AG. Genome-wide scan revealed genetic loci for energy metabolism in Hispanic children and adolescents. *Int J Obes (Lond).* 2008; 32:579–85
- Calissendorff J, Brismar K, Röjdmarm S. Is decreased leptin secretion after alcohol ingestion catecholamine-mediated?. *Alcohol Alcohol.* 2004;39:281-6.
- Calle EE, Rodriguez C, Walter-Thumbond K, Thun MJ. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of US adults. *N Engl J Med* 2003;348: 1625-38.
- Calvo D, Gómez-Coronado D, Suárez Y, Lasunción MA, Vega MA. Human CD36 is a high affinity receptor for the native lipoproteins HDL, LDL, and VLDL. *J Lipid Res.* 1998;39:777-88.
- Campbell PJ, Carlson MG, Nurjhan N. Fat metabolism in human obesity. *Am J Physiol* 1994;266:600-605.
- Campfield LA, Smith FJ, Guisez Y, Devos R, Burn P. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science.* 1995;269:546–549.
- Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol Rev.* 2004;84:277-359.
- Cao GY, Considine RV, Lynn RB. Leptin receptors in the adrenal medulla of the rat. *Am J Physiol.* 1997;273:E448-52.
- Caramori G, Adcock I. Gene-environment interactions in the development of chronic obstructive pulmonary disease. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 2006;6: 323–8.
- Carbajal A, Cuadrado C, Núñez C, Beltrán B, Toledano G, Moreiras O. Estudio TRANSFAIR (II) Ingesta de ácidos grasos –cis y trans- con la dieta total en España. *Clin Invest Arterioscler.* 2000;12:256-262.
- Carlsson M, Wessman Y, Almgren P, Groop L. High levels of nonesterified fatty acids are associated with increased familial risk of cardiovascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;20:1588–94.
- Caro JF, Sinha MK, Kolaczynski JW, Zhang PL, Considine RV. Leptin: the tale of an obesity gene. *Diabetes.* 1996;45:1455-62.

- Carpentier AC, Bourbonnais A, Frisch F, Giacca A, Lewis GF. Plasma nonesterified Fatty Acid intolerance and hyperglycemia are associated with intravenous lipid-induced impairment of insulin sensitivity and disposition index. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95:1256–64.
- Carr MC, Hokanson JE, Zambon A, Deeb SS, Barrett PH, Purnell JQ, Brunzell JD. The contribution of intraabdominal fat to gender differences in hepatic lipase activity and low/high density lipoprotein heterogeneity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:2831–7.
- Carr MC, Brunzell JD. Abdominal obesity and dyslipidemia in the metabolic syndrome: importance of type 2 diabetes and familial combined hyperlipidemia in coronary artery disease risk. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:2601-7.
- Carroll KK. Obesity as a risk factor for certain types of cancer. *Lipids.* 1998;33:1055-9.
- Carruba G, Granata OM, Pala V, Campisi I, Agostara B, Cusimano R, Ravazzolo B, Traina A. A traditional Mediterranean diet decreases endogenous estrogens in healthy postmenopausal women. *Nutr Cancer.* 2006;56:253-9.
- Cartegni L, Wang J, Zhu Z, Zhang MQ, Krainer AR. ESEfinder: A web resource to identify exonic splicing enhancers. *Nucleic Acids Res.* 2003;31:3568-71.
- Carter SL, Rennie C, Tarnopolsky MA. Substrate utilization during endurance exercise in men and women after endurance training. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001;280: E898–907.
- Carulli L, Ferrari S, Bertolini M, Tagliafico E, Del Rio G. Regulation of ob gene expression: evidence for epinephrine-induced suppression in human obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:3309-12.
- Casabiell X, Pineiro V, Tome MA, Peino R, Dieguez C, Casanueva FF. Presence of leptin in colostrum and/or breast milk from lactating mothers: a potential role in the regulation of neonatal food intake. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:4270-3.
- Casabiell X, Pineiro V, Vega F, De La Cruz LF, Dieguez C, Casanueva FF. Leptin, reproduction and sex steroids. *Pituitary.* 2001;4:93–99.
- Casas-Agustench P, Bulló M, Ros E, Basora J, Salas-Salvadó J; on behalf of the Nureta-PREDIMED investigators. Cross-sectional association of nut intake with adiposity in a Mediterranean population. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2010; 8. doi:10.1016/j.numecd.2009.11.010
- Caspersen CJ. Physical activity epidemiology: concepts, methods, and applications to exercise science. *Exerc Sport Sci Rev.* 1989;17:423-73.
- Cauchi S, Stutzmann F, Cavalcanti-Proença C, Durand E, Pouta A, Hartikainen AL, Marre M, Vol S, Tammelin T, Laitinen J, Gonzalez-Izquierdo A, Blakemore AI, Elliott P, Meyre D, Balkau B, Jarvelin MR, Froguel P. Combined effects of MC4R and FTO common genetic variants on obesity in European general populations. *J Mol Med.* 2009;87:537-46.
- Cea-Calvo L, Moreno B, Monereo S, Monereo S, Gil-Guillén V, Lozano JV, Martí-Canales JC, Llisterri-Caro JL, Aznar J, González-Esteban J, Redón J. Prevalencia de sobrepeso y obesidad en población española de 60 años o más y factores relacionados. Estudio PREV-ICTUS. *Med Clin (Barc).* 2008;131:205–10.
- Ceddia RB, Somwar R, Maida A, Fang X, Bikopoulos G, Sweeney G. Globular adiponectin increases GLUT4 translocation and glucose uptake but reduces glycogen synthesis in rat skeletal muscle cells. *Diabetologia.* 2005;48:132-9.
- Cerdá-Reverter JM, Larhammar D. Neuropeptide Y family of peptides: structure, anatomical expression, function, and molecular evolution. *Biochem Cell Biol.* 2000;78:371–92.

Ceriello A, Motz E. Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited. *Arterioscler Thromb Vas. Biol.* 2004;24:816–23.

Cesari M, Pessina AC, Zanchetta M, De Toni R, Avogaro A, Pedon L, Dorigatti F, Maiolino G, Rossi GP. Low plasma adiponectin is associated with coronary artery disease but not with hypertension in high-risk nondiabetic patients. *J Intern Med.* 2006;260:474–83.

Chagnon YC, Wilmore JH, Borecki IB, Gagnon J, Pérusse L, Chagnon M, Collier GR, Leon AS, Skinner JS, Rao DC, Bouchard C. Associations between the leptin receptor gene and adiposity in middle-aged Caucasian males from the HERITAGE family study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:29–34.

Chajek-Shaul T, Scherer G, Barash V, Shiloni E, Caine Y, Stein O, Stein Y. Metabolic effects of nicotine on human adipose tissue in organ culture. *Clin Invest.* 1994;72:94–9.

Chakravathy MV, Booth FW. Eating, exercise, and “thrifty” genotypes: connecting the dots toward an evolutionary understanding of modern chronic diseases. *J Appl Physiol.* 2004;96:3–10.

Chambers JC, Elliott P, Zabaneh D, Zhang W, Li Y, Froguel P, Balding D, Scott J, Kooner JS. Common genetic variation near MC4R is associated with waist circumference and insulin resistance. *Nat Genet.* 2008;40:716–8.

Chan JM, Rimm EB, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC. Obesity, fat distribution, and weight gain as risk factors for clinical diabetes in men. *Diabetes Care.* 1994;17:961–9.

Chandalia M, Grundy SM, Adams-Huet B, Abate N. Ethnic differences in the frequency of ENPP1/PC1 121Q genetic variant in the Dallas Heart Study cohort. *J Diabetes Complications.* 2007;21:143–8.

Chandran M, Phillips SA, Ciaraldi T, Henry RR. Adiponectin: More than just another fat cell hormone. *Diabetes Care.* 2003;26:2442–50.

Chandra R, Liddle RA. Cholecystokinin. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2007;14:63–7.

Chang GQ, Karatayev O, Davydova Z, Leibowitz SF. Circulating triglycerides impact on orexigenic peptides and neuronal activity in hypothalamus. *Endocrinology.* 2004;145:3904–12.

Chang LC, Huang KC, Wu YW, Kao HL, Chen CL, Lai LP, Hwang JJ, Yang WS. The clinical implications of blood adiponectin in cardiometabolic disorders. *J Formos Med Assoc.* 2009;108:353–66.

Chapman JM, Goerke LS, Dixon W, Loveland DB, Phillips E. Measuring the risk of coronary heart disease in adult population groups, IV: clinical status of a population group in Los Angeles under observation for two-three years. *Am J Public Health.* 1957;47:33–42.

Charles MA, Eschwège E, Thibault N, Claude JR, Warnet JM, Rosselin GE, Girard J, Balkau B. The role of non-esterified fatty acids in the deterioration of glucose tolerance in Caucasian subjects: results of the Paris Prospective Study. *Diabetologia.* 1997;40:1101–6.

Chawla A, Boisvert WA, Lee CH, Laffitte BA, Barak Y, Joseph SB, Liao D, Nagy L, Edwards PA, Curtiss LK, Evans RM, Tontonoz P. A PPAR gamma-LXR-ABCA1 pathway in macrophages is involved in cholesterol efflux and atherogenesis. *Mol Cell.* 2001;7:161–71.

Chen AS, Marsh DJ, Trumbauer ME, Frazier EG, Guan XM, Yu H, Rosenblum CI, Vongs A, Feng Y, Cao L, Metzger JM, Strack AM, Camacho RE, Mellin TN, Nunes CN, Min W, Fisher J, Gopal-Truter S, MacIntyre DE, Chen HY, Van der Ploeg LH. Inactivation of the mouse melanocortin-3 receptor results in increased fat mass and reduced lean body mass. *Nat Genet.* 2000; 26:97–102.

Chen H, Charlat O, Tartaglia LA, Woolf EA, Weng X, Ellis SJ, Lakey ND, Culpepper J, Moore KJ, Breitbart RE, Duyk GM, Tepper RI, Morgenstern JP. Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell.* 1996;84:491–5.

- Chen HY, Trumbauer ME, Chen AS, Weingarth DT, Adams JR, Frazier EG, Shen Z, Marsh DJ, Feighner SD, Guan XM, Ye Z, Nargund RP, Smith RG, Van der Ploeg LH, Howard AD, MacNeil DJ, Qian S. Orexigenic action of peripheral ghrelin is mediated by neuropeptide Y and agouti-related protein. *Endocrinology*. 2004;145:2607-12.
- Chen J, Muntner P, Hamm LL, Jones DW, Batuman V, Fonseca V, Whelton PK, He J. The metabolic syndrome and chronic kidney disease in U.S. adults. *Ann Intern Med*. 2004;140:167-74.
- Chessler SD, Fujimoto WY, Shofer JB, Boyko EJ, Weigle DS. Increased plasma leptin levels are associated with fat accumulation in Japanese Americans. *Diabetes*. 1998;7:239-43.
- Chiodini BD, Lewis CM. Meta-analysis of 4 coronary heart disease genome-wide linkage studies confirms a susceptibility locus on chromosome 3q. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:1863-8.
- Chiodini BD, Specchia C, Gori F, Barlera S, D'Orazio A, Pietri S, Crociati L, Nicolucci A, Franciosi M, Signorini S, Brambilla P, Grazia Franzosi M; GISSI Prevenzione Investigators; SiBioC-GISSI Prevenzione Group. Adiponectin gene polymorphisms and their effect on the risk of myocardial infarction and type 2 diabetes: an association study in an Italian population. *Thromb Haemostasis*. 2010;4:223-30.
- Chiolero A, Faeh D, Paccaud F, Cornuz J. Consequences of smoking for body weight, body fat distribution, and insulin resistance. *Am J Clin Nutr*. 2008;87:801-9.
- Chiolero A, Wietlisbach V, Ruffieux C, Paccaud F, Cornuz J. Clustering of risk behaviors with cigarette consumption: a population-based survey. *Prev Med*. 2006;42:348-53.
- Chiprut R, Castellanos A, Sánchez C, Martínez D, Cortez ME, Chiprut R, Del Conde P. La obesidad en el Siglo XIX, avances en la etiopatogenia y tratamiento. *Gasd Méd Méx*. 2001; 137:323-331.
- Chiu KC, Chu A, Chuang LM, Saad MF. Association of leptin receptor polymorphism with insulin resistance. *Eur J Endocrinol*. 2004;150:725-9.
- Choi HJ, Cho YM, Moon MK, Choi HH, Shin HD, Jang HC, Kim SY, Lee HK, Park KS. Polymorphisms in the ghrelin gene are associated with serum high-density lipoprotein cholesterol level and not with type 2 diabetes mellitus in Koreans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:4657-63.
- Christiansen C, Thomsen C, Rasmussen O, Hauerslev C, Balle M, Hansen C, Hermansen K. Effect of alcohol on glucose, insulin, free fatty acid and triacylglycerol responses to a light meal in non-insulin-dependent diabetic subjects. *Br J Nutr*. 1994;71:449-54.
- Christiansen T, Richelsen B, Bruun JM. Monocyte chemoattractant protein-1 is produced in isolated adipocytes, associated with adiposity and reduced after weight loss in morbid obese subjects. *Int J Obes*. 2005;29:146.
- Chrousos GP, Gold PW. A healthy body in a healthy mind-and vice versa-the damaging power of "uncontrollable" stress. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83:1842-5.
- Chrysohoou C, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Das UN, Stefanadis C. Adherence to the Mediterranean diet attenuates inflammation and coagulation process in healthy adults: The ATTICA Study. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44:152-8.
- Chu MC, Cospser P, Orío F, Carmina E, Lobo RA. Insulin resistance in postmenopausal women with metabolic syndrome and the measurements of adiponectin, leptin, resistin, and ghrelin. *Am J Obstet Gynecol*. 2006;194:100-4.
- Chuang LM, Chiu YF, Sheu WH, Hung YJ, Ho LT, Grove J, Rodriguez B, Quertermous T, Chen YD, Hsiung CA, Tai TY. Biethnic comparisons of autosomal genomic scan for loci linked to plasma adiponectin in populations of Chinese and Japanese origin. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004; 89:5772-8.
- Cinti S, Matteis RD, Picó C, Ceresi E, Obrador A, Maffei C, Oliver J, Palou A. Secretory granules of endocrine and chief cells of human stomach mucosa contain leptin. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2000;24:789-93.

- Cinti S. The adipose organ. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2005;73:9-15.
- Cioffi J. Factors that enable and inhibit transition from a weight management program: a qualitative study. *Health Educ Res*. 2002;17:19-26
- Clark MM, Decker PA, Offord KP, Patten CA, Vickers KS, Croghan IT, Hays JT, Hurt RD, Dale LC. Weight concerns among male smokers. *Addict Behav*. 2004;29:1637-41.
- Clee SM. Genetic gains on the obesity and metabolic disease fronts. *Clin Genet*. 2009;76:236-41.
- Clement K, Lahlou N, Ruiz J, Hager J, Bougnères P, Basdevant A, Guy-Grand B, Froguel P. Association of poorly controlled diabetes with low serum leptin in morbid obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1997;21:556-61.
- Clement K, Vaisse C, Lahlou N, Cabrol S, Pelloux V, Cassuto D, Gormelen M, Dina C, Chambaz J, Lacorte JM, Basdevant A, Bougnères P, Lebouc Y, Froguel P, Guy-Grand B. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature*. 1998;92:398-401.
- Clement K, Boutin P, Froguel P. Genetics of obesity. *Am J Pharmacogenomics*. 2002;2:177-187
- Clement K, Sørensen TIA (eds). *Obesity: Genomics and Postgenomics*. Informa Healthcare, London, UK. 2007;221-8.
- Cohen P, Friedman JM. Leptin and the control of metabolism: Role for stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD 1). *J Nutr*. 2004;134:2455S-63S.
- Cohen SL, Halaas JL, Friedman JM, Chait BT. Human leptin characterization. *Nature*. 1997;387:206-209.
- Colditz GA, Willett WC, Rotnitzky A, Manson JE. Weight gain as a risk factor for clinical diabetes mellitus in women. *Ann Intern Med*. 1995;122:481-6.
- Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *BMJ*. 2000;320:1240-3.
- Coleman DL. Effects of parabiosis of obese with diabetes and normal mice. *Diabetologia*. 1973;9:294-298.
- Coleman RA, Herrmann TS. Nutritional regulation of leptin in humans. *Diabetologia*. 1999;42:639-646.
- Collins F. Genetics: an explosion of knowledge is transforming clinical practice. *Geriatrics*. 1999;54:41-47.
- Collins FS, Morgan M, Patrinos A. The Human Genome Project: lessons from large-scale biology. *Science*. 2003;300:286-290
- Collins SC, Luan J, Thompson AJ, Daly A, Semple RK, O'Rahilly S, Wareham NJ, Barroso I. Adiponectin receptor genes: mutation screening in syndromes of insulin resistance and association studies for type 2 diabetes and metabolic traits in UK populations. *Diabetologia*. 2007;50:555-62.
- Combs TP, Berg AH, Rajala MW, Klebanov S, Iyengar P, Jimenez-Chillaron JC, Patti ME, Klein SL, Weinstein RS, Scherer PE. Sexual differentiation, pregnancy, calorie restriction, and aging affect the adipocyte-specific secretory protein adiponectin. *Diabetes*. 2003;52:268-76.
- Comisión Europea. *Libro Blanco sobre la Obesidad*. Bruselas: Comisión Europea; 2007.
- Comuzzie AG, Funahashi T, Sonnenberg G, Martin LJ, Jacob HJ, Black AE, Maas D, Takahashi M, Kihara S, Tanaka S, Matsuzawa Y, Blangero J, Cohen D, Kissebah A. The genetic basis of plasma variation in adiponectin, a global endophenotype for obesity and the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:4321-5.
- Comuzzie AG. The emerging pattern of the genetic contribution to human obesity. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2002;16:611-21.

- Conne B, Stutz A, Vassalli JD. The 3' untranslated region of messenger RNA: a molecular 'hotspot' for pathology?. *Nat Med.* 2000; 6:637-41.
- Connelly MA, Klein SM, Azhar S, Abumrad NA, Williams DL. Comparison of class B scavenger receptors, CD36 and scavenger receptor BI (SR-BI), shows that both receptors mediate high density lipoprotein-cholesterol ester selective uptake but SR-BI exhibits a unique enhancement of cholesterol ester uptake. *J Biol Chem.* 1999;274:41-7.
- Conselleria de Sanitat i Consum de la Generalitat Valenciana. Encuesta de Salud de la Comunidad Valenciana (1990-1991). Serie Plan de Salud de la Comunidad Valenciana, nº 2. Valencia: Generalitat Valenciana, Conselleria de Sanitat i Consum, 1993
- Conselleria de Sanitat i Consum Generalitat Valenciana, Direcció General de Salut Pública, Oficina del Plan de Salut. Encuesta de Salud de la Comunidad Valenciana (200-2001). Valencia: Generalitat Valenciana, Conselleria de Sanitat i Consum, 2002
- Conselleria de Sanitat i Consum de la Generalitat Valenciana. Encuesta de Salud de la Comunidad Valenciana 2005. Dirección general de ordenación, evaluación e investigación sanitaria. Valencia: Generalitat Valenciana, Conselleria de Sanitat i Consum, 2005.
- Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med.* 1996;334:292-295.
- Constantin A, Costache G, Sima AV, Glavce CS, Vladica M, Popov DL. Leptin G-2548A and leptin receptor Q223R gene polymorphisms are not associated with obesity in Romanian subjects. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;391:282-6.
- Corella D, Arregui M, Coltell O, Portolés O, Guillem-Sáiz P, Carrasco P, Sorlí JV, Ortega-Azorín C, González JJ, Ordovás JM. Association of the LCT-13910C>T polymorphism with obesity and its modulation by dairy products in a mediterranean population. *Obesity (Silver Spring).* 2010. doi:10.1038/oby.2010.320
- Corella D, Ordovas JM. Integration of environment and disease into 'omics' analysis. *Curr Opin Mol Ther.* 2005;7:569-76.
- Corpeleijn E, van der Kallen CJ, Kruijshoop M, Magagnin MG, de Bruin TW, Feskens EJ, Saris WH, Blaak EE. Direct association of a promoter polymorphism in the CD36/FAT fatty acid transporter gene with Type 2 diabetes mellitus and insulin resistance. *Diabet Med.* 2006;23:907-11.
- Corpet F. Multiple sequence alignment with hierarchical clustering. *Nucl Acids Res.* 1988;16:10881-90.
- Costanzo B, Trischitta V, Di Paola R, Spampinato D, Pizzuti A, Vigneri R, Frittitta L. The Q allele variant (GLN121) of membrane glycoprotein PC-1 interacts with the insulin receptor and inhibits insulin signaling more effectively than the common K allele variant (LYS121). *Diabetes.* 2001;50:831-6.
- Costas J. Estudios genéticos de asociación de enfermedades multifactoriales complejas. *Neural Supl.* 2005;1:44-50.
- Cota D, Marsicano G, Lutz B, Vicennati V, Stalla GK, Pasquali R, Pagotto U. Endogenous cannabinoid system as a modulator of food intake. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2003;27:289-301 (a).
- Cota D, Marsicano G, Tschöp M, Grübler Y, Flachskamm C, Schubert M, Auer D, Yassouridis A, Thöne-Reineke C, Ortman S, Tomassoni F, Cervino C, Nisoli E, Linthorst AC, Pasquali R, Lutz B, Stalla GK, Pagotto U. The endogenous cannabinoid system affects energy balance via central orexigenic drive and peripheral lipogenesis. *J Clin Invest.* 2003;112:423-31 (b).

Côté M, Mauriège P, Bergeron J, Alméras N, Tremblay A, Lemieux I, Després JP. Adiponectinemia in visceral obesity: impact on glucose tolerance and plasma lipoprotein and lipid levels in men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90:1434-9.

Côté M, Matias I, Lemieux I, Petrosino S, Alméras N, Després JP, Di Marzo V. Circulating endocannabinoid levels, abdominal adiposity and related cardiometabolic risk factors in obese men. *Int J Obes (Lond)*. 2007;31:692-9.

Couillard C, Ruel G, Archer WR, Pomerleau S, Bergeron J, Couture P, Lamarche B, Bergeron N. Circulating levels of oxidative stress markers and endothelial adhesion molecules in men with abdominal obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90:6454-9.

Covas MI, Nyyssönen K, Poulsen HE, Kaikkonen J, Zunft HJ, Kiesewetter H, Gaddi A, de la Torre R, Mursu J, Bäuml H, Nascefti S, Salonen JT, Fitó M, Virtanen J, Marrugat J; EUROLIVE Study Group. The effect of polyphenols in olive oil on heart disease risk factors: a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2006;145:333-41.

Cowley MA, Smith RG, Diano S, Tschöp M, Pronchuk N, Grove KL, Strasburger CJ, Bidlingmaier M, Esterman M, Heiman ML, Garcia-Segura LM, Nillni EA, Mendez P, Low MJ, Sotonyi P, Friedman JM, Liu H, Pinto S, Colmers WF, Cone RD, Horvath TL. The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron*. 2003;37:649-61.

Crujeiras AB, Parra MD, Rodríguez MC, Martínez de Morentin BE, Martínez JA. A role for fruit content in energy-restricted diets in improving antioxidant status in obese women during weight loss. *Nutrition*. 2006;22:593-9.

Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS, Breen PA, Ma MK, Dellinger EP, Purnell JQ. Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. *N Engl J Med*. 2002;346:1623-30.

Cummings DE, Foster KE. Ghrelin-leptin tango in body-weight regulation. *Gastroenterology*. 2003;124:1532-5.

Cummings DE, Overduin J. Gastrointestinal regulation of food intake. *J Clin Invest*. 2007;117:13-23.

Curat CA, Miranville A, Sengenès C, Diehl M, Tonus C, Busse R, Bouloumie A. From blood monocytes to adipose tissue-resident macrophages: induction of diapedesis by human mature adipocytes. *Diabetes*. 2004;53:1285-92.

Cusatis DC, Shannon BM. Influences on adolescent eating behavior. *J Adolesc Health*. 1996;18:27-34.

D'Alessio DA, Kieffer TJ, Taborsky GJ, Jr., Havel PJ. Activation of the parasympathetic nervous system is necessary for normal meal-induced insulin secretion in rhesus macaques. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:1253-9.

Damcott CM, Sack P, Shuldiner AR. The genetics of obesity. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2003;32:761-86.

Damcott CM, Ott SH, Pollin TI, Reinhart LJ, Wang J, O'Connell JR, Mitchell BD, Shuldiner AR. Genetic variation in adiponectin receptor 1 and adiponectin receptor 2 is associated with type 2 diabetes in the Old Order Amish. *Diabetes*. 2005;54:2245-50.

Daniels SR, Arnett DK, Eckel RH, Gidding SS, Hayman LL, Kumanyika S, Robinson TN, Scott BJ, St Jeor S, Williams CL. Overweight in children and adolescents: pathophysiology, consequences, prevention, and treatment. *Circulation*. 2005;111:1999-2012.

Dawber TR, Moore FE, Mann GV. Coronary heart disease in the Framingham Study. *Am J Public Health*. 1957;47:4-24.

De Castro Mesa C, Segovia Jiménez M, Sanz Alcolea I, López de Castro F. Ganancia ponderal tras el abandono del hábito tabáquico. *Aten Primaria*. 2003;32:495-6.

- de Kreutzenberg SV, Crepaldi C, Marchetto S, Calò L, Tiengo A, Del Prato S, Avogaro A. Plasma free fatty acids and endothelium-dependent vasodilation: effect of chain-length and cyclooxygenase inhibition. *Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:793-8.
- de Lorgeril M, Renaud S, Mamelle N, Salen P, Martin JL, Monjaud I, Guidollet J, Touboul P, Delaye J. Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. *Lancet.* 1994;343:1454-9.
- de Lorgeril M, Salen P, Martin JL. Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction. *Arch Intern Med.* 2006;166:411-17
- de Luis DA, Gonzalez Sagrado M, Aller R, Izaola O, Conde R. Influence of the Trp64Arg polymorphism in the beta 3 adrenoreceptor gene on insulin resistance, adipocytokine response, and weight loss secondary to lifestyle modification in obese patients. *Eur J Intern Med.* 2007;18:587-92.
- de Luis Roman D, de la Fuente RA, Sagrado MG, Izaola O, Vicente RC. Leptin receptor Lys656Asn polymorphism is associated with decreased leptin response and weight loss secondary to a lifestyle modification in obese patients. *Arch Med Res.* 2006;37:854-859.
- De Matteis R, Dashtipour K, Ognibene A, Cinti S. Localization of leptin receptor splice variants in mouse peripheral tissues by immunohistochemistry. *Proc Nutr Soc.* 1998;57:441-8.
- de Souza Valente da Silva L, Valeria da Veiga G, Ramalho RA. Association of serum concentrations of retinol and carotenoids with overweight in children and adolescents. *Nutrition.* 2007;23:392-7.
- DeBoer MD, Marks DL. Therapy insight: use of melanocortin antagonists in the treatment of cachexia in chronic disease. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2006;2:459-66.
- DeBoer MD. Update on melanocortin interventions for cachexia: progress toward clinical application. *Nutrition.* 2010;26:146-51
- DeBoer MD. Ghrelin and cachexia: Will treatment with GHSR-1a agonists make a difference for patients suffering from chronic wasting syndromes?. *Mol Cell Endocrinol.* 2011. doi:10.1016/j.mce.2011.02.012
- DeFronzo RA. Pathogenesis of type 2 diabetes: metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. *Diabetes Rev.* 1997;5:177-269.
- Degen L, Oesch S, Casanova M, Graf S, Ketterer S, Drewe J, Beglinger C. Effect of peptide YY3-36 on food intake in humans. *Gastroenterology.* 2005;129:1430-6.
- DellaPenna D. Nutritional genomics: manipulating plant micronutrients to improve human health. *Science.* 1999;285:375-9.
- Demers A, Caron V, Rodrigue-Way A, Wahli W, Ong H, Tremblay A. A concerted kinase interplay identifies PPARgamma as a molecular target of ghrelin signaling in macrophages. *PLoS One.* 2009;4:7728.
- Deschênes D, Couture P, Dupont P, Tchernof A. Subdivision of the subcutaneous tissue compartment and lipid-lipoprotein levels in women. *Obes Res.* 2003;11:469-76.
- Despres JP. Dyslipidaemia and obesity. *Clinical Endocrinology and Metabolism.* 1994;8:629-60.
- Després JP, Golay A, Sjöström L; Rimonabant in Obesity-Lipids Study Group. Effects of rimonabant on metabolic risk factors in overweight patients with dyslipidemia. *N Engl J Med.* 2005;353:2121-34.
- Després JP, Lemieux I. Abdominal obesity and metabolic syndrome. *Nature.* 2006;444:881-7.
- Di Castelnuovo A, Rotondo S, Iacovierllo L, Donati MB, de Gaetano G. Meta-analysis of wine and beer consumption in relation to vascular risk. *Circulation.* 2002;105:2836-44.

Di Marzo V, Goparaju SK, Wang L, Liu J, Batkai S, Jarai Z, Fezza F, Miura GI, Palmiter RD, Sugiura T, Kunos G. Leptinregulated endocannabinoids are involved in maintaining food intake. *Nature*. 2001;410:822–825.

Di Marzo V. The endocannabinoid system in obesity and type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2008;51:1356–67.

Di Marzo V, Côté M, Matias I, Lemieux I, Arsenault BJ, Cartier A, Piscitelli F, Petrosino S, Alméras N, Després JP. Changes in plasma endocannabinoid levels in viscerally obese men following a 1 year lifestyle modification programme and waist circumference reduction: associations with changes in metabolic risk factors. *Diabetologia*. 2009;52:213–7.

Didenko VV. DNA probes using fluorescence resonance energy transfer (FRET): designs and applications. *Biotechniques*. 2001;31:1106–21.

Dietz WH, Robinson TN. Use of the body mass index (BMI) as a measure of overweight in children and adolescents. *J Pediatr*. 1998;132:191–3.

Dinu IR, Popa S, Bîcu M, Moța E, Moța M. The implication of CNR1 gene's polymorphisms in the modulation of endocannabinoid system effects. *Rom J Intern Med*. 2009;47:9–18.

Doi Y, Kubo M, Ninomiya T, Yonemoto K, Iwase M, Arima H, Hata J, Tanizaki Y, Iida M, Kiyohara Y. Impact of Kir6.2 E23K polymorphism on the development of type 2 diabetes in a general Japanese population: the Hisayama Study. *Diabetes*. 2007;56:2829–33.

Dominguez-Berjón MF, Borrell C, Nebot M, Plasencia A. La actividad física de ocio y su asociación con variables sociodemográficas y otros comportamientos relacionados con la salud. *Gac Sanit*. 1998;12:100–9.

Dong C, Wang S, Li WD, Li D, Zhao H, Price RA. Interacting genetic loci on chromosomes 20 and 10 influence extreme human obesity. *Am J Hum Genet*. 2003;72:115–24.

Dong C, Li WD, Li D, Price RA. Interaction between obesity-susceptibility loci in chromosome regions 2p25-p24 and 13q13-q21. *Eur J Hum Genet*. 2005;13:102–8.

Dorn JM, Schisterman EF, Winkelstein W Jr, Trevisan M. Body mass index and mortality in a general population sample of men and women. The Buffalo Health Study. *Am J Epidemiol*. 1997;146:919–31.

Dossus L, McKay JD, Canzian F, Wilkening S, Rinaldi S, Biessy C, Olsen A, Tjønneland A, Jakobsen MU, Overvad K, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Fournier A, Linseisen J, Lukanova A, Boeing H, Fisher E, Trichopoulou A, Georgila C, Trichopoulos D, Palli D, Krogh V, Tumino R, Vineis P, Quirós JR, Sala N, Martínez-García C, Dorronsoro M, Chirlaque MD, Barricarte A, van Duijnhoven FJ, Bueno-de-Mesquita HB, van Gils CH, Peeters PH, Hallmans G, Lenner P, Bingham S, Khaw KT, Key TJ, Travis RC, Ferrari P, Jenab M, Riboli E, Kaaks R. Polymorphisms of genes coding for ghrelin and its receptor in relation to anthropometry, circulating levels of IGF-I and IGFBP-3, and breast cancer risk: a case-control study nested within the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Carcinogenesis*. 2008;29:1360–6.

Doucet E, Laviolette M, Imbeault P, Strychar I, Rabasa-Lhoret R, Prud'homme D. Total peptide YY is a correlate of postprandial energy expenditure but not of appetite or energy intake in healthy women. *Metabolism*. 2008;57:1458–64.

Doyle JT, Helsin SA, Hilleboe HE, Formel PF, Kornis RF. A prospective study of cardiovascular disease in Albany: report of three years' experience: ischemic heart disease. *Am J Public Health*. 1957;47:25–32.

Dreja T, Jovanovic Z, Rasche A, Kluge R, Herwig R, Tung YC, Joost HG, Yeo GS, Al-Hasani H. Diet-induced gene expression of isolated pancreatic islets from a polygenic mouse model of the metabolic syndrome. *Diabetologia*. 2010;53:309–20.

Drenick EJ, Bale GS, Seltzer F, Johnson DG. Excessive mortality and causes of death in morbidly obese men. *JAMA*. 1980;243:443–5.

- Drewnowski A, Popkin BM. The nutrition transition: new trends in the global diet. *Nutr Rev.* 1997;55:31-43.
- Drewnowski A. Fat and sugar: an economic analysis. *J Nutr.* 2003;133:838S-840S.
- Drewnowski A. Obesity and the food environment: dietary energy density and diet costs. *Am J Prev Med.* 2004;27:154-62 (a).
- Drewnowski A, Almiron-Roig E, Marmonier C, Lluch A. Dietary energy density and body weight: is there a relationship? *Nutr Rev.* 2004;62:403-13 (b).
- Drucker DJ. Glucagon-like peptide 2. *Trends Endocrinol Metab.* 1999;10:153-6
- Du H, Vimalaswaran KS, Angquist L, Hansen RD, van der A DL, Holst C, Tjønneland A, Overvad K, Jakobsen MU, Boeing H, Meidtner K, Palli D, Masala G, Bouatia-Naji N, Saris WH, Feskens EJ, Wareham NJ, Sørensen TI, Loos RJ. Genetic polymorphisms in the hypothalamic pathway in relation to subsequent weight change--the DiOGenes study. *PLoS One.* 2011;6:17436.
- Duan C, Li M, Rui L. SH2-B promotes insulin receptor substrate 1 (IRS1)- and IRS2-mediated activation of the phosphatidylinositol 3-kinase pathway in response to leptin. *J Biol Chem.* 2004;279:43684-91.
- Duggirala R, Blangero J, Almasy L, Dyer TD, Williams KL, Leach RJ, O'Connell P, Stern MP. A major susceptibility locus influencing plasma triglyceride concentrations is located on chromosome 15q in Mexican Americans. *Am J Hum Genet.* 2000 ;66:1237-45.
- Duntas LH, Popovic V, Panotopoulos G. Adiponectin: novelties in metabolism and hormonal regulation. *Nutr Neurosci.* 2004;7:195-200.
- Durazo-arvizu R, Mcgee D, Li Z, Cooper R. Establishing the nadir of the body mass index-mortality relationship: a case study. *J Am Stat Assoc.* 1997;92:312-9.
- Dvoráková-Lorenzová A, Suchánek P, Havel PJ, Stávek P, Karasová L, Valenta Z, Tintěra J, Poledne R. The decrease in C-reactive protein concentration after diet and physical activity induced weight reduction is associated with changes in plasma lipids, but not interleukin-6 or adiponectin. *Metabolism.* 2006;55:359-65.
- Eastern Region Public Health Observatory. Tackling Obesity: Future Choices - Foresight Report. Cambridge; 2007.
- Eaton CB, Nafziger AN, Strogatz DS, Pearson TA. Self reported physical activity in a rural county: A New York County Health Census. *Am J Public Health.* 1994;84:29-32.
- Eckel RH, Krauss RM. American Heart Association call to action: obesity as a major risk factor for coronary heart disease. AHA Nutrition Committee. *Circulation.* 1998;97:2099-100.
- Eckel RH, Barouch WW, Ershow AG. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Working Group on the pathophysiology of obesity-associated cardiovascular disease. *Circulation.* 2002;105:2923-8.
- Eckel RH, Kahn R, Robertson RM, Rizza RA. Preventing cardiovascular disease and diabetes: a call to action from the American Diabetes Association and the American Heart Association. *Diabetes Care.* 2006;29:1697-9
- Edwards GL, Ladenheim EE, Ritter RC. Dorsomedial hindbrain participation in cholecystokinin-induced satiety. *Am J Physiol.* 4986;251:R971-R977
- Egan BM, Greene EL, Goodfriend TL. Nonesterified fatty acids in blood pressure control and cardiovascular complications. *Curr Hypertens Rep.* 2001;3:107-16.
- Eisenstein J, Greenberg A. Ghrelin: update 2003. *Nutr Rev.* 2003;61:101-4.

Elbers CC, Onland-Moret NC, Franke L, Niehoff AG, van der Schouw YT, Wijmenga C. A strategy to search for common obesity and type 2 diabetes genes. *Trends Endocrinol Metab.* 2007;18:19-26.

Elbers JM, Asscheman H, Seidell JC, Frolich M, Meinders AE, Gooren LJ. Reversal of the sex difference in serum leptin levels upon cross-sex hormone administration in transsexuals. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82:3267-70.

El-Gharbawy AH, Adler-Wailes DC, Mirch MC, Theim KR, Ranzenhofer L, Tanofsky-Kraff M, Yanovski JA. Serum brain-derived neurotrophic factor concentrations in lean and overweight children and adolescents. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:3548-52.

Eliasson B, Smith U. Leptin levels in smokers and long-term users of nicotine gum. *Eur J Clin Invest.* 1999;29:145-52.

Eliasson B. Cigarette smoking and diabetes. *Prog Cardiovasc Dis.* 2003;45:405-13.

Elizondo-Armendáriz JJ, Guillén Grima F, Aguinaga Ontoso I. Prevalencia de actividad física y su relación con variables sociodemográficas y estilos de vida en la población de 18 a 65 años de Pamplona. *Rev Esp Salud Publica.* 2005;79:559-67.

Ellaway A, Anderson A, Macintyre S. Does area of residence affect body size and shape?. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1997;21:304-8.

Enattah NS, Sahi T, Savilahti E, Terwilliger JD, Leena Peltonen L, Jarvela I. Identification of a variant associated with adult-type hypolactasia. *Nat Genet.* 2002;30:233-7.

Enattah NS, Trudeau A, Pimenoff V, Maiuri L, Auricchio S, Greco L, Rossi M, Lentze M, Seo JK, Rahgozar S, Khalil I, Alifrangis M, Natah S, Groop L, Shaat N, Kozlov A, Verschubskaya G, Comas D, Bulayeva K, Mehdi SQ, Terwilliger JD, Sahi T, Savilahti E, Perola M, Sajantila A, Järvelä I, Peltonen L. Evidence of still-ongoing convergence evolution of the lactase persistence T-13910 alleles in humans. *Am J Hum Genet.* 2007;81:615-25.

Endo K, Yanagi H, Hirano C, Hamaguchi H, Tsuchiya S, Tomura S. Association of Trp64Arg polymorphism of the beta3-adrenergic receptor gene and no association of Gln223Arg polymorphism of the leptin receptor gene in Japanese schoolchildren with obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2000;24:443-9.

Engeland A, Bjorge T, Selmer RM, Tverdal A. Height and body mass index in relation to total mortality. *Epidemiology.* 2003;14:293-9.

Engeli S, Böhnke J, Feldpausch M, Gorzelniak K, Janke J, Bäckai S, Pacher P, Harvey-White J, Luft FC, Sharma AM, Jordan J. Activation of the peripheral endocannabinoid system in human obesity. *Diabetes.* 2005;54:2838-43.

Engström G, Stavenow L, Hedblad B, Lind P, Tydén P, Janzon L, Lindgärde F. Inflammation-sensitive plasma proteins and incidence of myocardial infarction in men with low cardiovascular risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:2247-51.

Escribano García S, Vega Alonso AT, Lozano Alonso J, Alamo Sanz R, Lleras Muñoz S, Castrodeza Sanz J, Gil Costa M; Study of Cardiovascular Risk in Castile and Leon, Spain. Obesity in Castile and Leon, Spain: epidemiology and association with other cardiovascular risk factors. *Rev Esp Cardiol.* 2011;64:63-6.

Espósito K, Pontillo A, Di Palo C, Giugliano G, Masella M, Marfella R, Giugliano D. Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women: a randomized trial. *JAMA.* 2003;289:1799-1804 (a).

Espósito K, Nappo F, Giugliano F, Giugliano G, Marfella R, Giugliano D. Effect of dietary antioxidants on postprandial endothelial dysfunction induced by a high-fat meal in healthy subjects. *Am J Clin Nutr.* 2003;77:139-43 (b).

Esposito K, Marfella R, Ciotola M, Di Palo C, Giugliano F, Giugliano G, D'Armiento M, D'Andrea F, Giugliano D. Effect of a mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. *JAMA*. 2004;292:1440-6.

Estruch R. Wine and cardiovascular disease. *Food Res Intern*. 2000;33:219-26.

Estruch R, Sacanella E, Badia E, Antúnez E, Nicolás JM, Fernández-Solá J, Rotilio D, de Gaetano G, Rubin E, Urbano-Márquez A. Different effects of red wine and gin consumption on inflammatory biomarkers of atherosclerosis: a prospective randomized crossover trial. Effects of wine on inflammatory markers. *Atherosclerosis*. 2004;175:117-23.

Estruch R, Martínez-González MA, Corella D, Salas-Salvadó J, Ruiz-Gutiérrez V, Covas MI, Fiol M, Gómez-Gracia E, López-Sabater MC, Vinyoles E, Arós F, Conde M, Lahoz C, Lapetra J, Sáez G, Ros E; PREDIMED Study Investigators. Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors: a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2006;145:1-11.

Estruch R, Lamuela-Raventós RM. Alcohol, wine and cardiovascular disease, two sides of the same coin. *Intern Emerg Med*. 2010;5:277-9.

Estruch R, Sacanella E, Mota F, Chiva-Blanch G, Antúnez E, Casals E, Deulofeu R, Rotilio D, Andres-Lacueva C, Lamuela-Raventós RM, de Gaetano G, Urbano-Marquez A. Moderate consumption of red wine, but not gin, decreases erythrocyte superoxide dismutase activity: a randomised cross-over trial. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2011;21:46-53.

Eyre H, Kahn R, Robertson RM, Clark NG, Doyle C, Hong Y, Gansler T, Glynn T, Smith RA, Taubert K, Thun MJ; American Cancer Society; American Diabetes Association; American Heart Association. Preventing cancer, cardiovascular disease, and diabetes: a common agenda for the American Cancer Society, the American Diabetes Association, and the American Heart Association. *Circulation*. 2004;109:3244-55.

Facchini FS, Hollenbeck CB, Jeppesen J, Chen YD, Reaven GM. Insulin resistance and cigarette smoking. *Lancet*. 1992;339:1128-30.

Fairbrother UL, Tanko' LB, Walley AJ, Christiansen C, Froguel P, Blakemore AIF. Leptin receptor genotype at Gln223Arg is associated with body composition, BMD, and vertebral fracture in postmenopausal Danish women. *J Bone Mineral Res*. 2007;22: 544-50.

Fan W, Boston BA, Kesterson RA, Hraby VJ, Cone RD. Role of melanocortinergic neurons in feeding and the agouti obesity syndrome. *Nature*. 1997; 385:165-168.

Fanelli CG, Porcellati F, Pampanelli S, et al. Insulin therapy and hypoglycaemia: the size of the problem. *Diabetes Metab Res Rev*. 2004;20 Suppl 2:S32-42.

Fang X, Palanivel R, Zhou X, Liu Y, Xu A, Wang Y, Sweeney G. Hyperglycemia- and hyperinsulinemia-induced alteration of adiponectin receptor expression and adiponectin effects in L6 myoblasts. *J Mol Endocrinol*. 2005;35:465-76.

Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;115:911-9.

Farooqi IS, Yeo GS, Keogh JM, Aminian S, Jebb SA, Butler G, Cheetham T, O'Rahilly S. Dominant and recessive inheritance of morbid obesity associated with melanocortin 4 receptor deficiency. *J Clin Invest*. 2000;106:271-9.

Fasshauer M, Kralisch S, Klier M, Lossner U, Bluher M, Klein J, Paschke R. Adiponectin gene expression and secretion is inhibited by interleukin-6 in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;301:1045-50.

Fatouros IG, Tournis S, Leontini D, Jamurtas AZ, Sxina M, Thomakos P, Manousaki M, Douroudos I, Taxildaris K, Mitrakou A. 2005 Leptin and adiponectin responses in overweight inactive elderly following resistance training and detraining are intensity related. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90:5970-7.

Feng Q, Jiang L, Berg RL, Antonik M, MacKinney E, Gunnell-Santoro J, McCarty CA, Wilke RA. A common CNR1 (cannabinoid receptor 1) haplotype attenuates the decrease in HDL cholesterol that typically accompanies weight gain. *PLoS One*. 2010;5:15779.

Feng Y, Mao G, Ren X, Xing H, Tang G, Li Q, Li X, Sun L, Yang J, Ma W, Wang X, Xu X. Ser1369Ala variant in sulfonylurea receptor gene ABCC8 is associated with antidiabetic efficacy of gliclazide in Chinese type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2008;31:1939–44.

Fernández A, Schiaffino A, García M, Salto E, Villalbí JR, Borrás JM. Prevalencia del consumo de tabaco en España entre 1945 y 1995. Reconstrucción a partir de las Encuestas Nacionales de Salud. *Med Clin (Barc)*. 2003;120:14-6.

Fernández de la Puebla RA, Fuentes F, Pérez-Martínez P, Sánchez E, Paniagua JA, López-Miranda J, Pérez-Jiménez F. A reduction in dietary saturated fat decreases body fat content in overweight, hypercholesterolemic males. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2003;13:273-7.

Fernández-Ballart JD, Piñol JL, Zazpe I, Corella D, Carrasco P, Toledo E, Perez-Bauer M, Martínez-González MA, Salas-Salvado J, Martín-Moreno JM. Relative validity of a semi-quantitative food-frequency questionnaire in an elderly Mediterranean population of Spain. *Br J Nutr*. 2010;103:1808-16.

Fernández-Real JM, Vayreda M, Casamitjana R, Saez M, Ricart W. Body mass index (BMI) and percent fat mass. A BMI > 27.5 kg/m² could be indicative of obesity in the Spanish population. *Med Clin (Barc)*. 2001;117:681-4.

Fernyhough ME, Hausman GJ, Guan LL, Okine E, Moore SS, Dodson MV. Mature adipocytes may be a source of stem cells for tissue engineering. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008;368:455-7.

Ferrara A, Barrett-Connor E, Shan J. Total, LDL, and HDL cholesterol decrease with age in older men and women. The Rancho Bernardo Study 1984–1994. *Circulation*. 1997;96:37–43.

Ferrara LA, Raimondi AS, d'Episcopo L, Guidas L, Dello Ruso A, Marotta T. Olive oil and reduced need for antihypertensive medications. *Arch Intern Med*. 2000;160:837-42.

Ferretti G, Bacchetti T, Moroni C, Savino S, Liuzzi A, Balzola F, Bicchiega V. Paraoxonase activity in high-density lipoproteins: a comparison between healthy and obese females. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90:1728-33.

Ferro-Luzzi A, James WP, Kafatos A. The high-fat Greek diet: a recipe for all?. *Eur J Clin Nutr*. 2002; 56:796-809.

Feskens EJ, Bowles CH, Kromhout D. Carbohydrate intake and body mass index in relation to the risk of glucose intolerance in an elderly population. *Am J Clin Nutr*. 1991;54:136–40.

Feskens EJ, Virtanen SM, Räsänen L, Tuomilehto J, Stengård J, Pekkanen J, Nissinen A, Kromhout D. Dietary factors determining diabetes and impaired glucose tolerance. A 20-year follow-up of the Finnish and Dutch cohorts of the Seven Countries Study. *Diabetes Care*. 1995;18:1104-12.

Field AE, Coakley EH, Must A, Spadano JL, Laird N, Dietz WH, Rimm E, Colditz GA. Impact of overweight on the risk of developing common chronic diseases during a 10-year period. *Arch Intern Med*. 2001;161:1581–6.

Fielding BA, Reid G, Grady M, Humphreys SM, Evans K, Frayn KN. Ethanol with a mixed meal increases postprandial triacylglycerol but decreases postprandial non-esterified fatty acid concentrations. *Br J Nutr*. 2000;83:597-604.

Figschau Y, Knutsen G, Shahazeydi S, Johansen O, Sveinbjörnsson B. Human articular chondrocytes express functional leptin receptors. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001;287:190-7.

Filippi E, Sentinelli F, Trischitta V, Romeo S, Arca M, Leonetti F, Di Mario U, Baroni MG. Association of the human adiponectin gene and insulin resistance. *Eur J Hum Genet*. 2004;12:199-205.

- Filippi E, Sentinelli F, Romeo S, Arca M, Berni A, Tiberti C, Verrienti A, Fanelli M, Fallarino M, Sorropago G, Baroni MG. The adiponectin gene SNP+276G>T associates with early-onset coronary artery disease and with lower levels of adiponectin in younger coronary artery disease patients (age ≤ 50 years). *J Mol Med*. 2005;83:711-9.
- Filozof C, Fernandez Pinilla MC, Fernandez-Cruz A. Smoking cessation and weight gain. *Obes Rev*. 2004;5:95-103.
- Flier JS. Obesity wars: molecular progress confronts an expanding epidemic. *Cell*. 2004;116:337-50.
- Flight I, Clifton P. Cereal grains and legumes in the prevention of coronary heart disease and stroke: a review of the literature. *Eur J Clin Nutr*. 2006;60:1145-59.
- Florez JC, Burt N, de Bakker PI, Almgren P, Tuomi T, Holmkvist J, Gaudet D, Hudson TJ, Schaffner SF, Daly MJ, Hirschhorn JN, Groop L, Altshuler D. Haplotype structure and genotype-phenotype correlations of the sulfonylurea receptor and the islet ATP-sensitive potassium channel gene region. *Diabetes*. 2004;53:1360-8.
- Florez JC, Jablonski KA, Kahn SE, Franks PW, Dabelea D, Hamman RF, Knowler WC, Nathan DM, Altshuler D. Type 2 diabetes-associated missense polymorphisms KCNJ11 E23K and ABCC8 A1369S influence progression to diabetes and response to interventions in the Diabetes Prevention Program. *Diabetes*. 2007;56:531-6.
- Fontaine KR, Redden DT, Wang C, Westfall AO, Allison DB. Years of life lost due to obesity. *JAMA*. 2003;289:187-193.
- Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA*. 2002;287:356-9.
- Fox KR, Hillsdon M. Physical activity and obesity. *Obesity Rev*. 2007;8:115-21.
- Fox CS, Heard-Costa N, Cupples LA, Dupuis J, Vasan RS, Atwood LD. Genome-wide association to body mass index and waist circumference: the Framingham Heart Study 100K project. *BMC Med Genet*. 2007;8:S18(a).
- Fox CS, Massaro JM, Hoffmann U, Pou KM, Maurovich-Horvat P, Liu CY, Vasan RS, Murabito JM, Meigs JB, Cupples LA, D'Agostino RB Sr, O'Donnell CJ. Abdominal visceral and subcutaneous adipose tissue compartments: association with metabolic risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2007;116:39-48(b).
- Fragopoulou E, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Tampourlou M, Chrysohoou C, Nomikos T, Antonopoulou S, Stefanadis C. The association between adherence to the Mediterranean diet and adiponectin levels among healthy adults: the ATTICA study. *Nutr Biochem*. 2010;21:285-9.
- Francke S, Manraj M, Lacquemant C, Lecoecur C, Leprêtre F, Passa P, Hebe A, Corset L, Yan SL, Lahmidi S, Jankee S, Gunness TK, Ramjuttun US, Balgobin V, Dina C, Froguel P. A genome-wide scan for coronary heart disease suggests in Indo-Mauritians a susceptibility locus on chromosome 16p13 and replicates linkage with the metabolic syndrome on 3q27. *Hum Mol Genet*. 2001;10:2751-65.
- Franco C, Brandberg J, Lonn L, Andersson B, Bengtsson BA, Johannsson G. Growth hormone treatment reduces abdominal visceral fat in postmenopausal women with abdominal obesity: a 12-month placebo-controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90:1466-74.
- Franks PW, Brage S, Luan J, Ekelund U, Rahman M, Farooqi IS, Halsall I, O'Rahilly S, Wareham NJ. Leptin predicts a worsening of the features of the metabolic syndrome independently of obesity. *Obes Res*. 2005;13:1476-84.
- Franks S. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med*. 1995;333:853-61.
- Franssen R, Monajemi H, Stroes ES, Kastelein JJ. Obesity and dyslipidemia. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2008;37:623-33.

Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, Lindgren CM, Perry JR, Elliott KS, Lango H, Rayner NW, Shields B, Harries LW, Barrett JC, Ellard S, Groves CJ, Knight B, Patch AM, Ness AR, Ebrahim S, Lawlor DA, Ring SM, Ben-Shlomo Y, Jarvelin MR, Sovio U, Bennett AJ, Melzer D, Ferrucci L, Loos RJ, Barroso I, Wareham NJ, Karpe F, Owen KR, Cardon LR, Walker M, Hitman GA, Palmer CN, Doney AS, Morris AD, Smith GD, Hattersley AT, McCarthy MI. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science*. 2007;316:889-94.

French SA, Story M, Jeffery RW. Environmental influences on eating and physical activity. *Annu Rev Public Health*. 2001;22:309-335.

French SA, Story M, Neumark-Sztainer D, Fulkerson JA, Hannan P. Fast food restaurant use among adolescents: associations with nutrient intake, food choices and behavioral and psychosocial variables. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001;25:1823-33.

French SA. Pricing effects on food choices. *J Nutr*. 2003;133:841S-843S.

Fried SK, Bunkin DA, Greenberg AS. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83:847-50.

Fried SK, Ricci MR, Russell CD, Laferrere B. Regulation of leptin production in humans. *J Nutr*. 2000;130:3127S-3131S.

Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972;18:499-502.

Frittitta L, Baratta R, Spampinato D, Di Paola R, Pizzuti A, Vigneri R, Trischitta V. The Q121 PC-1 variant and obesity have additive and independent effects in causing insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:5888-91.

Froom P, Melamed S, Benbassat J. Smoking cessation and weight gain. *J Fam Pract*. 1998;46:460-4.

Frost M, Nielsen TL, Wraae K, Hagen C, Pipers E, Beckers S, De Freitas F, Brixen K, Van Hul W, Andersen M. Polymorphisms in the endocannabinoid receptor 1 in relation to fat mass distribution. *Eur J Endocrinol*. 2010;163:407-12.

Fruchbeck G. Intracellular signalling pathways activated by leptin. *Biochem J*. 2006;393:7-20.

Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, Ebbets-Reed D, Erickson MR, Yen FT, Bihain BE, Lodish HF. Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98:2005-10.

Frühbeck G. Intracellular signalling pathways activated by leptin. *Biochem J*. 2006;393:7-20.

Fry M, Smith PM, Hoyda TD, Duncan M, Ahima RS, Sharkey KA, Ferguson AV. Area postrema neurons are modulated by the adipocyte hormone adiponectin. *J Neurosci*. 2006;26:9695-702.

Fu Y, Luo N, Klein RL, Garvey WT. Adiponectin promotes adipocyte differentiation, insulin sensitivity, and lipid accumulation. *J Lipid Res*. 2005;46:1369-79.

Fuentes F, López-Miranda J, Sánchez E, Sánchez F, Paez J, Paz-Rojas E, Marín C, Gómez P, Jimenez-Perepérez J, Ordovás JM, Pérez-Jiménez F. Mediterranean and low-fat diets improve endothelial function in hypercholesterolemic men. *Ann Intern Med*. 2001;134:1115-9.

Fujioka K, Seaton TB, Rowe E, Jelinek CA, Raskin P, Lebovitz HE, Weinstein SP; Sibutramine/Diabetes Clinical Study Group. Weight loss with sibutramine improves glycaemic control and other metabolic parameters in obese patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab*. 2000;2:175-87.

- Fujita K, Nishizawa H, Funahashi T, Shimomura I, Shimabukuro M. Systemic oxidative stress is associated with visceral fat accumulation and the metabolic syndrome. *Circ J*. 2006;70:1437-42.
- Fumeron F, Aubert R, Siddiq A, Betoulle D, Péan F, Hadjadj S, Tichet J, Wilpart E, Chesnier MC, Balkau B, Froguel P, Marre M; Epidemiologic Data on the Insulin Resistance Syndrome (DESIR) Study Group. Adiponectin gene polymorphisms and adiponectin levels are independently associated with the development of hyperglycemia during a 3-year period: the epidemiologic data on the insulin resistance syndrome prospective study. *Diabetes*. 2004;53:1150-7.
- Fumeron F, Aubert R, Siddiq A, Betoulle D, Péan F, Hadjadj S, Tichet J, Wilpart E, Chesnier MC, Balkau B, Froguel P, Marre M; Epidemiologic Data on the Insulin Resistance Syndrome (DESIR) Study Group. Adiponectin gene polymorphisms and adiponectin levels are independently associated with the development of hyperglycemia during a 3-year period: the epidemiologic data on the insulin resistance syndrome prospective study. *Diabetes*. 2004;53:1150-7.
- Furuhashi M, Ura N, Hishiura K, Murakami H, Tanaka M, Moniwa N, Yoshida D, Shimamoto K. Blockade of renin-angiotensin system increases adiponectin concentration in patients with essential hypertension. *Hypertension*. 2003;42:76-81.
- Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, et al. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2004;114:1752-61.
- Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *New England Journal of Medicine*. 1999;340:448-54.
- Gable DR, Hurel SJ, Humphries SE. Adiponectin and its gene variants as risk factors for insulin resistance, the metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Atherosclerosis*. 2006;188:231-44.
- Gable DR, Matin J, Whittall R, Cakmak H, Li KW, Cooper J, Miller GJ, Humphries SE; HIFMECH investigators. Common adiponectin gene variants show different effects on risk of cardiovascular disease and type 2 diabetes in European subjects. *Ann Hum Genet*. 2007;71:453-66.
- Gabriel R, Alonso M, Segura A, Tormo MJ, Artigao LM, Banegas JR, Brotons C, Elosua R, Fernández-Cruz A, Muñoz J, Reviriego B, Rigo F. Prevalencia, distribución y variabilidad geográfica de los principales factores de riesgo cardiovascular en España. Análisis agrupado de datos individuales de estudios epidemiológicos poblacionales: estudio ERICE. *Rev Esp Cardiol*. 2008;61:1030-40.
- Gadd M, Sundquist J, Johansson SE, Wändell P. Do immigrants have an increased prevalence of unhealthy behaviours and risk factors for coronary heart disease?. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2005;12:535-41.
- Gaetani S, Cuomo V, Piomelli D. Anandamide hydrolysis: a new target for anti-anxiety drugs? *Trends Mol Med*. 2003;9:474-8.
- Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR. Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol Cell Endocrinol*. 2010;316:129-39.
- Gallagher D, Ruts E, Visser M, Heshka S, Baumgartner RN, Wang J, Pierson RN, Pi-Sunyer FX, Heymsfield SB. Weight stability masks sarcopenia in elderly men and women. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2000;279:E366-75.
- Galletti F, D'Elia L, Barba G, Siani A, Cappuccio FP, Farinero E, Iacone R, Russo O, De PD, Ippolito R, Strazzullo P. High-circulating leptin levels are associated with greater risk of hypertension in men independently of body mass and insulin resistance: results of an eight-year follow-up study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:3922-6.
- Gallou-Kabani C, Vige A, Gross MS, Junien C. Nutriepigenomics: lifelong remodelling of our epigenomes by nutritional and metabolic factors and beyond. *Clin Chem Lab Med*. 2007;45:321-7.

Gannagé-Yared MH, Khalife S, Semaan M, Fares F, Jambart S, Halaby G. Serum adiponectin and leptin levels in relation to the metabolic syndrome, androgenic profile and somatotrophic axis in healthy non-diabetic elderly men. *Eur J Endocrinol.* 2006;155:167-76.

Gantz I, Miwa H, Konda Y, Shimoto Y, Tashiro T, Watson SJ, DelValle J, Yamada T. Molecular cloning, expression, and gene localization of a fourth melanocortin receptor. *J Biol Chem.* 1993; 268:15174-9.

Garanty-Bogacka B, Syrenicz M, Syrenicz A, Gebala A, Walczak M. Relation of acute-phase reaction and endothelial activation to insulin resistance and adiposity in obese children and adolescents. *Neuro Endocrinol Lett.* 2005;26:473-9.

Garaulet M, Marín C, Pérez-Llamas F, Canteras M, Tebar FJ, Zamora S. Adiposity and dietary intake in cardiovascular risk in an obese population from a Mediterranean area. *J Physiol Biochem.* 2004;60:39-49.

Garcia EA, Heude B, Petry CJ, Gueorguiev M, Hassan-Smith ZK, Spanou A, Ring SM, Dunger DB, Wareham N, Sandhu MS, Ong KK, Korbonts M. Ghrelin receptor gene polymorphisms and body size in children and adults. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:4158-61.

García-Lorda P, Megias Rangil I, Salas-Salvadó J. Nut consumption, body weight and insulin resistance. *Eur J Clin Nutr.* 2003;57:S8-11.

García-Macedo R, Sanchez-Muñoz F, Almanza-Perez JC, Duran-Reyes G, Alarcon-Aguilar F, Cruz M. Glycine increases mRNA adiponectin and diminishes pro-inflammatory adipokines expression in 3T3-L1 cells. *Eur J Pharmacol.* 2008;587:317-21.

Garfield AS, Lam DD, Marston OJ, Przydzial MJ, Heisler LK. Role of central melanocortin pathways in energy homeostasis. *Trends Endocrinol Metab.* 2009;20:203-15.

Gazzerro P, Caruso MG, Notarnicola M, Misciagna G, Guerra V, Laezza C, Bifulco M. Association between cannabinoid type-1 receptor polymorphism and body mass index in a southern Italian population. *Int J Obes (Lond).* 2007;31:908-12.

Ge H, Huang L, Pourbahrami T, Li C. Generation of soluble leptin receptor by ectodomain shedding of membrane-spanning receptors in vitro and in vivo. *J Biol Chem.* 2002;277:45898-903.

Gesierich S, Paret C, Hildebrand D, Weitz J, Zraggen K, Schmitz-Winnenthal FH, Horejsi V, Yoshie O, Herlyn D, Ashman LK, Zöller M. Colocalization of the tetraspanins, CO-029 and CD151, with integrins in human pancreatic adenocarcinoma: impact on cell motility. *Clin Cancer Res.* 2005;11:2840-52.

Gibbs J, Young RC, Smith GP. Cholecystokinin decreases food intake in rats. *J Comp Physiol Psychol.* 1973;84:488-495.

Gibson F, Froguel P. Genetics of the APM1 locus and its contribution to type 2 diabetes susceptibility in French Caucasians. *Diabetes.* 2004; 53:2977-83.

Gjesing AP, Larsen LH, Torekov SS, Hainerová IA, Kapur R, Johansen A, Albrechtsen A, Boj S, Holst B, Harper A, Urhammer SA, Borch-Johnsen K, Pisinger C, Echwald SM, Eiberg H, Astrup A, Lebl J, Ferrer J, Schwartz TW, Hansen T, Pedersen O. Family and population-based studies of variation within the ghrelin receptor locus in relation to measures of obesity. *PLoS One.* 2010;5:10084.

Glavac D, Dean M. Optimization of the Single-Strand Conformation Polymorphism (SSCP) technique for detection of point mutations. *Human Mutation* 1993;2:404-14.

Gloyn AL. The search for type 2 diabetes genes. *Ageing Research Reviews.* 2003;2:111-27.

Gloyn AL, Weedon MN, Owen KR, Turner MJ, Knight BA, Hitman G, Walker M, Levy JC, Sampson M, Halford S, McCarthy MI, Hattersley AT, Frayling TM. Large-scale association studies of variants in genes encoding the

- pancreatic beta-cell KATP channel subunits Kir6.2 (KCNJ11) and SUR1 (ABCC8) confirm that the KCNJ11 E23K variant is associated with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2003;52:568–72.
- Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, Bhattacharya S, Carpenter R, Grossman AB, Korbonits M. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:2988.
- Goday A, Serrano-Ríos M. Epidemiology of diabetes mellitus in Spain. Critical review and new perspectives. *Med Clin (Barc)*. 1994;102:306-15.
- Goday A, Delgado E, Díaz-Cardomiga FJ, de Pablos P, Vázquez JA, Soto E. Epidemiología de la diabetes tipo 2 en España. *Endocrinol Nutr*. 2002;49:113-26.
- Goday A. Epidemiología de la diabetes y sus complicaciones no coronarias. *Rev Esp Cardiol*. 2002;55:657-70.
- Godínez SA, Marmolejo GE, Márquez E, Siordina JJ, Baeza R. La grasa visceral y su importancia en obesidad. *Rev Endocrinol Nutr*. 2002; 10:121-127.
- Golden E, Emiliano A, Maudsley S, Windham BG, Carlson OD, Egan JM, Driscoll I, Ferrucci L, Martin B, Mattson MP. Circulating brain-derived neurotrophic factor and indices of metabolic and cardiovascular health: data from the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *PLoS One*. 2010;5:10099.
- Golden PL, Maccagnan TJ, Partridge WM. Human blood-brain barrier leptin receptor. *J Clin Invest*. 1997;99:14-18.
- Gómez R, Conde J, Gómez-Reino JJ, Lago F, Gualillo O. Las adipocinas: mediadores emergentes de la respuesta inmune y de la inflamación. *Reumatol Clin*. 2009; 5:6–12.
- Gong M, Long J, Liu Q, Deng HC. Association of the ADIPOQ rs17360539 and rs266729 polymorphisms with type 2 diabetes: a meta-analysis. *Mol Cell Endocrinol*. 2010;325:78-83.
- González-Albarrán O, García-Robles R. Obesidad como factor de riesgo cardiovascular. Obesidad, la epidemia del siglo XXI. Madrid: Internacional de ediciones y publicaciones. 1999;12:191-209.
- González-Juanatey JR, Alegría-Ezquerro E, Aznar-Costa J, Bertomeu-Martínez V, Franch Nadal J, Palma-Gámiz JL. Conocimiento y aplicación de las guías de práctica clínica sobre riesgo cardiovascular en las consultas generales y especializadas. *Rev Esp Cardiol*. 2006;59:801-6.
- González-Sánchez JL, Martínez-Larrad MT, Fernández-Pérez C, Kubaszek A, Laakso M, Serrano-Ríos M. K121Q PC-1 gene polymorphism is not associated with insulin resistance in a Spanish population. *Obes Res*. 2003;11:603-5.
- González-Sánchez JL, Zabena CA, Martínez-Larrad MT, Fernández-Pérez C, Pérez-Barba M, Laakso M, Serrano-Ríos M. An SNP in the adiponectin gene is associated with decreased serum adiponectin levels and risk for impaired glucose tolerance. *Obes Res*. 2005;13:807-12.
- González-Sánchez JL, Zabena C, Martínez-Larrad MT, Martínez-Calatrava MJ, Pérez-Barba M, Serrano-Ríos M. Association of ENPP1 (PC-1) K121Q polymorphism with obesity-related parameters in subjects with metabolic syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2008;68:724-9.
- Goodpaster BH, Thaete FL, Simoneau JA, Nelly DE. Subcutaneous abdominal fat and thigh muscle composition predict insulin sensitivity independently of visceral fat. *Diabetes*. 1997;46:1579-85.
- Goran MI, Ball GD, Cruz ML. Obesity and risk of type 2 diabetes and cardiovascular disease in children and adolescents. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:1417–27.

Gotoda T, Manning BS, Goldstone AP, Imrie H, Evans AL, Strosberg AD, McKeigue PM, Scott J, Aitman TJ. Leptin receptor gene variation and obesity: lack of association in a white British male population. *Hum Mol Genet.* 1997;6:869-76.

Goulet J, Lamarche B, Nadeau G, Lemieux S. Effect of a nutritional intervention promoting the Mediterranean food pattern on plasma lipids, lipoproteins and body weight in healthy French Canadian women. *Atherosclerosis.* 2003;170:115-24.

Gourcerol G, St-Pierre DH, Taché Y. Lack of obestatin effects on food intake: should obestatin be renamed ghrelin-associated peptide (GAP)?. *Regul Pept.* 2007;141:1-7.

Goyenechea E, Collins LJ, Parra D, Liu G, Snieder H, Swaminathan R, Spector TD, Martínez JA, O'Dell SD. CD36 gene promoter polymorphisms are associated with low density lipoprotein-cholesterol in normal twins and after a low-calorie diet in obese subjects. *Twin Res Hum Genet.* 2008;11:621-8.

Goyenechea E, Collins LJ, Parra D, Abete I, Crujeiras AB, O'Dell SD, Martínez JA. The -11391 G/A polymorphism of the adiponectin gene promoter is associated with metabolic syndrome traits and the outcome of an energy-restricted diet in obese subjects. *Horm Metab Res.* 2009;41:55-61.

Grarup N, Urhammer SA, Ek J, Albrechtsen A, Glümer C, Borch-Johnsen K, Jørgensen T, Hansen T, Pedersen O. Studies of the relationship between the ENPP1 K121Q polymorphism and type 2 diabetes, insulin resistance and obesity in 7,333 Danish white subjects. *Diabetologia.* 2006;49:2097-104.

Grarup N, Andersen G, Krarup NT, Albrechtsen A, Schmitz O, Jørgensen T, Borch-Johnsen K, Hansen T, Pedersen O. Association testing of novel type 2 diabetes risk alleles in the JAZF1, CDC123/CAMK1D, TSPAN8, THADA, ADAMTS9, and NOTCH2 loci with insulin release, insulin sensitivity, and obesity in a population-based sample of 4,516 glucose-tolerant middle-aged Danes. *Diabetes.* 2008;57:2534-40.

Grassi G, Seravalle G, Magnoni M, Mancia G. Effects of cigarette smoking on systemic hemodynamics. *Contrib Nephrol.* 2000;130:21-30.

Gray J, Yeo GS, Cox JJ, Morton J, Adlam AL, Keogh JM, Yanovski JA, El Gharbawy A, Han JC, Tung YC, Hodges JR, Raymond FL, O'rahilly S, Farooqi IS. Hyperphagia, severe obesity, impaired cognitive function, and hyperactivity associated with functional loss of one copy of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) gene. *Diabetes.* 2006;55:3366-71.

Green BD, Irwin N, Flatt PR. Direct and indirect effects of obestatin peptides on food intake and the regulation of glucose homeostasis and insulin secretion in mice. *Peptides.* 2007;28:981-7.

Greenfield JR, Samaras K, Hayward CS, Chisholm DJ, Campbell LV. Beneficial postprandial effect of a small amount of alcohol on diabetes and cardiovascular risk factors: modification by insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:661-72.

Greenwalt DE, Lipsky RH, Ockenhouse CF, Ikeda H, Tandon NN, Jamieson GA. Membrane glycoprotein CD36: a review of its roles in adherence, signal transduction, and transfusion medicine. *Blood.* 1992;80:1105-15.

Grider JR. Role of cholecystokinin in the regulation of gastrointestinal motility. *J Nutr.* 1994;124:1334S-1339S.

Grønn M, Christensen E, Hagve TA, Christophersen BO. Effects of dietary purified eicosapentaenoic acid (20:5 (n-3)) and docosahexaenoic acid (22:6(n-3)) on fatty acid desaturation and oxidation in isolated rat liver cells. *Biochim Biophys Acta.* 1992;1125:35-43.

Groop LC, Tuomi T. Non-insulin-dependent diabetes mellitus--a collision between thrifty genes and an affluent society. *Ann Med.* 1997;29:37-53.

Grundy SM. Primary prevention of coronary heart disease. Integrating risk assessment with intervention. *Circulation.* 1999;100:988-98(a).

Grundy SM, Pasternak R, Greenland P, Smith S Jr, Fuster V. Assessment of cardiovascular risk by use of multiple-risk-factor assessment equations: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association and the American College of Cardiology. *Circulation*. 1999;100:1481-92(b).

Gu HF, Almgren P, Lindholm E, Frittitta L, Pizzuti A, Trischitta V, Groop LC. Association between the human glycoprotein PC-1 gene and elevated glucose and insulin levels in a paired-sibling analysis. *Diabetes*. 2000;49:1601-3.

Gu HF. Biomarkers of adiponectin: plasma protein variation and genomic DNA polymorphisms. *Biomark Insights*. 2009;4:123-33.

Gueorguiev M., Lecoeur C, Meyre D, Benzinou M, Mein CA, Hinney A, Vatin V, Weill J, Heude B, Hebebrand J, Grossman AB, Korbonits M, Froguel P. Association studies on ghrelin and ghrelin receptor gene polymorphisms with obesity. *Obesity*. 2009;17:745-54.

Gugatschka M, Dobnig H, Fahrleitner-Pammer A, Pietschmann P, Kudlacek S, Strele A, Obermayer-Pietsch B. Molecularly-defined lactose malabsorption, milk consumption and anthropometric differences in adult males. *QJM*. 2005;98:857-63.

Gugatschka M, Hoeller A, Fahrleitner-Pammer A, Dobnig H, Pietschmann P, Kudlacek S, Obermayer-Pietsch B. Calcium supply, bone mineral density and genetically defined lactose maldigestion in a cohort of elderly men. *J Endocrinol Invest*. 2007;30:46-51.

Guh DP, Zhang W, Bansback N, Amarsi Z, Birmingham CL, Anis AH. The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health*. 2009;9:88.

Guilod-Maximin E, Roy AF, Vacher CM, Aubourg A, Bailleux V, Lorsignol A, Pénicaud L, Parquet M, Taouis M. Adiponectin receptors are expressed in hypothalamus and colocalized with proopiomelanocortin and neuropeptide Y in rodent arcuate neurons. *J Endocrinol*. 2009;200:93-105.

Guisado-Requena IM, Guisado-Barrilao R. El tejido adiposo como órgano de secreción interna. *Scientia*. 2009; 14: 87-93.

Guizar-Mendoza JM, Amador-Licona N, Flores-Martínez SE, López-Cardona MG, Ahuatzin-Trémery R, Sánchez-Corona J. Association analysis of the Gln223Arg polymorphism in the human leptin receptor gene, and traits related to obesity in Mexican adolescents. *J Hum Hypertens*. 2005;19:341-6.

Guo SS, Zeller C, Chumlea WC, Siervogel RM. Aging, body composition, and lifestyle: the Fels Longitudinal Study. *Am J Clin Nutr*. 1999;70:405-11.

Guo X, Saad MF, Langefeld CD, Williams AH, Cui J, Taylor KD, Norris JM, Jinagouda S, Darwin CH, Mitchell BD, Bergman RN, Sutton B, Chen YD, Wagenknecht LE, Bowden DW, Rotter JI. Genome-wide linkage of plasma adiponectin reveals a major locus on chromosome 3q distinct from the adiponectin structural gene: the IRAS Family Study. *Diabetes*. 2006;55:1723-30.

Gupta A, Gupta V, Agrawal S, Natu SM, Agrawal CG, Negi MP, Tiwari S. Association between circulating leptin and insulin resistance, the lipid profile, and metabolic risk factors in North Indian adult women. *Biosci Trends*. 2010;4:325-32.

Guthoff M, Tschritter O, Berg D, Liepelt I, Schulte C, Machicao F, Breer H, Haering HU, Fritsche A. A polymorphism in the gene encoding AdipoR1 affects olfactory recognition. *Int J Obes (Lond)*. 2010. doi:10.1038/ijo.2010.211

Gutiérrez-Fisac JL, Rodríguez-Artalejo F, Guallar-Castillón P, Banegas-Banegas JR, Del Rey-Calero J. Determinants of geographical variations in body mass index (BMI) and obesity in Spain. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999;23:342-7.

- Gutzwiller JP, Drewe J, Göke B, Schmidt H, Rohrer B, Lareida J, Beglinger C. Glucagon-like peptide-1 promotes satiety and reduces food intake in patients with diabetes mellitus type 2. *Am J Physiol.* 1999; 276:R1541-4.
- Hajer GR, van Haefen TW, Visseren FL. Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes, and vascular diseases. *Eur Heart J.* 2008;29:2959-71.
- Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, Cohen SL, Chait BT, Rabinowitz D, Lallone RL, Burley SK, Friedman JM. Weight reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science.* 1995; 269:543-6.
- Hall JE. The kidney, hypertension, and obesity. *Hypertension.* 2003;41:625-33.
- Halliwell B, Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?. *Br J Pharmacol.* 2004;142:231-55.
- Halliwell B. Role of free radicals in the neurodegenerative diseases: therapeutic implications for antioxidant treatment. *Drugs Aging.* 2001;18:685-716.
- Halminski MA, Marsh JB, Harrison EH. Differential effects of fish oil, safflower oil and palm oil on fatty acid oxidation and glycerolipid synthesis in rat liver. *J Nutr.* 1991;121:1554-61.
- Halpern A and Mancini MC. Diabetes: are weight loss medications effective?. *Treat Endocrinol.* 2005;4:65-74.
- Haluzík M, Boudová L, Nedvídková J, Haluzíková D, Barácková M, Brandejský P, Vilikus Z. Lower serum leptin concentrations in rugby players in comparison with healthy non-sporting subjects--relationships to anthropometric and biochemical parameters. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1998;79:58-61.
- Hamajima N, Saito T, Matsuo K, Suzuki T, Nakamura T, Matsuura A, Okuma K, Tajima K. Genotype frequencies of 50 polymorphisms for 241 Japanese non-cancer patients. *J Epidemiol.* 2002;12:229-36.
- Hani EH, Boutin P, Durand E, Inoue H, Permutt MA, Velho G, Froguel P. Missense mutations of the pancreatic islet beta cell inwardly rectifying K⁺ channel gene (KIR6.2/BIR): a metaanalysis suggests a role in the polygenic basis of type II diabetes mellitus in Caucasians. *Diabetologia.* 1998;41:1511-15.
- Hankinson AL. Epidemiologic and pathophysiologic links between obesity and hypertension. *Curr Cardiovasc Risk Rep.* 2009;3:264-71.
- Hara K, Boutin P, Mori Y, Tobe K, Dina C, Yasuda K, Yamauchi T, Otabe S, Okada T, Eto K, Kadowaki H, Hagura R, Akanuma Y, Yazaki Y, Nagai R, Taniyama M, Matsubara K, Yoda M, Nakano Y, Tomita M, Kimura S, Ito C, Froguel P, Kadowaki T. Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetes.* 2002;51:536-40.
- Hara K, Horikoshi M, Kitazato H, Yamauchi T, Ito C, Noda M, Ohashi J, Froguel P, Tokunaga K, Nagai R, Kadowaki T. Absence of an association between the polymorphisms in the genes encoding adiponectin receptors and type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2005;48:1307-14.
- Harding AH, Williams DE, Hennings SH, Mitchell J, Wareham NJ. Is the association between dietary fat intake and insulin resistance modified by physical activity?. *Metabolism.* 2001;50:1186-92.
- Hardy R, Wills AK, Wong A, Elks CE, Wareham NJ, Loos RJ, Kuh D, Ong KK. Life course variations in the associations between FTO and MC4R gene variants and body size. *Hum Mol Genet.* 2010;19:545-52.
- Harnack L, Stang J, Story M. Soft drink consumption among US children and adolescents: nutritional consequences. *J Am Diet Assoc.* 1999;99:436-41.
- Harris RB. Leptin--much more than a satiety signal. *Annu Rev Nutr.* 2000;20:45-75.
- Hart LM, de Knijff P, Dekker JM, Stolk RP, Nijpels G, van der Does FE, Ruige JB, Grobbee DE, Heine RJ, Maassen JA. Variants in the sulphonylurea receptor gene: association of the exon 16-3t variant with Type II diabetes mellitus in Dutch Caucasians. *Diabetologia.* 1999;42:617-20.

Hartemink N, Boshuizen HC, Nagelkerke NJ, Jacobs MA, van Houwelingen HC. Combining risk estimates from observational studies with different exposure cutpoints: a meta-analysis on body mass index and diabetes type 2. *Am J Epidemiol.* 2006;163:1042-52.

Hartz AJ, Rupley DC, Rimm AA. The association of girth measurements with disease in 32,856 women. *Am J Epidemiol.* 1984;119:71-80.

Haskell WL, Lee IM, Pate RR, Powell KE, Blair SN, Franklin BA, Macera CA, Heath GW, Thompson PD, Bauman A. Physical Activity and Public Health Updated Recommendation for Adults From the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Circulation.* 2007;116:1081-93.

Haupt A, Thamer C, Heni M, Tschritter O, Machann J, Schick F, Machicao F, Häring HU, Staiger H, Fritsche A. Impact of variation near MC4R on whole-body fat distribution, liver fat, and weight loss. *Obesity (Silver Spring).* 2009;17:1942-5.

Hausman GJ. Identification of adipose tissue primordia in perirenal tissues of pig fetuses: utility of phosphatase histochemistry. *Acta Anat (Basel).* 1987;128:236-42.

Haveman-Nies A, Tucker KL, de Groot LC, Wilson PW, van Staveren WA. Evaluation of dietary quality in relationship to nutritional and lifestyle factors in elderly people of the US Framingham Heart Study and the European SENECA study. *Eur J Clin Nutr.* 2001;55:870-80.

Hayashi T, Boyko EJ, Leonetti DL, McNeely MJ, Newell-Morris L, Kahn SE, Fujimoto WY. Visceral adiposity and the prevalence of hypertension in Japanese Americans. *Circulation.* 2003;108:1718-23.

Hayashi T, Boyko EJ, Leonetti DL, McNeely MJ, Newell-Morris L, Kahn SE, Fujimoto WY. Visceral adiposity is an independent predictor of incident hypertension in Japanese Americans. *Ann Intern Med.* 2004;140:992-1000.

He K, Hu FB, Colditz GA, Manson JE, Willett WC, Liu S. Changes in intake of fruits and vegetables in relation to risk of obesity and weight gain among middle-aged women. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2004;28:1569-74.

Heard-Costa NL, Zillikens MC, Monda KL, Johansson A, Harris TB, Fu M, Haritunians T, Feitosa MF, Aspelund T, Eiriksdottir G, Garcia M, Launer LJ, Smith AV, Mitchell BD, McArdle PF, Shuldiner AR, Bielinski SJ, Boerwinkle E, Brancati F, Demerath EW, Pankow JS, Arnold AM, Chen YD, Glazer NL, McKnight B, Psaty BM, Rotter JI, Amin N, Campbell H, Gyllenstein U, Pattaro C, Pramstaller PP, Rudan I, Struchalin M, Vitart V, Gao X, Kraja A, Province MA, Zhang Q, Atwood LD, Dupuis J, Hirschhorn JN, Jaquish CE, O'Donnell CJ, Vasani RS, White CC, Aulchenko YS, Estrada K, Hofman A, Rivadeneira F, Uitterlinden AG, Witteman JC, Oostra BA, Kaplan RC, Gudnason V, O'Connell JR, Borecki IB, van Duijn CM, Cupples LA, Fox CS, North KE. NRXN3 is a novel locus for waist circumference: a genome-wide association study from the CHARGE Consortium. *PLoS Genet.* 2009;5:1000539.

Hegele RA, Sun F, Harris SB, Anderson C, Hanley AJ, Zinman B. Genome-wide scanning for type 2 diabetes susceptibility in Canadian Oji-Cree, using 190 microsatellite markers. *J Hum Genet.* 1999;44:10-4.

Heid IM, Wagner SA, Gohlke H, Iglseider B, Mueller JC, Cip P, Ladurner G, Reiter R, Stadlmayr A, Mackevics V, Illig T, Kronenberg F, Paulweber B. Genetic architecture of the APM1 gene and its influence on adiponectin plasma levels and parameters of the metabolic syndrome in 1,727 healthy Caucasians. *Diabetes.* 2006;55:375-84.

Heid IM, Henneman P, Hicks A, Coassin S, Winkler T, Aulchenko YS, Fuchsberger C, Song K, Hivert MF, Waterworth DM, Timpson NJ, Richards JB, Perry JR, Tanaka T, Amin N, Kollerits B, Pichler I, Oostra BA, Thorand B, Frants RR, Illig T, Dupuis J, Glaser B, Spector T, Guralnik J, Egan JM, Florez JC, Evans DM, Soranzo N, Bandinelli S, Carlson OD, Frayling TM, Burling K, Smith GD, Mooser V, Ferrucci L, Meigs JB, Vollenweider P, Dijk KW, Pramstaller P, Kronenberg F, van Duijn CM. Clear detection of ADIPOQ locus as the major gene for plasma adiponectin: results of genome-wide association analyses including 4659 European individuals. *Atherosclerosis.* 2010;208:412-20.

Hellerstein MK, Benowitz NL, Neese RA, Schwartz JM, Hoh R, Jacob P III, Hsieh J, Faix D. Effects of cigarette smoking and its cessation on lipid metabolism and energy expenditure in heavy smokers. *J Clin Invest.* 1994;93:265-72.

Hellmér J, Marcus C, Sonnenfeld T, Arner P. Mechanisms for differences in lipolysis between human subcutaneous and omental fat cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992;75:15-20.

Heo M, Leibel RL, Boyer BB, Chung WK, Koulu M, Karvonen MK, Pesonen U, Rissanen A, Laakso M, Uusitupa MI, Chagnon Y, Bouchard C, Donohoue PA, Burns TL, Shuldiner AR, Silver K, Andersen RE, Pedersen O, Echwald S, Sorensen TI, Behn P, Permutt MA, Jacobs KB, Elston RC, Hoffman DJ, Allison DB. Pooling analysis of genetic data: The association of leptin receptor (LEPR) polymorphisms with variables related to human adiposity. *Genetics.* 2001;159:1163-78.

Heo M, Leibel RL, Fontaine KR, Boyer BB, Chung WK, Koulu M, Karvonen MK, Pesonen U, Rissanen A, Laakso M, Uusitupa MI, Chagnon Y, Bouchard C, Donohoue PA, Burns TL, Shuldiner AR, Silver K, Andersen RE, Pedersen O, Echwald S, Sorensen TI, Behn P, Permutt MA, Jacobs KB, Elston RC, Hoffman DJ, Gropp E, Allison DB. A metaanalytic investigation of linkage and association of common leptin receptor (LEPR) polymorphisms with body mass index and waist circumference. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002;26:640-6.

Hermesdorff HH, Zulet MA, Abete I, Martínez JA. Discriminated benefits of a Mediterranean dietary pattern within a hypocaloric diet program on plasma RBP4 concentrations and other inflammatory markers in obese subjects. *Endocrine.* 2009;36:445-51.

Hermesdorff HH, Zulet MA, Puchau B, Martínez JA. Fruit and vegetable consumption and proinflammatory gene expression from peripheral blood mononuclear cells in young adults: a translational study. *Nutr Metab (Lond).* 2010;7:42.

Hernández Lanchas C, Parrilla Herranz P, Llorente Domingo P, Hernández Bueno MD, Arranz Nieto MJ, Portillo Cazorla A, et al. Factores de riesgo cardiovascular en una población natural. Estudio de Talavera de la Reina. Evaluación del tabaquismo. *An Med Interna.* 1992;9:64-71.

Hernández-Morante JJ, Pérez-de-Heredia F, Luján JA, Zamora S, Garaulet M. Role of DHEA-S on body fat distribution: Gender-and depot-specific stimulation of adipose tissue lipolysis. *Steroids.* 2008;73:209-15.

Heseker H, Schmid A. Epidemiology of obesity. *Ther Umsch.* 2000;57:478-81.

Higdon JV, Frei B. Obesity and oxidative stress: a direct link to CVD?. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:365-7.

Hills AP, Birmeh NM. Exercise prescription for weight management. *Proc Nutr Soc* 1998;57:93-103.

Hinney A, Hoch A, Geller F, Schäfer H, Siegfried W, Goldschmidt H, Remschmidt H, Hebebrand J. Ghrelin gene: identification of missense variants and a frameshift mutation in extremely obese children and adolescents and healthy normal weight students. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:2716.

Hinuy HM, Hirata MH, Forti N, Diamant J, Sampaio MF, Armaganjian D, Salazar LA, Hirata RD. Leptin G-2548A promoter polymorphism is associated with increased plasma leptin and BMI in Brazilian women. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2008;52:611-6.

Hirschhorn JN, Daly MJ. Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nat Rev Genet.* 2005;6:95-108.

Hislop MS, Ratanjee BD, Soule SG, Marais AD. Effects of anabolicandrogenic steroid use or gonadal testosterone suppression on serum leptin concentration in men. *Eur J Endocrinol.* 1999;141:40-46.

Hivert MF, Manning AK, McAteer JB, Florez JC, Dupuis J, Fox CS, O'Donnell CJ, Cupples LA, Meigs JB. Common variants in the adiponectin gene (ADIPOQ) associated with plasma adiponectin levels, type 2 diabetes, and diabetes-related quantitative traits: the Framingham Offspring Study. *Diabetes.* 2008;57:3353-9.

- Hodge AM, Dowse GK, Toelupe P, Collins VR, Zimmet PZ. The association of modernisation with dyslipidemia and changes in lipid levels in the Polynesian population of western Samoa. *Int J Epidemiol.* 1997;26:297–306(a).
- Hodge AM, Westerman RA, de Courten MP, Collier GR, Zimmet PZ, Alberti KG. Is leptin sensitivity the link between smoking cessation and weight gain?. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1997;21:50-3(b).
- Hoeg JM. Evaluating coronary heart disease risk. *JAMA* 1997; 277:1387-90.
- Hoffstedt J, Eriksson P, Mottagui-Tabar S, Arner P. A polymorphism in the leptin promoter region (-2548 G/A) influences gene expression and adipose tissue secretion of leptin. *Horm Metab Res.* 2002;34:355-9.
- Hofstetter A, Schutz Y, Jéquier E, Wahren J. Increased 24-hour energy expenditure in cigarette smokers. *N Engl J Med.* 1986;314:79-82.
- Hoggard N, Hunter L, Duncan JS, Williams LM, Trayhurn P, Mercer JG. Leptin and leptin receptor mRNA and protein expression in the murine fetus and placenta. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94:11073-8.
- Holst B, Cygankiewicz A, Jensen TH, Ankersen M, Schwartz TW. High constitutive signaling of the ghrelin receptor-identification of a potent inverse agonist. *Mol Endocrinol.* 2003;17:2201-10.
- Holst B, Egerod KL, Schild E, Vickers SP, Cheetham S, Gerlach LO, Storzjohann L, Stidsen CE, Jones R, Beck-Sickinger AG, Schwartz TW. GPR39 signaling is stimulated by zinc ions but not by obestatin. *Endocrinology.* 2007;148:13-20.
- Holt S. Expert analysis of the health applications. Low carbs and syndrome X. Part I. 2004. En: www.betternutrition.com.
- Hong KW, Jin HS, Lim JE, Cho YS, Go MJ, Jung J, Lee JE, Choi J, Shin C, Hwang SY, Lee SH, Park HK, Oh B. Non-synonymous single-nucleotide polymorphisms associated with blood pressure and hypertension. *J Hum Hypertens.* 2010;24:763-74.
- Honjo K, Siegel M. Perceived importance of being thin and smoking initiation among young girls. *Tob Control.* 2003;12:289-95.
- Hopkins PN. Effects of dietary cholesterol on serum cholesterol: a meta-analysis and review. *Am J Clin Nutr.* 1992;55:1060–70.
- Horton TJ, Dow S, Armstrong M, Donahoo WT. Greater systemic lipolysis in women compared with men during moderate-dose infusion of epinephrine and/or norepinephrine. *J Appl Physiol.* 2009;107:200-10.
- Horvath CM. The Jak-STAT pathway stimulated by interferon gamma. *Sci STKE.* 2004;2004:8.
- Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science.* 1993;259:87-91.
- Hotta K, Funahashi T, Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, Iwahashi H, Kuriyama H, Ouchi N, Maeda K, Nishida M, Kihara S, Sakai N, Nakajima T, Hasegawa K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Hanafusa T, Matsuzawa Y. Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000;2:1595-9.
- Houseknecht KL, Mantzoros CS, Kuliawat R, Hadro E, Flier JS, Kahn BB. Evidence for leptin binding to proteins in serum of rodents and humans: modulation with obesity. *Diabetes.* 1996;45:1638-1643.
- Houseknecht KL, McGuire MK, Portocarrero CP, McGuire MA, Beerman K. Leptin is present in human milk and is related to maternal plasma leptin concentration and adiposity. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997;240:742-7.
- Howard Hughes Medical Institute and National Institutes of Health, National Human Genome Research Institute. Available http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi

- Hu E, Liang P, Spiegelman BM. Adipo Q is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J Biol Chem*. 1996; 271:10697-702.
- Hu FB, Stampfer MJ, Manson JE, Rimm EB, Colditz GA, Rosner BA, Speizer FE, Hennekens CH, Willett WC. Frequent nut consumption and risk of coronary heart disease in women: prospective cohort study. *BMJ*. 1998;317:1341-5.
- Hu FB, Chen C, Wang B, Stampfer MJ, Xu X. Leptin concentrations in relation to overall adiposity, fat distribution, and blood pressure in a rural Chinese population. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2001;25:121-5.
- Hu FB, Willett WC, Li T, Stampfer MJ, Colditz GA, Manson JE. Adiposity as compared with physical activity in predicting mortality among women. *N Engl J Med*. 2004;351:2694-703(a).
- Hu FB, Doria A, Li T, Meigs JB, Liu S, Memisoglu A, Hunter D, Manson JE. Genetic variation at the adiponectin locus and risk of type 2 diabetes in women. *Diabetes*. 2004;53:209-13(b).
- Huang L, Wang Z, Li C. Modulation of circulating leptin levels by its soluble receptor. *J Biol Chem*. 2001; 276:6343-6349.
- Hubáček JA, Bohuslavová R, Skodová Z, Adámková V. Variants within the ghrelin gene--association with HDL-cholesterol, but not with body mass index. *Folia Biol (Praha)*. 2007;53:202-6.
- Huber J, Kiefer FW, Zeyda M, Ludvik B, Silberhumer GR, Prager G, Zlabinger GJ, Stulnig TM. CC chemokine and CC chemokine receptor profiles in visceral and subcutaneous adipose tissue are altered in human obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:3215-21.
- Hug C, Wang J, Ahmad NS, Bogan JS, Tsao TS, Lodish HF. T-cadherin is a receptor for hexameric and high-molecular-weight forms of Acrp30/adiponectin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:10308-13.
- Hughes JR, Higgins ST, Bickel WK. Nicotine withdrawal versus other drug withdrawal syndromes: similarities and dissimilarities. *Addiction*. 1994;89:1461-70.
- Hughes LA, Arts IC, Ambergen T, Brants HA, Dagnelie PC, Goldbohm RA, van den Brandt PA, Weijnenberg MP; Netherlands Cohort Study. Higher dietary flavone, flavonol, and catechin intakes are associated with less of an increase in BMI over time in women: a longitudinal analysis from the Netherlands Cohort Study. *Am J Clin Nutr*. 2008;88:1341-52.
- Hung CC, Pirie F, Luan J, Lank E, Motala A, Yeo GS, Keogh JM, Wareham NJ, O'Rahilly S, Farooqi IS. Studies of the peptide YY and neuropeptide Y2 receptor genes in relation to human obesity and obesity-related traits. *Diabetes*. 2004;53:2461-6.
- Huszar D, Lynch CA, Fairchild-Huntress V, Dunmore JH, Fang Q, Berkemeier LR, Gu W, Kesterson RA, Boston BA, Cone RD, Smith FJ, Campfield LA, Burn P, Lee F. Targeted disruption of the melanocortin-4 receptor results in obesity in mice. *Cell*. 1997; 88:131-41.
- Huuskonen A, Lappalainen J, Tanskanen M, Oksala N, Kyröläinen H, Atalay M. Genetic variations of leptin and leptin receptor are associated with body composition changes in response to physical training. *Cell Biochem Funct*. 2010;28:306-12.
- Ibáñez J, Eseverri C. Ejercicio físico en la prevención y tratamiento de la obesidad. *Nutr Obes* 2002;5:59-66.
- Ibrahimi A, Sfeir Z, Magharaie H, Amri EZ, Grimaldi P, Abumrad NA. Expression of the CD36 homolog (FAT) in fibroblast cells: effects on fatty acid transport. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93:2646-51.
- Ihle J. STATs: signal transducers and activators of transcription. *Cell*. 1996;84:331-34.
- Iizuka K, Horikawa Y. ChREBP: a glucose-activated transcription factor involved in the development of metabolic syndrome. *Endocr J*. 2008;55:617-24.

- Il'yasova D, Wang F, D'Agostino RB Jr, Hanley A, Wagenknecht LE. Prospective association between fasting NEFA and type 2 diabetes: impact of post-load glucose. *Diabetologia*. 2010;53:866-74
- Iniesta R, Guinó E, Moreno V. Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. *Gac Sanit*. 2005;19:333-41.
- Innamorati G, Bianchi E, Whang MI. An intracellular role for the C1q-globular domain. *Cell Signal*. 2006;18:761-70.
- Instituto Nacional de Estadística (INE). Encuesta Europea de Salud en España. Avance de resultados del segundo y tercer trimestre, 2009.
- Instituto Nacional de Salud Pública (INSP). Encuesta Nacional de Salud 2000. La salud de los adultos (en línea). Dirección URL: <http://www.insp.mx/ensa/ensa_tomo2.pdf>
- International Diabetes Federation. The global burden of diabetes. In: *Diabetes Atlas*, second edition, 2003.
- International Diabetes Federation. Worldwide definition of the Metabolic Syndrome. 2005. Available at: <http://www.idf.org>.
- Inui A. Neuropeptide Y feeding receptors: are multiple subtypes involved? *Trends Pharmacol Sci*. 1999;20:43-6.
- Isse N, Ogawa Y, Tamura N, Masuzaki H, Mori K, Okazaki T, Satoh N, Shigemoto M, Yoshimasa Y, Nishi S, Hosada K, Inazawa J, Nakao K. Structural organization and chromosomal assignment of the human obese gene. *J Biol Chem*. 1995;270:27728-33.
- Iwashima Y, Katsuya T, Ishikawa K, Kida I, Ohishi M, Horio T, Ouchi N, Ohashi K, Kihara S, Funahashi T, Rakugi H, Ogihara T. Association of hypo adiponectinemia with smoking habit in men. *Hypertension*. 2005;45:1094-100.
- Jackson KG, Zampelas A, Knapper JM, Culverwell CC, Wright J, Gould BJ, Williams CM. Lack of influence of test meal fatty acid composition on the contribution of intestinally-derived lipoproteins to postprandial lipaemia. *Br J Nutr*. 1999;81:51-7.
- Jackson RS, Creemers JW, Ohagi S, Raffin-Sanson ML, Sanders L, Montague CT, Hutton JC, O'Rahilly S. Obesity and impaired prohormone processing associated with mutations in the human prohormone convertase 1 gene. *Nat Genet*. 1997;16:303-6.
- Jakicic JM. Exercise in the treatment of obesity. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2003;32:967-80.
- James WP. The epidemiology of obesity: the size of the problem. *J Intern Med*. 2008;263:336-52.
- Jandacek RJ, Woods SC. Pharmaceutical approaches to the treatment of obesity. *Drug Discov Today*. 2004;9:874-80.
- Jang Y, Lee JH, Kim OY, Park HY, Lee SY. Consumption of whole grain and legume powder reduces insulin demand, lipid peroxidation, and plasma homocysteine concentrations in patients with coronary artery disease: randomized controlled clinical trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21:2065-71.
- Jang Y, Lee JH, Chae JS, Kim OY, Koh SJ, Kim JY, Cho H, Lee JE, Ordovas JM. Association of the 276G->T polymorphism of the adiponectin gene with cardiovascular disease risk factors in nondiabetic Koreans. *Am J Clin Nutr*. 2005;82:760-7.
- Jang Y, Lee JH, Kim OY, Koh SJ, Chae JS, Woo JH, Cho H, Lee JE, Ordovas JM. The SNP276G>T polymorphism in the adiponectin (ACDC) gene is more strongly associated with insulin resistance and cardiovascular disease risk than SNP45T>G in nonobese/nondiabetic Korean men independent of abdominal adiposity and circulating plasma adiponectin. *Metabolism*. 2006;55:59-66.

Jang Y, Koh SJ, Kim OY, Kim BK, Choi D, Hyun YJ, Kim HJ, Chae JS, Lee JH. Effect of the 252A>G polymorphism of the lymphotoxin-alpha gene on inflammatory markers of response to cigarette smoking in Korean healthy men. *Clin Chim Acta*. 2007;377:221-7.

Janowski BA, Willy PJ, Devi TR, Falck JR, Mangelsdorf DJ. An oxysterol signalling pathway mediated by the nuclear receptor LXR alpha. *Nature*. 1996;383:728-31.

Janssen I, Heymsfield SB, Wang ZM, Ross R. Skeletal muscle mass and distribution in 468 men and women aged 18–88 yr. *J Appl Physiol*. 2000;89: 81–88.

Jebb S. Obesity: causes and consequences. *Women's Health Medicine*. 2004;1:38-41.

Jenkins-Kruchten AE, Bennaars-Eiden A, Ross JR, Shen WJ, Kraemer FB, Bernlohr DA. Fatty acid-binding protein-hormone-sensitive lipase interaction. Fatty acid dependence on binding. *J Biol Chem*. 2003;278:47636-43.

Jeon CY, Lokken RP, Hu FB, van Dam RM. Physical activity of moderate intensity and risk of type 2 diabetes: a systematic review. *Diabetes Care*. 2007;30:744-52.

Jeppesen J, Asferg C. Positive relationship between plasma leptin levels and hypertension from an epidemiological perspective. *Hypertension*. 2010;56:573-4.

Jia WP, Xiang KS, Chen L, Lu JX, Wu YM. Epidemiological study on obesity and its comorbidities in urban Chinese older than 20 years of age in Shanghai, China. *Obes Rev*. 2002;3:157-65.

Jimenez-Sanchez G, Childs B, Valle D. Human disease genes. *Nature*. 2001;409:853-835.

Jo YH, Chen YJ, Chua SC Jr, Talmage DA, Role LW. Integration of endocannabinoid and leptin signaling in an appetite-related neural circuit. *Neuron*. 2005;48:1055-66.

Jo YH, Talmage DA, Role LW. Nicotinic receptor-mediated effects on appetite and food intake. *J Neurobiol*. 2002;53:618-32.

Johan Auwerx, Bart Staels. Leptin Review Article. *Lancet*. 1998;351:737-42.

Johnson RK. Energía. En: Mahan K, Escott-Stump S (eds). *Nutrición y dietoterapia de Krause*. McGraw Hill Interamericana: México, 2001;20-32.

Joint National Committee. The Sixth Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure (JNC VI). *Arch Intern Med*. 1997;157:2413-45.

Jump DB, Clarke SD, Thelen A, Liimatta M, Ren B, Badin M. Dietary polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription. *Prog Lipid Res*. 1996;35:227-41.

Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev*. 2005;26:439–51.

Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev*. 2005;26:439–51

Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J. Clin. Invest.*2006;116: 1784–92.

Kagan A, Kannel WB, Dawber TR, Revotskie N. The coronary profile. *Ann N Y Acad Sci*. 1963; 97: 883-94.

Kahan SE. The relative contributions of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2003;46:3-19.

Kahn HS, Tatham LM, Rodriguez C, Calle EE, Thun MJ, Heath CW Jr. Stable behaviors associated with adults' 10-year change in body mass index and likelihood of gain at the waist. *Am J Public Health*. 1997;87:747-54.

- Kalaany NY, Mangelsdorf DJ. LXRS and FXR: the yin and yang of cholesterol and fat metabolism. *Annu Rev Physiol.* 2006;68:159-91.
- Kane GC, Liu XK, Yamada S, Olson TM, Terzic A. Cardiac KATP channels in health and disease. *J Mol Cell Cardiol.* 2005;38:937-43.
- Kang HM, Sul JH, Service SK, Zaitlen NA, Kong SY, Freimer NB, Sabatti C, Eskin E. Variance component model to account for sample structure in genome-wide association studies. *Nat Genet.* 2010;42:348-54.
- Kannel WB, Dawber TR, Kagan A, Revotskie N, Stokes J. Factors of risk in the development of coronary heart disease—six-year follow-up experience: the Framingham Study. *Ann Intern Med.* 1961;55:33-50.
- Kannel WB, LeBauer EJ, Dawber TR, McNamara PM. Relation of body weight to development of coronary heart disease. The Framingham study. *Circulation.* 1967;35:734-44.
- Kannel WB, Cupples LA, Ramaswami R, Stokes J 3rd, Kreger BE, Higgins M. Regional obesity and risk of cardiovascular disease; the Framingham Study. *J Clin Epidemiol.* 1991;44:183-90.
- Kannel WB, Garrison RJ, Dannenberg AL. Secular blood pressure trends in normotensive persons. *Am Heart J.* 1993;125:1154-8.
- Kannel WB, Wilson PW, Nam BH, D'Agostino RB. Risk stratification of obesity as a coronary risk factor. *Am J Cardiol.* 2002;90:697-701.
- Kantartzis K, Rittig K, Balletshofer B, Machann J, Schick F, Porubska K, Fritsche A, Haring HU, Stefan N. The relationships of plasma adiponectin with a favorable lipid profile, decreased inflammation, and less ectopic fat accumulation depend on adiposity. *Clin Chem.* 2006;52:1934-42(a).
- Kantartzis K, Fritsche A, Machicao F, Häring HU, Stefan N. The -8503 G/A polymorphism of the adiponectin receptor 1 gene is associated with insulin sensitivity dependent on adiposity. *Diabetes Care.* 2006;29:464(b).
- Karlsson C, Lindell K, Ottosson M, Sjöström L, Carlsson B, Carlsson LM. Human adipose tissue expresses angiotensinogen and enzymes required for its conversion to angiotensin II. *Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:3925-9.
- Kastorini CM, Panagiotakos DB. The role of the mediterranean diet on the development of the metabolic syndrome. *Front Biosci (Elite Ed).* 2010;2:1320-33.
- Katan MB, Zock PL, Mensink RP. Trans fatty acids and their effects on lipoproteins in humans. *Annu Rev Nutr.* 1995;15:473-93.
- Kathiresan S, Melander O, Guiducci C, Surti A, Burt NP, Rieder MJ, Cooper GM, Roos C, Voight BF, Havulinna AS, Wahlstrand B, Hedner T, Corella D, Tai ES, Ordovas JM, Berglund G, Vartiainen E, Jousilahti P, Hedblad B, Taskinen MR, Newton-Cheh C, Salomaa V, Peltonen L, Groop L, Altshuler DM, Orho-Melander M. Six new loci associated with blood low-density lipoprotein cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol or triglycerides in humans. *Nat Genet.* 2008;40:189-97.
- Katoh-Semba R, Takeuchi IK, Semba R, Kato K. Distribution of brain-derived neurotrophic factor in rats and its changes with development in the brain. *J Neurochem.* 1997;69:34-42.
- Katrin S, Martin H, Goeschen C, Dellas C, Pynn M. Leptin promotes vascular remodelling and neointimal growth in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004; 24:112-17.
- Katzel LI, Busby-Whitehead MJ, Goldberg AP. Adverse effects of abdominal obesity on lipoprotein lipids in healthy older men. *Exp Gerontol.* 1993;28:411-20.
- Katzmarzyk PT, Janssen I, Ardern CI. Physical inactivity, excess adiposity and premature mortality. *Obes Rev.* 2003;4:257-90.

Kaushik N, Pietraszewski M, Holst JJ, O'Keefe SJ. Enteral feeding without pancreatic stimulation. *Pancreas*. 2005;31:353-9.

Keaney JF Jr, Larson MG, Vasan RS, Wilson PW, Lipinska I, Corey D, Massaro JM, Sutherland P, Vita JA, Benjamin EJ; Framingham Study. Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:434-9.

Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet*. 2005;365:217-23.

Kelley DE, Thaete FL, Troost F, Huwe T, Goodpaster BH. Subdivision of subcutaneous abdominal adipose tissue and insulin resistance. *Am J Physiol*. 2001;278:E941-8.

Kenchaiah S, Evans JC, Levy D, Wilson PW, Benjamin EJ, Larson MG, Kannel WB, Vasan RS. Obesity and the risk of heart failure. *N Engl J Med*. 2002;347:305-13.

Kennedy GC. The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*. 1953;140:578-96.

Kettunen J, Silander K, Saarela O, Amin N, Müller M, Timpson N, Surakka I, Ripatti S, Laitinen J, Hartikainen AL, Pouta A, Lahermo P, Anttila V, Männistö S, Jula A, Virtamo J, Salomaa V, Lehtimäki T, Raitakari O, Gieger C, Wichmann EH, Van Duijn CM, Smith GD, McCarthy MI, Jarvelin MR, Perola M, Peltonen L. European lactase persistence genotype shows evidence of association with increase in body mass index. *Hum Mol Genet*. 2010;19:1129-36.

Keys A, Fidanza F, Karvonen MJ, Kimura N, Taylor HL. Indices of relative weight and obesity. *J Chronic Dis*. 1972;25:329-43.

Keys A, Aravanis C, Blackburn HW, Van Buchem FS, Buzina R, Djordjević BD, Dontas AS, Fidanza F, Karvonen MJ, Kimura N, Lekos D, Monti M, Puudu V, Taylor HL. Epidemiological studies related to coronary heart disease: characteristics of men aged 40-59 in seven countries. *Acta Med Scand Suppl*. 1966;460:1-392.

Keys A, Menotti A, Karvonen MJ. The diet and the 15-year death rate in the Seven Countries Study. *Am J Epidemiol*. 1986;124:903-15.

Kharroubi I, Rasschaert J, Eizirik DL, Cnop M. Expression of adiponectin receptors in pancreatic beta cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;312:1118-22.

Khokhar KK, Sidhu S, Kaur G. Correlation between leptin level and hypertension in normal and obese pre- and postmenopausal women. *Eur J Endocrinol*. 2010;163:873-8.

Khoury MJ, Millikan R, Little J, Gwinn M. The emergence of epidemiology in the genomics age. *Int J Epidemiol*. 2004;33:936-944.

Kilkenny DM, Rocheleau JV. Fibroblast growth factor receptor-1 signaling in pancreatic islet beta-cells is modulated by the extracellular matrix. *Mol Endocrinol*. 2008;22:196-205.

Kilpeläinen TO, Lakka TA, Laaksonen DE, Laukkanen O, Lindström J, Eriksson JG, Valle TT, Hämäläinen H, Aunola S, Ilanne-Parikka P, Keinänen-Kiukaanniemi S, Tuomilehto J, Uusitupa M, Laakso M; Finnish Diabetes Prevention Study Group. Physical activity modifies the effect of SNPs in the SLC2A2 (GLUT2) and ABCG8 (SUR1) genes on the risk of developing type 2 diabetes. *Physiol Genomics*. 2007;31:264-72.

Kilpeläinen TO, Lakka TA, Laaksonen DE, Mager U, Salopuro T, Kubaszek A, Todorova B, Laukkanen O, Lindström J, Eriksson JG, Hämäläinen H, Aunola S, Ilanne-Parikka P, Keinänen-Kiukaanniemi S, Tuomilehto J, Laakso M, Uusitupa M; Finnish Diabetes Prevention Study Group. Interaction of single nucleotide polymorphisms in ADRB2, ADRB3, TNF, IL6, IGF1R, LIPC, LEPR, and GHRL with physical activity on the risk of type 2 diabetes mellitus and changes in characteristics of the metabolic syndrome: The Finnish Diabetes Prevention Study. *Metabolism*. 2008;57:428-36.

- Kim JT, Kim Y, Cho YM, Koo BK, Lee EK, Shin HD, Jang HC, Choi JW, Oh B, Park KS. Polymorphisms of ADIPOR1 and ADIPOR2 are associated with phenotypes of type 2 diabetes in Koreans. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2009;70:66-74.
- Kim MJ, Maachi M, Debard C, Loizon E, Clément K, Bruckert E, Hainque B, Capeau J, Vidal H, Bastard JP. Increased adiponectin receptor-1 expression in adipose tissue of impaired glucose-tolerant obese subjects during weight loss. *Eur J Endocrinol*. 2006;155:161-5.
- Kim MS, Yoon CY, Park KH, Shin CS, Park KS, Kim SY, Cho BY, Lee HK. Changes in ghrelin and ghrelin receptor expression according to feeding status. *Neuroreport*. 2003;14:1317-20.
- Kim MS, Pak YK, Jang PG, Namkoong C, Choi YS, Won JC, Kim KS, Kim SW, Kim HS, Park JY, Kim YB, Lee KU. Role of hypothalamic Foxo1 in the regulation of food intake and energy homeostasis. *Nat Neurosci*. 2006;9:901-906.
- Kim SM, Kim SH, Lee JR, Jee BC, Ku SY, Suh CS, Choi YM, Kim JG, Moon SY. Association of leptin receptor polymorphisms Lys109Arg and Gln223Arg with serum leptin profile and bone mineral density in Korean women. *Am J Obstet Gynecol*. 2008;198:421-8.
- Kim TS, Kim DJ, Lee H, Kim YK. Increased plasma brain-derived neurotrophic factor levels in chronic smokers following unaided smoking cessation. *Neurosci Lett*. 2007;423:53-7.
- Kishimoto Y, Tani M, Uto-Kondo H, Saita E, Iizuka M, Sone H, Yokota K, Kondo K. Effects of magnesium on postprandial serum lipid responses in healthy human subjects. *Br J Nutr*. 2010;103:469-72.
- Kissebah AH, Freedman DS, Peiris AN. Health risks of obesity. *Med Clin N America* 1989;73: 111-138.
- Kissebah AH, Krakower GR Regional adiposity and morbidity. *Physiol Rev*. 1994;74:761-811.
- Kissebah AH, Sonnenberg GE, Myklebust J, Goldstein M, Broman K, James RG, Marks JA, Krakower GR, Jacob HJ, Weber J, Martin L, Blangero J, Comuzzie AG. Quantitative trait loci on chromosomes 3 and 17 influence phenotypes of the metabolic syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97:14478-83.
- Kita A, Yamasaki H, Kuwahara H, Moriuchi A, Fukushima K, Kobayashi M, Fukushima T, Takahashi R, Abiru N, Uotani S, Kawasaki E, Eguchi K. Identification of the promoter region required for human adiponectin gene transcription: Association with CCAAT/enhancer binding protein-beta and tumor necrosis factor-alpha. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005;331:484-90.
- Kitamura T, Feng Y, Kitamura YI, Chua SC Jr, Xu AW, Barsh GS, Rossetti L, Accili D. Forkhead protein FoxO1 mediates Agrp-dependent effects of leptin on food intake. *Nat Med*. 2006;12:534-540.
- Klein BE, Klein R, Lee KE. Components of the metabolic syndrome and risk of cardiovascular disease and diabetes in Beaver Dam. *Diabetes Care*. 2002;25:1790-4.
- Klein LC, Corwin EJ, Ceballos RM. Leptin, hunger, and body weight: Influence of gender, tobacco smoking, and smoking abstinence. *Addict Behav*. 2004;29:921-7.
- Klesges RC, Meyers AW, Klesges LM, La Vasque ME. Smoking, body weight, and their effects on smoking behavior: a comprehensive review of the literature. *Psychol Bull*. 1989;106:204-30.
- Knoops KT, de Groot LC, Kromhout D, Perrin AE, Moreiras-Varela O, Menotti A, van Staveren WA. Mediterranean diet, lifestyle factors, and 10-year mortality in elderly European men and women: the HALE project. *JAMA*. 2004;292:1433-9.
- Knudson JD, Dincer UD, Zhang C, Swafford AN Jr, Koshida R, Picchi A, Focardi M, Dick GM, and Tune JD. Leptin receptors are expressed in coronary arteries, and hyperleptinemia causes significant coronary endothelial dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005;289:48-56.

Koh JM, Kim DJ, Hong JS, Park JY, Lee KU, Kim SY, Kim GS. Estrogen receptor alpha gene polymorphisms Pvu II and Xba I influence association between leptin receptor gene polymorphism (Gln223Arg) and bone mineral density in young men. *Eur J Endocrinol.* 2002;147:777-83.

Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature.* 1999;402:656-60.

Kokubo Y, Tomoike H, Tanaka C, Banno M, Okuda T, Inamoto N, Kamide K, Kawano Y, Miyata T. Association of sixty-one non-synonymous polymorphisms in forty-one hypertension candidate genes with blood pressure variation and hypertension. *Hypertens Res.* 2006;29:611-9.

Kola B, Farkas I, Christ-Crain M, Wittmann G, Lolli F, Amin F, Harvey-White J, Liposits Z, Kunos G, Grossman AB, Fekete C, Korbonits M. The orexigenic effect of ghrelin is mediated through central activation of the endogenous cannabinoid system. *PLoS ONE.* 2008;3: e1797.

Kooner JS, Chambers JC, Aguilar-Salinas CA, Hinds DA, Hyde CL, Warnes GR, Gómez Pérez FJ, Frazer KA, Elliott P, Scott J, Milos PM, Cox DR, Thompson JF. Genome-wide scan identifies variation in MLXIPL associated with plasma triglycerides. *Nat Genet.* 2008;40:149-51.

Korbonits M, Trainer PJ, Little JA, Edwards R, Kopelman PG, Besser GM, Svec F, Grossman AB. Leptin levels do not change acutely with food administration in normal or obese subjects, but are negatively correlated with pituitary-adrenal activity. *Clin Endocrinol (Oxf).* 199;46:751-757.

Kos K, Harte AL, da Silva NF, Tonchev A, Chaldakov G, James S, Snead DR, Hoggart B, O'Hare JP, McTernan PG, Kumar S. Adiponectin and resistin in human cerebrospinal fluid and expression of adiponectin receptors in the human hypothalamus. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:1129-36.

Koster A, Penninx B, Newman A, Visser M, van Gool C, Harris T, van Eijk J, Kempen G, Brach JS, Simonsick E, Houston D, Tykavsky F, Rubin S, Kritchevsky S. Lifestyle factors and incident mobility limitation in obese and non-obese older adults. *Obesity.* 2007;15:3122-32.

Koster JC, Permutt MA, Nichols CG. Diabetes and insulin secretion: the ATP-sensitive K⁺ channel (K ATP) connection. *Diabetes.* 2005;54:3065-72.

Koutsari C, Zagana A, Tzoras I, Sidossis LS, Matalas AL. Gender influence on plasma triacylglycerol response to meals with different monounsaturated and saturated fatty acid content. *Eur J Clin Nutr.* 2004;58:495-502.

Krabbe KS, Nielsen AR, Krogh-Madsen R, Plomgaard P, Rasmussen P, Erikstrup C, Fischer CP, Lindegaard B, Petersen AM, Taudorf S, Secher NH, Pilegaard H, Bruunsgaard H, Pedersen BK. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2007;50:431-8.

Kramer CK, von Mühlen D, Barrett-Connor E. Does leptin predict incident hypertension in older adults? *Clin Endocrinol.* 2010;73:201-5.

Kring SI, Holst C, Toubro S, Astrup A, Hansen T, Pedersen O, Sørensen TI. Common variants near MC4R in relation to body fat, body fat distribution, metabolic traits and energy expenditure. *nt J Obes (Lond).* 2010;34:182-9.

Krist-Etherton PM, for the Nutrition Committee. AHA Science Advisory. Monounsaturated fatty acids and risk of cardiovascular disease. *Circulation.* 1999;100:1253-8.

Krude H, Biebermann H, Luck W, Horn R, Brabant G, Gruters A. Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by POMC mutations in humans. *Nat Genet.* 1998;9:55-7.

Kubaszek A, Pihlajamäki J, Karhapää P, Vauhkonen I, Laakso M. The K121Q polymorphism of the PC-1 gene is associated with insulin resistance but not with dyslipidemia. *Diabetes Care.* 2003;26:464-7.

- Kubaszek A, Markkanen A, Eriksson JG, Forsen T, Osmond C, Barker DJ, Laakso M. The association of the K121Q polymorphism of the plasma cell glycoprotein-1 gene with type 2 diabetes and hypertension depends on size at birth. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:2044-7.
- Kubota N, Terauchi Y, Yamauchi T, Kubota T, Moroi M, Matsui J, Eto K, Yamashita T, Kamon J, Satoh H, Yano W, Froguel P, Nagai R, Kimura S, Kadowaki T, Noda T. Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neointimal formation. *J Biol Chem.* 2002;277:25863-6.
- Kubota N, Terauchi Y, Kubota T, Kumagai H, Itoh S, Satoh H, Yano W, Ogata H, Tokuyama K, Takamoto I, Mineyama T, Ishikawa M, Moroi M, Sugi K, Yamauchi T, Ueki K, Tobe K, Noda T, Nagai R, Kadowaki T. Pioglitazone ameliorates insulin resistance and diabetes by both adiponectin-dependent and -independent pathways. *J Biol Chem.* 2006;281:8748-55.
- Kubota N, Yano W, Kubota T, Yamauchi T, Itoh S, Kumagai H, Kozono H, Takamoto I, Okamoto S, Shiuchi T, Suzuki R, Satoh H, Tsuchida A, Moroi M, Sugi K, Noda T, Ebinuma H, Ueta Y, Kondo T, Araki E, Ezaki O, Nagai R, Tobe K, Terauchi Y, Ueki K, Minokoshi Y, Kadowaki T. Adiponectin stimulates AMP-activated protein kinase in the hypothalamus and increases food intake. *Cell Metab.* 2007;6:55-68.
- Kuczmarski RJ, Flegal KM, Campbell SM, Johnson CL. Increasing prevalence of overweight among US adults: the National Health and Nutrition Examination Surveys 1960 to 1991. *JAMA.* 1994;272:205-11.
- Kuczmarski RJ, Flegal KM. Criteria for definition of overweight in transition: background and recommendations for the United States. *Am J Clin Nutr.* 2000;72:1074-81.
- Kuk JL, Ross R. Influence of sex on total and regional fat loss in overweight and obese men and women. *Int J Obes.* 2009 ; 33:629-634
- Kunos G, Osei-Hyiaman D, Bátkai S, Sharkey KA, Makriyannis A. Should peripheral CB(1) cannabinoid receptors be selectively targeted for therapeutic gain?. *Trends Pharmacol Sci.* 2009;30:1-7.
- Kuo LE, Kitlinska JB, Tilan JU, Li L, Baker SB, Johnson MD, Lee EW, Burnett MS, Fricke ST, Kvetnansky R, Herzog H, Zukowska Z. Neuropeptide Y acts directly in the periphery on fat tissue and mediates stress-induced obesity and metabolic syndrome. *Nat Med.* 2007;13:803-11.
- Kyriakou T, Collins LJ, Spencer-Jones NJ, Malcolm C, Wang X, Snieder H, Swaminathan R, Burling KA, Hart DJ, Spector TD, O'Dell SD. Adiponectin gene ADIPOQ SNP associations with serum adiponectin in two female populations and effects of SNPs on promoter activity. *J Hum Genet.* 2008;53:718-27.
- Laaksonen MM, Mikkilä V, Räsänen L, Rontu R, Lehtimäki TJ, Viikari JS, Raitakari OT; Cardiovascular Risk in Young Finns Study Group. Genetic lactase non-persistence, consumption of milk products and intakes of milk nutrients in Finns from childhood to young adulthood. *Br J Nutr.* 2009;102:8-17.
- Labayen I, Rodríguez C, Martínez JA. Nutrición y Obesidad. En: Astiasarán I, Lasheras B, Ariño D, Martínez JA (eds). *Alimentos y nutrición en la práctica sanitaria.* Eurograf Navarra, S.L.: Pamplona, 2002;371-92.
- Lagaud GJ, Young A, Acena A, Morton MF, Barrett TD, Shankley NP. Obestatin reduces food intake and suppresses body weight gain in rodents. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;357:264-9.
- Lago F, Dieguez C, Gómez-Reino J, Gualillo O. The emerging role of adipokines as mediators of inflammation and immune responses. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2007;18:313-25.
- Lahoz C, Peña R, Mostaza JM. Lípidos, Dieta Mediterránea Y Enfermedad Coronaria. *Cardiovasc Risk Factors* 2000; 9:303-309.
- Lahoz C, Mostaza JM. La aterosclerosis como enfermedad sistémica. *Rev Esp Cardiol.* 2007;60:184-95.
- Landin K, Stigendal L, Eriksson E, Krotkiewski M, Risberg B, Tengborn L, Smith U. Abdominal obesity is associated with an impaired fibrinolytic activity and elevated plasminogen activator inhibitor-1. *Metabolism.* 1990;39:1044-8.

Lang UE, Sander T, Lohoff FW, Hellweg R, Bajbouj M, Winterer G, Gallinat J. Association of the met66 allele of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) with smoking. *Psychopharmacology (Berl)*. 2007;190:433-9.

Lango H; UK Type 2 Diabetes Genetics Consortium, Palmer CN, Morris AD, Zeggini E, Hattersley AT, McCarthy MI, Frayling TM, Weedon MN. Assessing the combined impact of 18 common genetic variants of modest effect sizes on type 2 diabetes risk. *Diabetes*. 2008;57:3129-35.

Lanktree MB, Anand SS, Yusuf S, Hegele RA; SHARE Investigators. Replication of genetic associations with plasma lipoprotein traits in a multiethnic sample. *J Lipid Res*. 2009;50:1487-96.

Lapointe A, Piché ME, Weisnagel SJ, Bergeron J, Lemieux S. Associations between circulating free fatty acids, visceral adipose tissue accumulation, and insulin sensitivity in postmenopausal women. *Metabolism*. 2009;58:180-5.

Lara-Castro C, Luo N, Wallace P, Klein RL, Garvey WT. Adiponectin multimeric complexes and the metabolic syndrome trait cluster. *Diabetes*. 2006;55:249-59.

Larsen LF, Jespersen J, Marckmann P. 1999 Are olive oil diets antithrombotic? Diets enriched with either olive, rapeseed or sunflower oil affect postprandial factor VII differently. *Am J Clin Nutr*. 1999;70:976-82.

Lau DCW, Dhillon B, Yan H, Szmítko PE, Verma S. Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005;288:2031-41.

Laugerette F, Passilly-Degrace P, Patris B, Niot I, Febbraio M, Montmayeur JP, Besnard P. CD36 involvement in orosensory detection of dietary lipids, spontaneous fat preference, and digestive secretions. *J Clin Invest*. 2005;115:3177-84.

Laughlin GA, Barrett-Connor E, May S. Sex-specific determinants of serum adiponectin in older adults: the role of endogenous sex hormones. *Int J Obes*. 2007;31:457-65.

Laumen H, Saningong AD, Heid IM, Hess J, Herder C, Clausnitzer M, Baumert J, Lamina C, Rathmann W, Sedlmeier EM, Klopp N, Thorand B, Wichmann HE, Illig T, Hauner H. Functional characterization of promoter variants of the adiponectin gene complemented by epidemiological data. *Diabetes*. 2009;58:984-91.

Lavebratt C, Alpman A, Persson B, Arner P, Hoffstedt J. Common neuropeptide Y2 receptor gene variant is protective against obesity among Swedish men. *Int J Obes (Lond)*. 2006;30:453-9

Lavi S, Prasad A, Yang EH, Mathew V, Simari RD, Rihal CS, Lerman LO, Lerman A. Smoking is associated with epicardial coronary endothelial dysfunction and elevated white blood cell count in patients with chest pain and early coronary artery disease. *Circulation*. 2007;115:2621-7.

Laviano A, Inui A, Marks DL, Meguid MM, Pichard C, Rossi Fanelli F, Seelaender M. Neural control of the anorexia-cachexia syndrome. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008;295:1000-8.

Lavoie F, Frisch F, Brassard P, Normand-Lauzière F, Cyr D, Gagnon R, Drouin R, Baillargeon JP, Carpentier AC. Relationship between total and high molecular weight adiponectin levels and plasma nonesterified fatty acid tolerance during enhanced intravascular triacylglycerol lipolysis in men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94:998-1004.

Lawrence T, Gilroy DW. Chronic inflammation: a failure of resolution?. *Int J Exp Pathol*. 2007;88:85-94.

Lazarevic G, Antic S, Cvetkovic T, Vlahovic P, Tasic I, Stefanovic V. A physical activity programme and its effects on insulin resistance and oxidative defense in obese male patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab*. 2006;32:583-90.

Le Roux CW, Batterham RL, Aylwin SJ, Patterson M, Borg CM, Wynne KJ, Kent A, Vincent RP, Gardiner J, Ghatei MA, Bloom SR. Attenuated peptide YY release in obese subjects is associated with reduced satiety. *Endocrinology*. 2006;147:3-8.

- Le Stunff C, Le Bihan C, Schork NJ, Bougnères P. A common promoter variant of the leptin gene is associated with changes in the relationship between serum leptin and fat mass in obese girls. *Diabetes*. 2000;49:2196-200.
- Lecompte S, Szabo de Edelenyi F, Goumidi L, Maiani G, Moschonis G, Widhalm K, Molnár D, Kafatos A, Spinneker A, Breidenassel C, Dallongeville J, Meirhaeghe A, Borel P. Polymorphisms in the CD36/FAT gene are associated with plasma vitamin E concentrations in humans. *Am J Clin Nutr*. 2011;93:644-51.
- Lee CR, North KE, Bray MS, Avery CL, Mosher MJ, Couper DJ, Coresh J, Folsom AR, Boerwinkle E, Heiss G, Zeldin DC. NOS3 polymorphisms, cigarette smoking, and cardiovascular disease risk: the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Pharmacogenet Genomics*. 2006;16:891-9.
- Lee GH, Proenca R, Montez JM, Carroll KM, Darvishzadeh JG, Lee JI, Friedman JM. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature*. 1996;379:632-5.
- Lee YY, Lee NS, Cho YM, Moon MK, Jung HS, Park YJ, Park HJ, Youn BS, Lee HK, Park KS, Shin HD. Genetic association study of adiponectin polymorphisms with risk of Type 2 diabetes mellitus in Korean population. *Diabet Med*. 2005;22:569-75.
- Legrý V, Cottel D, Ferrières J, Chinetti G, Deroide T, Staels B, Amouyel P, Meirhaeghe A. Association between liver X receptor alpha gene polymorphisms and risk of metabolic syndrome in French populations. *Int J Obes (Lond)*. 2008;32:421-8.
- Lehtimäki T, Hemminki J, Rontu R, Mikkilä V, Räsänen L, Laaksonen M, Hutri-Kähönen N, Kähönen M, Viikari J, Raitakari O. The effects of adult-type hypolactasia on body height growth and dietary calcium intake from childhood into young adulthood: a 21-year follow-up study--the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Pediatrics*. 2006;118:1553-9.
- Lehtimäki T, Hutri-Kähönen N, Kähönen M, Hemminki J, Mikkilä V, Laaksonen M, Räsänen L, Mononen N, Juonala M, Marniemi J, Viikari J, Raitakari O. Adult-type hypolactasia is not a predisposing factor for the early functional and structural changes of atherosclerosis: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Clin Sci (Lond)*. 2008;115:265-71.
- Lei SF, Liu MY, Chen XD, Deng FY, Lv JH, Jian WX, Xu H, Tan LJ, Yang YJ, Wang YB, Xiao SM, Sun X, Jiang C, Guo YF, Guo JJ, Li YN, Liu YJ, Deng HW. Relationship of total body fatness and five anthropometric indices in Chinese aged 20-40 years: different effects of age and gender. *Eur J Clin Nutr*. 2006;60:511-8.
- Leon AS, Rice T, Mandel S, Després JP, Bergeron J, Gagnon J, Rao DC, Skinner JS, Wilmore JH, Bouchard C. Blood lipid response to 20 weeks of supervised exercise in a large biracial population: the HERITAGE Family Study. *Metabolism*. 2000;49:513-520.
- Leon AS, Sanchez O. Meta-analysis of the effects of aerobic exercise training on blood lipids. *Circulation*. 2001;104:II-414-II-415.
- Leprêtre F, Vasseur F, Vaxillaire M, Scherer PE, Ali S, Linton K, Aitman T, Froguel P. A CD36 nonsense mutation associated with insulin resistance and familial type 2 diabetes. *Hum Mutat*. 2004;24:104(a).
- Leprêtre F, Linton KJ, Lacquemant C, Vatin V, Samson C, Dina C, Chikri M, Ali S, Scherer P, Séron K, Vasseur F, Aitman T, Froguel P. Genetic study of the CD36 gene in a French diabetic population. *Diabetes Metab*. 2004;30:459-63(b).
- Levin N, Bischoff ED, Daige CL, Thomas D, Vu CT, Heyman RA, Tangirala RK, Schulman IG. Macrophage liver X receptor is required for antiatherogenic activity of LXR agonists. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25:135-42.
- Levine JA, Eberhardt NL, Jensen MD. Role of nonexercise activity thermogenesis in resistance to fat gain in humans. *Science*. 1999;283:212-214.

Levinger I, Goodman C, Matthews V, Hare DL, Jerums G, Garnham A, Selig S. BDNF, metabolic risk factors, and resistance training in middle-aged individuals. *Med Sci Sports Exerc.* 2008;40:535-41.

Lewinsky RH, Jensen TG, Møller J, Stensballe A, Olsen J, Troelsen JT. T-13910 DNA variant associated with lactase persistence interacts with Oct-1 and stimulates lactase promoter activity in vitro. *Hum Mol Genet.* 2005;14:3945-53.

Lewis GF, Carpentier A, Adeli K, Giacca A. Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Endocr Rev.* 2002;23:201-29.

Ley SH, Harris SB, Connelly PW, Mamakeesick M, Gittelsohn J, Hegele RA, Retnakaran R, Zinman B, Hanley AJ. Adipokines and incident type 2 diabetes in an Aboriginal Canadian [corrected] population: the Sandy Lake Health and Diabetes Project. *Diabetes Care.* 2008;31:1410-5.

Leyva F, Anker SD, Egerer K, Stevenson JC, Kox WJ, Coats AJ. Hyperleptinaemia in chronic heart failure. Relationships with insulin. *Eur Heart J.* 1998;19:1547-51.

Li HY, Chiu YF, Hwu CM, Sheu WH, Hung YJ, Fujimoto W, Quertermous T, Curb JD, Tai TY, Chuang LM. The negative correlation between plasma adiponectin and blood pressure depends on obesity: a family-based association study in SAPHIRE. *Am J Hypertens.* 2008;21:471-6.

Li S, Shin JJ, Ding EL, van Dam RM. Adiponectin levels and risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *JAMA.* 2009;302:179-88.

Li S, Zhao JH, Luan J, Luben RN, Rodwell SA, Khaw KT, Ong KK, Wareham NJ, Loos RJ. Cumulative effects and predictive value of common obesity-susceptibility variants identified by genome-wide association studies. *Am J Clin Nutr.* 2010;91:184-90.

Li WD, Reed DR, Lee JH, Xu W, Kilker RL, Sodam BR, Price RA. Sequence variants in the 5' flanking region of the leptin gene are associated with obesity in women. *Ann Hum Genet.* 1999;63:227-34.

Little RA, Goldfine ID, Rosen MS, Taplitz RA, Williams JA. Cholecystokinin bioactivity in human plasma. Molecular forms, responses to feeding, and relationship to gallbladder contraction. *J Clin Invest.* 1985; 75:1144-1152.

Lieb W, Sullivan LM, Harris TB, Roubenoff R, Benjamin EJ, Levy D, Fox CS, Wang TJ, Wilson PW, Kannel WB, Vasan RS. Plasma leptin levels and incidence of heart failure, cardiovascular disease, and total mortality in elderly individuals. *Diabetes Care.* 2009;32:612-6.

Lihn AS, Pedersen SB, Richelsen B. Adiponectin: action, regulation and association to insulin sensitivity. *Obes Rev.* 2005;6:13-21.

Lin HC, Zhao XT, Wang L, Wong H. Fat-induced ileal brake in the dog depends on peptide YY. *Gastroenterology.* 1996;110:1491-5.

Lindgarde F, Soderberg S, Olsson T, Ercilla MB, Correa LR, Ahren B. Overweight is associated with lower serum leptin in Peruvian Indian than in Caucasian women: a dissociation contributing to low blood pressure?. *Metabolism.* 2001;50:325-9.

Lindsay RS, Funahashi T, Krakoff J, Matsuzawa Y, Tanaka S, Kobes S, Bennett PH, Tataranni PA, Knowler WC, Hanson RL. Genome-wide linkage analysis of serum adiponectin in the Pima Indian population. *Diabetes.* 2003;52:2419-25.

Liu G, Zhu H, Lagou V, Gutin B, Barbeau P, Treiber FA, Dong Y, Snieder H. Common variants near melanocortin 4 receptor are associated with general and visceral adiposity in European- and African-American youth. *J Pediatr.* 2010;156:598-605.

Liu KH, Chan YL, Chan JC, Chan WB. Association of carotid intima-media thickness with mesenteric, preperitoneal and subcutaneous fat thickness. *Atherosclerosis*. 2005;179:299-304.

Llisterri JL, Rodríguez G, Alonso FJ, Lou S, División JA, Santos JA, Raber A, Castellar R, Ruilope LM, Banegas JR. Control de la presión arterial en la población hipertensa española atendida en atención primaria. Estudio PRESCAP 2002. *Med Clin (Barc)*. 2004;122:165-71.

Lobstein T, Baur L, Uauy R; IASO International Obesity Task Force. Obesity in children and young people: a crisis in public health. *Obes Rev*. 2004;5:4-104.

Lohman TG. Skinfolts and body density and their relation to body fitness: a review. *Hum Biol* 1981;53:181-225.

Loktionov A. Common gene polymorphisms and nutrition: emerging links with pathogenesis of multifactorial chronic disease. *J Nutr Biochem*. 2003;14:426-51.

Londos C, Brasaemle DL, Schultz CJ, Adler-Wailes DC, Levin DM, Kimmel AR, Rondinone CM. On the control of lipolysis in adipocytes. *Ann N Y Acad Sci*. 1999;18:155-168.

Loos RJ, Bouchard C. Obesity - is it a genetic disorder?. *J Intern Med*. 2003;254:401-25.

Loos RJ, Ruchat S, Rankinen T, Tremblay A, Pérusse L, Bouchard C. Adiponectin and adiponectin receptor gene variants in relation to resting metabolic rate, respiratory quotient, and adiposity-related phenotypes in the Quebec Family Study. *Am J Clin Nutr*. 2007;85:26-34.

Loos RJ, Lindgren CM, Li S, Wheeler E, Zhao JH, Prokopenko I, Inouye M, Freathy RM, Attwood AP, Beckmann JS, Berndt SI; Prostate, Lung, Colorectal, and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial, Jacobs KB, Chanock SJ, Hayes RB, Bergmann S, Bennett AJ, Bingham SA, Bochud M, Brown M, Cauchi S, Connell JM, Cooper C, Smith GD, Day I, Dina C, De S, Dermitzakis ET, Doney AS, Elliott KS, Elliott P, Evans DM, Sadaf Farooqi I, Froguel P, Ghorji J, Groves CJ, Gwilliam R, Hadley D, Hall AS, Hattersley AT, Hebebrand J, Heid IM; KORA, Lamina C, Gieger C, Illig T, Meitinger T, Wichmann HE, Herrera B, Hinney A, Hunt SE, Jarvelin MR, Johnson T, Jolley JD, Karpe F, Keniry A, Khaw KT, Luben RN, Mangino M, Marchini J, McArdle WL, McGinnis R, Meyre D, Munroe PB, Morris AD, Ness AR, Neville MJ, Nica AC, Ong KK, O'Rahilly S, Owen KR, Palmer CN, Papadakis K, Potter S, Pouta A, Qi L; Nurses' Health Study, Randall JC, Rayner NW, Ring SM, Sandhu MS, Scherag A, Sims MA, Song K, Soranzo N, Speliotes EK; Diabetes Genetics Initiative, Syddall HE, Teichmann SA, Timpone NJ, Tobias JH, Uda M; SardiNIA Study, Vogel CI, Wallace C, Waterworth DM, Weedon MN; Wellcome Trust Case Control Consortium, Willer CJ; FUSION, Wraight, Yuan X, Zeggini E, Hirschhorn JN, Strachan DP, Ouwehand WH, Caulfield MJ, Samani NJ, Frayling TM, Vollenweider P, Waeber G, Mooser V, Deloukas P, McCarthy MI, Wareham NJ, Barroso I, Jacobs KB, Chanock SJ, Hayes RB, Lamina C, Gieger C, Illig T, Meitinger T, Wichmann HE, Kraft P, Hankinson SE, Hunter DJ, Hu FB, Lyon HN, Voight BF, Ridderstrale M, Groop L, Scheet P, Sanna S, Abecasis GR, Albai G, Nagaraja R, Schlessinger D, Jackson AU, Tuomilehto J, Collins FS, Boehnke M, Mohlke KL. Common variants near MC4R are associated with fat mass, weight and risk of obesity. *Nat Genet*. 2008;40:768-75.

Lopes HF, Martin KL, Nashar K, Morrow JD, Goodfriend TL, Egan BM. DASH diet lowers blood pressure and lipid-induced oxidative stress in obesity. *Hypertension*. 2003;41:422-30.

López-Bermejo A, Botas-Cervero P, Ortega-Delgado F, Delgado E, García-Gil MM, Funahashi T, Ricart W, Fernández-Real JM. Association of ADIPOR2 with liver function tests in type 2 diabetic subjects. *Obesity*. 2008;16:2308-13.

Lopez S, Bermudez B, Pacheco YM, Villar J, Abia R, Muriana FJ. Distinctive postprandial modulation of beta cell function and insulin sensitivity by dietary fats: monounsaturated compared with saturated fatty acids. *Am J Clin Nutr*. 2008;88:638-44.

López Suárez A, Elvira González J, Beltrán Robles M, Alwakil M, Saucedo JM, Bascuñana Quirell A, Barón Ramos MA, Fernández Palacín F. Prevalence of obesity, diabetes, hypertension, hypercholesterolemia and metabolic syndrome in over 50-year-olds in San lúcar de Barrameda, Spain. *Rev Esp Cardiol*. 2008;61:1150-8.

López-Alarcón MG, Rodríguez-Cruz M. Epidemiología y genética del sobrepeso y la obesidad. Perspectiva de México en el contexto mundial. *Bol Med Hosp Infant Méx* 2008;65:421-430.

López-Fontana CM, Martínez-González MA, Martínez JA. Obesidad, metabolismo energético y medida de la actividad física. *Rev Esp Obes*. 2003;1:29-36.

López-Miranda J, Pérez-Jiménez F, Ros E, De Caterina R, Badimón L, Covas MI, Escrich E, Ordovás JM, Soriguer F, Abiá R, de la Lastra CA, Battino M, Corella D, Chamorro-Quirós J, Delgado-Lista J, Giugliano D, Esposito K, Estruch R, Fernandez-Real JM, Gaforio JJ, La Vecchia C, Lairon D, López-Segura F, Mata P, Menéndez JA, Muriana FJ, Osada J, Panagiotakos DB, Paniagua JA, Pérez-Martínez P, Perona J, Peinado MA, Pineda-Priego M, Poulsen HE, Quiles JL, Ramírez-Tortosa MC, Ruano J, Serra-Majem L, Solá R, Solanas M, Solfrizzi V, de la Torre-Fornell R, Trichopoulou A, Uceda M, Villalba-Montoro JM, Villar-Ortiz JR, Visioli F, Yiannakouris N. Olive oil and health: summary of the II international conference on olive oil and health consensus report, Jaén and Córdoba (Spain) 2008. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2010;20:284-94.

Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, Lechler RI. Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature*. 1998;394:897-901.

Lorenz DN, Goldman SA. Vagal mediation of the cholecystokinin satiety effect in rats. *Physiol Behav*. 1982;29:599-604.

Love-Gregory L, Sherva R, Sun L, Wasson J, Schappe T, Doria A, Rao DC, Hunt SC, Klein S, Neuman RJ, Permutt MA, Abumrad NA. Variants in the CD36 gene associate with the metabolic syndrome and high-density lipoprotein cholesterol. *Hum Mol Genet*. 2008;17:1695-704.

Love-Gregory L, Sherva R, Schappe T, Qi JS, McCrea J, Klein S, Connelly MA, Abumrad NA. Common CD36 SNPs reduce protein expression and may contribute to a protective atherogenic profile. *Hum Mol Genet*. 2011;20:193-201.

Lovejoy JC, Smith SR, Rood JC. Comparison of regional fat distribution and health risk factors in middle-aged white and African American women: the Healthy Transitions Study. *Obes Res*. 2001;9:10-6.

Lowell BB, Bachman ES. Beta-Adrenergic receptors, diet-induced thermogenesis, and obesity. *J Biol Chem* 2003;278: 29385-8.

Luengo-Fernández E, Ordoñez-Rubio B, Bergua-Martínez C. Obesidad, dislipemia y síndrome metabólico. *Rev Esp Cardiol* 2005;5:21-29.

Lund EG, Menke JG, Sparrow CP. Liver X receptor agonists as potential therapeutic agents for dyslipidemia and atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:1169-77.

Lundgren CH, Brown SL, Nordt TK, Sobel BE, Fujii S. Elaboration of type-1 plasminogen activator inhibitor from adipocytes. A potential pathogenetic link between obesity and cardiovascular disease. *Circulation*. 1996;93:106-10.

Lyon HN, Florez JC, Bersaglieri T, Saxena R, Winckler W, Almgren P, Lindblad U, Tuomi T, Gaudet D, Zhu X, Cooper R, Ardlie KG, Daly MJ, Altshuler D, Groop L, Hirschhorn JN. Common variants in the ENPP1 gene are not reproducibly associated with diabetes or obesity. *Diabetes*. 2006;55:3180-4.

Ma D, Feitosa MF, Wilk JB, Laramie JM, Yu K, Leiendecker-Foster C, Myers RH, Province MA, Borecki IB. Leptin is associated with blood pressure and hypertension in women from the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. *Hypertension*. 2009;53:473-9.

Ma L, Tataranni PA, Hanson RL, Infante AM, Kobes S, Bogardus C, Baier LJ. Variations in peptide YY and Y2 receptor genes are associated with severe obesity in Pima Indian men. *Diabetes*. 2005;54:1598-602.

Ma L, Robinson LN, Towle HC. ChREBP**Mlx* is the principal mediator of glucose-induced gene expression in the liver. *J Biol Chem*. 2006;281:28721-30.

- Ma L, Yang J, Runesha HB, Tanaka T, Ferrucci L, Bandinelli S, Da Y. Genome-wide association analysis of total cholesterol and high-density lipoprotein cholesterol levels using the Framingham heart study data. *BMC Med Genet.* 2010;11:55.
- Ma X, Bacci S, Mlynarski W, Gottardo L, Soccio T, Menzaghi C, Iori E, Lager RA, Shroff AR, Gervino EV, Nesto RW, Johnstone MT, Abumrad NA, Avogaro A, Trischitta V, Doria A. A common haplotype at the CD36 locus is associated with high free fatty acid levels and increased cardiovascular risk in Caucasians. *Hum Mol Genet.* 2004;13:2197-205.
- Macho T, Martí A, Martínez JA. Estudios genéticos de la obesidad en humanos. *Med Clin (Barc).* 2000;115:103-9.
- Macho-Azcárate T, Calabuig J, Martí A, Martínez JA. A maximal effort trial in obese women carrying the b2-adrenoceptor Gln27Glu polymorphism. *J Physiol Biochem.* 2002;58:103-8.
- Macintyre S, Maciver S, Sooman A. Area, class and health: should we be focusing on places or people? *J Social Policy.* 1993;22:213-34.
- Mackenbach JP. The Mediterranean diet story illustrates that “why” questions are as important as “how” questions in disease explanation. *J Clin Epidemiol.* 2007;60:105-9.
- Mackevics V, Heid IM, Wagner SA, Cip P, Doppelmayr H, Lejnieks A, Gohlke H, Ladurner G, Illig T, Iglseider B, Kronenberg F, Paulweber B. The adiponectin gene is associated with adiponectin levels but not with characteristics of the insulin resistance syndrome in healthy Caucasians. *Eur J Hum Genet.* 2006;14:349-56.
- Madden J, Carrero JJ, Brunner A, Dastur N, Shearman CP, Calder PC, Grimble RF. Polymorphisms in the CD36 gene modulate the ability of fish oil supplements to lower fasting plasma triacyl glycerol and raise HDL cholesterol concentrations in healthy middle-aged men. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2008;78:327-35.
- Maddux BA, Goldfine ID. Membrane glycoprotein PC-1 inhibition of insulin receptor function occurs via direct interaction with the receptor alpha-subunit. *Diabetes.* 2000;49:13-9.
- Maddux BA, See W, Lawrence JC Jr, Goldfine AL, Goldfine ID, Evans JL. Protection against oxidative stress-induced insulin resistance in rat L6 muscle cells by micromolar concentrations of alpha-lipoic acid. *Diabetes.* 2001;50:404-10.
- Maechler P, Jornot L, Wollheim CB. Hydrogen peroxide alters mitochondrial activation and insulin secretion in pancreatic beta cells. *J Biol Chem.* 1999;274:27905-13.
- Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (adipose most abundant gene transcript1). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1996 ;221:286-9.
- Maeda N, Takahashi M, Funahashi T, Kihara S, Nishizawa H, Kishida K, Nagaretani H, Matsuda M, Komuro R, Ouchi N, Kuriyama H, Hotta K, Nakamura T, Shimomura I, Matsuzawa Y. PPARgamma ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein. *Diabetes.* 2001;50:2094-9.
- Maes HH, Neale MC, Eaves LJ. Genetic and environmental factors in relative body weight and human adiposity. *Behav Genet.* 1997;27:325-51.
- Maffei M, Halaas J, Ravussin E, Pratley RE, Lee GH, Zhang Y, Fei H, Kim S, Lallone R, Ranganathan S, Kern PA, Friedman JM. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat Med.* 1995;1:1155-61.
- Mager U, Degenhardt T, Pulkkinen L, Kolehmainen M, Tolppanen AM, Lindstrom J, Eriksson JG, Carlberg C, Tuomilehto J, Uusitupa M. Variations in the ghrelin receptor gene associate with obesity and glucose metabolism in individuals with impaired glucose tolerance. *PLoS ONE.* 2008;3:2941.
- Maggio CA, Pi-Sunyer FX. Obesity and type 2 diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2003;32:805-22.

Malik S, Wong ND, Franklin SS, Kamath TV, L'Italien GJ, Pio JR, Williams GR. Impact of the metabolic syndrome on mortality from coronary heart disease, cardiovascular disease, and all causes in United States adults. *Circulation*. 2004;110:1245-50.

Malik VS, Hu FB. Popular weight-loss diets: from evidence to practice. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2007;4:34-41.

Mallamaci F, Zoccali C, Cuzzola F, Tripepi G, Cutrupi S, Parlongo S, Tanaka S, Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Adiponectin in essential hypertension. *J Nephrol*. 2002;15:507-11.

Mammès O, Betoulle D, Aubert R, Giraud V, Tuzet S, Petiet A, Colas-Linhart N, Fumeron F. Novel polymorphisms in the 5' region of the LEP gene: association with leptin levels and response to low-calorie diet in human obesity. *Diabetes*. 1998;47:487-9.

Mammès O, Aubert R, Betoulle D, Péan F, Herbeth B, Visvikis S, Siest G, Fumeron F. LEPR gene polymorphisms: associations with overweight, fat mass and response to diet in women. *Eur J Clin Invest*. 2001;31:398-404.

Mammès O, Betoulle D, Aubert R, Herbeth B, Siest G, Fumeron F. Association of the G-2548A polymorphism in the 5' region of the LEP gene with overweight. *Ann Hum Genet*. 2000;64:391-4.

Mancini M, Stamler J. Diet for preventing cardiovascular diseases: light from Ancel Keys, distinguished centenarian scientist. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2004;14:52-7.

Manson JE, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, Rosner B, Monson RR, Speizer FE, Hennekens CH. A prospective study of obesity and risk of coronary heart disease in women. *N Engl J Med*. 1990;322:882-9.

Mantzoros CS, Williams CJ, Manson JE, Meigs JB, Hu FB. Adherence to the Mediterranean dietary pattern is positively associated with plasma adiponectin concentrations in diabetic women. *Am J Clin Nutr*. 2006;84:328-35.

Mao X, Kikani CK, Riojas RA, Langlais P, Wang L, Ramos FJ, Fang Q, Christ-Roberts CY, Hong JY, Kim RY, Liu F, Dong LQ. APPL1 binds to adiponectin receptors and mediates adiponectin signalling and function. *Nat Cell Biol*. 2006;8:516-23.

Marcus MA, Murphy L, Pi-Sunyer FX, Albu JB. Insulin sensitivity and serum triglyceride level in obese white and black women: relationship to visceral and truncal subcutaneous fat. *Metabolism*. 1999;48:194-9.

Margetic S, Gazzola C, Pegg GG, Hill RA. Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002;26:1407-33.

Marinangeli CP, Jones PJ. Plant sterols, marine-derived omega-3 fatty acids and other functional ingredients: a new frontier for treating hyperlipidemia. *Nutr Metab (Lond)*. 2010;7:76.

Marín-Guerrero AC, Gutierrez-Fisac JL, Guallar-Castillón P, Banegas JR, Regidor E, Rodríguez-Artalejo F. Prevalencia de obesidad en inmigrantes en madrid. *Med Clin (barc)*. 2010;134:483-5.

Mark AL, Correia ML, Rahmouni K, Haynes WG. Selective leptin resistance: a new concept in leptin physiology with cardiovascular implications. *J Hypertens*. 2002; 20:1245-50.

Marks DL, Ling N, Cone RD. Role of the central melanocortin system in cachexia. *Cancer Res*. 2001;61:1432-8.

Marmot M. Social determinants of health: from observation to policy. *Med J Aust*. 2000;172:379-82.

Marques-Vidal P, Bochud M, Paccaud F, Mooser V, Waeber G, Vollenweider P. Distribution of plasma levels of adiponectin and leptin in an adult Caucasian population. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2010;72:38-46.

Márquez-Sandoval F, Bulló M, Vizmanos B, Casas-Agustench P, Salas-Salvadó J. Un patrón de alimentación saludable: la dieta mediterránea tradicional. *Antropo*. 2008;16:11-22.

- Martell Claros N, Aranda Lara P, Luque Otero M. Repercusiones orgánicas de la hipertensión arterial: Vasos, Cerebro, Corazón y Riñón. *Hipertensión*. 2007;24:239-46.
- Marti A, De Miguel C, Jebb SA, Lafontan M, Laville M, Palou A, Remesar X, Trayhurn P, Martinez JA. Methodological approaches to assess body-weight regulation and aetiology of obesity. *Proc Nutr Soc*. 2000;59:405-11.
- Marti A, Moreno-Aliaga MJ, Hebebrand J, Martínez JA. Genes, lifestyles and obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004;28:29-36.
- Martí A, Ochoa MC, Moreno-Aliaga MJ, Martínez JA. Aspectos genéticos de la obesidad infantil. Hormona y factores de crecimiento. 2003;6:10-26.
- Martí A, Moreno-Aliaga MJ, Ochoa MC, Marrades P, Santos JL, Martínez JA. Genética de la obesidad en humanos: rumbos de investigación. *Rev Esp Obes*. 2004;2:351-362.
- Martínez-González MA, Sa´nchez-Villegas A. The emerging role of Mediterranean diets in cardiovascular epidemiology: monounsaturated fats, olive oil, red wine or the whole pattern? *Eur J Epidemiol*. 2004;19:9-13.
- Martín AR, Nieto JM, Ruiz JP, Jiménez LE. Overweight and obesity: the role of education, employment and income in Spanish adults. *Appetite*. 2008;51:266-72.
- Martin GR, Loredo JC, Sun G. Lack of association of ghrelin precursor gene variants and percentage body fat or serum lipid profiles. *Obesity (Silver Spring)*. 2008;16:908-12.
- Martin LJ, Cole SA, Hixson JE, Mahaney MC, Czerwinski SA, Almasy L, Blangero J, Comuzzie AG. Genotype by smoking interaction for leptin levels in the San Antonio Family Heart Study. *Genet Epidemiol*. 2002;22:105-15.
- Martin LJ, Kissebah AH, Sonnenberg GE, Blangero J, Comuzzie AG. Genotype-by-smoking interaction for leptin levels in the Metabolic Risk Complications of Obesity Genes project. *Int J Obes*. 2003;27:334-40.
- Martínez JA, Frühbeck G. Regulation of energy balance and adiposity: a model with new approaches. *J Physiol Biochem*. 1996;52:255-8.
- Martínez JA, Moreno B, Martínez-González MA. Prevalence of obesity in Spain. *Obes Rev*. 2004;5:171-2.
- Martínez Olmos MA, Bellido Guerrero D, Blay Cortes V. Métodos de valoración de la distribución de la grasa corporal en el paciente obeso. *Rev Esp Obes*. 2004;2:42-9.
- Martínez, JA. Body weight regulation: causes of obesity. *Proc Nutr Soc*. 2000;59:337-45.
- Martínez-González MA, Martínez JA, Hu FB, Gibney MJ, Kearney J. Physical inactivity, sedentary lifestyle and obesity in the European Union. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1999;23:1192-201.
- Martínez-González MA, Varo JJ, Santos JL, De Irala J, Gibney M, Kearney J, Martínez JA. Prevalence of physical activity during leisure time in the European Union. *Med Sci Sports Exerc*. 2001;33:1142-6.
- Martínez-González MA, Fernández-Jarne E, Serrano-Martínez M, Wright M, Gomez-Gracia E. Development of a short dietary intake questionnaire for the quantitative estimation of adherence to a cardioprotective Mediterranean diet. *Eur J Clin Nutr*. 2004;58:1550-2.
- Martin-Moreno JM, Boyle P, Gorgojo L, Maisonneuve P, Fernandez-Rodriguez JC, Salvini S, Willett WC. Development and validation of a food frequency questionnaire in Spain. *Int J Epidemiol*. 1993;22:512-9.
- Martorell R, Khan LK, Hughes ML, Grummer-Strawn LM. Obesity in women from developing countries. *Eur J Clin Nutr*. 2000;54:247-52.

Marzullo P, Verti B, Savia G, Walker GE, Guzzaloni G, Tagliaferri M, Di Blasio A, Liuzzi A. The relationship between active ghrelin levels and human obesity involves alterations in resting energy expenditure. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:936-9.

Masuo K, Mikami H, Itoh M, Ogihara T, Tuck ML. Sympathetic activity and body mass index contribute to blood pressure levels. *Hypertens Res.* 2000;23:303-10.

Masuo K, Straznicki NE, Lambert GW, Katsuya T, Sugimoto K, Rakugi H, Socratous F, Hastings J, Lambert EA, Ogihara T, Esler MD. Leptin-receptor polymorphisms relate to obesity through blunted leptin-mediated sympathetic nerve activation in a Caucasian male population. *Hypertens Res.* 2008;31:1093-100.

Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N, Hosoda K, Matsumoto T, Mise H, Nishimura H, Yoshimasa Y, Tanaka I, Mori T, Nakao K. Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. *Nat Med.* 1997;3:1029-33.

Mata P, De Oya M, Pérez-Jiménez F, Ros E. Dieta y enfermedades cardiovasculares. Recomendaciones de la Sociedad Española de Arteriosclerosis. *Clin Invest Arterioscler.* 1994;6:43-61.

Matsubara M, Maruoka S, Katayose S. Inverse relationship between plasma adiponectin and leptin concentrations in normal-weight and obese women. *Eur J Endocrinol.* 2002;147:173-80.

Matsuda Y, Tanioka T, Yoshioka T, Nagano T, Hiroi T, Yoshikawa K, Okabe K, Nagamine I, Takasaka Y. Gender differences in association of plasma adiponectin with obesity reflect resultant insulin resistance in non-diabetic Japanese patients with schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2005;59:266-73.

Matsuoka N, Ogawa Y, Hosoda K, Matsuda J, Masuzaki H, Miyawaki T, Azuma N, Natsui K, Nishimura H, Yoshimasa Y, Nishi S, Thompson DB, Nakao K. Human leptin receptor gene in obese Japanese subjects: evidence against either obesity-causing mutations or association of sequence variants with obesity. *Diabetologia.* 1997;40:1204-10.

Matsuzaki H, Daitoku H, Hatta M, Tanaka K, Fukamizu A. Insulin-induced phosphorylation of FKHR (Foxo1) targets to proteasomal degradation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003;100:11285-90.

Matsuzawa Y, Funahashi T, Kihara S, Shimomura I. Adiponectin and metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:29-33.

Matsuzawa Y. The metabolic syndrome and adipocytokines. *FEBS Lett.* 2006;580:2917-21.

Mattevi VS, Zembruski VM, Hutz MH. Association analysis of genes involved in the leptin-signaling pathway with obesity in Brazil. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2002;26:1179-85.

Mayer O Jr, Filipovský J, Galovcová M, Bruthans J, Hrbková J, Vrzalová J, Cífková R, Simon J. An inverse association between serum leptin concentration and reported alcohol intake in patients with manifest vascular disease. *Eur J Clin Nutr.* 2010;64:1350-7.

McAteer JB, Prudente S, Bacci S, Lyon HN, Hirschhorn JN, Trischitta V, Florez JC; ENPP1 Consortium. The ENPP1 K121Q polymorphism is associated with type 2 diabetes in European populations: evidence from an updated meta-analysis in 42,042 subjects. *Diabetes.* 2008;57:1125-30.

McCrimmon RJ, Shaw M, Fan X, Cheng H, Ding Y, Vella MC, Zhou L, McNay EC, Sherwin RS. Key role for AMP-activated protein kinase in the ventromedial hypothalamus in regulating counterregulatory hormone responses to acute hypoglycemia. *Diabetes.* 2008;57:444-50.

McKeown NM, Meigs JB, Liu S, Saltzman E, Wilson PW, Jacques PF. Carbohydrate nutrition, insulin resistance, and the prevalence of the metabolic syndrome in the Framingham Offspring Cohort. *Diabetes Care.* 2004;27:538-46.

- McKeown NM, Meigs JB, Liu S, Wilson PW, Jacques PF. Whole-grain intake is favorably associated with metabolic risk factors for type 2 diabetes and cardiovascular disease in the Framingham Offspring Study. *Am J Clin Nutr.* 2002;76:390-8.
- McManus K, Antinoro L, Sacks F. A randomized controlled trial of a moderate-fat, low-energy diet compared with a low fat, low energy diet for weight loss in overweight adults. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2001;25:1503-11.
- Medrano MJ, Pastor-Barriuso R, Boix R, Del Barrio JL, Damián J, Álvarez R, Marín A. Riesgo coronario atribuible a los factores de riesgo cardiovascular en la población española. *Rev Esp Cardiol.* 2007;60:1250-6.
- Meisinger C, Doring A, Thorand B, Heier M, Lowel H. Body fat, distribution and risk of type 2 diabetes in the general population: are there differences between men and women? The MONICA/KORA Augsburg cohort study. *Am J Clin Nutr.* 2006;84:483-489.
- Melistas L, Mantzoros CS, Kontogianni M, Antonopoulou S, Orдовas JM, Yiannakouris N. Association of the +45T>G and +276G>T polymorphisms in the adiponectin gene with insulin resistance in nondiabetic Greek women. *Eur J Endocrinol.* 2009;161:845-52.
- Mendez MA, Popkin BM, Jakszyn P, Berenguer A, Tormo MJ, Sánchez MJ, Quirós JR, Pera G, Navarro C, Martínez C, Larrañaga N, Dorronsoro M, Chirilaque MD, Barricarte A, Ardanaz E, Amiano P, Agudo A, González CA. Adherence to a Mediterranean diet is associated with reduced 3 year incidence of obesity. *J Nutr.* 2006;136:2934-8.
- Mendieta-Zeron, H., Lopez, M., Dieguez, C. Regulacion hipotalámica de la ingesta por nutrientes y estado metabólico. *Rev Esp Obes.* 2007;5:351-362.
- Mensink RP, Zock PL, Kester AD, Katan MB. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. *Am J Clin Nutr.* 2003;77:1146-55.
- Menzaghi C, Ercolino T, Di Paola R, Berg AH, Warram JH, Scherer PE, Trischitta V, Doria A. A haplotype at the adiponectin locus is associated with obesity and other features of the insulin resistance syndrome. *Diabetes.* 2002;51:2306-12.
- Menzaghi C, Ercolino T, Salvemini L, Coco A, Kim SH, Fini G, Doria A, Trischitta V. Multigenic control of serum adiponectin levels: evidence for a role of the APM1 gene and a locus on 14q13. *Physiol Genomics.* 2004;19:170-4.
- Menzaghi C, Trischitta V, Doria A. Genetic influences of adiponectin on insulin resistance, type 2 diabetes, and cardiovascular disease. *Diabetes.* 2007;56:1198-209.
- Mergen H, Karaaslan C, Mergen M, Deniz Ozsoy E, Ozata M. LEPR, ADBR3, IRS-1 and 5-HTT genes polymorphisms do not associate with obesity. *Endocr J.* 2007;54:89-94.
- Metlakunta AS, Sahu M, Sahu A. Hypothalamic phosphatidylinositol 3-kinase pathway of leptin signaling is impaired during the development of diet-induced obesity in FVB/N mice. *Endocrinology.* 2008;149:1121-8.
- Metropolitan Life Insurance Company. 1983 Metropolitan height and weight tables. *Stat Bull Metrop Insur Co* 1983;64:2.
- Meyre D, Bouatia-Naji N, Tounian A, Samson C, Lecoœur C, Vatin V, Ghossaini M, Wachter C, Hercberg S, Charpentier G, Patsch W, Pattou F, Charles MA, Tounian P, Clément K, Jouret B, Weill J, Maddux BA, Goldfine ID, Walley A, Boutin P, Dina C, Froguel P. Variants of ENPP1 are associated with childhood and adult obesity and increase the risk of glucose intolerance and type 2 diabetes. *Nat Genet.* 2005;37:863-7.

Meyre D, Bouatia-Naji N, Vatin V, Veslot J, Samson C, Tichet J, Marre M, Balkau B, Froguel P. ENPP1 K121Q polymorphism and obesity, hyperglycaemia and type 2 diabetes in the prospective DESIR Study. *Diabetologia*. 2007;50:2090-6.

Michalsen A, Lehmann N, Pithan C, Knoblauch NT, Moebus S, Kannenberg F, Binder L, Budde T, Dobos GJ. Mediterranean diet has no effect on markers of inflammation and metabolic risk factors in patients with coronary artery disease. *Eur J Clin Nutr*. 2006;60:478-85.

Milan G, Granzotto M, Scarda A, Calcagno A, Pagano C, Federspil G, Vettor R. Resistin and adiponectin expression in visceral fat of obese rats: effect of weight loss. *Obes Res*. 2002;10:1095-103.

Milewicz A, Jedrzejuk D, Dunajska K, Lwow F. Waist circumference and serum adiponectin levels in obese and non-obese postmenopausal women. *Maturitas*. 2010;65:272-5.

Miller KK, Biller BM, Lipman JG, Bradwin G, Rifai N, Klibanski A. Truncal adiposity, relative growth hormone deficiency, and cardiovascular risk. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90:768-74.

Miner JL. The adipocyte as an endocrine cell. *J Anim Sci*. 2004; 82:935-941.

Ministerio de Sanidad y Consumo. Encuesta Nacional de Salud de España 2006. Disponible en <http://www.msc.es/esdaEstudios/estadisticas/encuestaNacional/encuesta2006.htm>

Minokoshi Y, Kim YB, Peroni OD, et al. Leptin stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP activated protein kinase. *Nature*. 2002;415:339-43.

Miraglia del Giudice E, Santoro N, Cirillo G, Raimondo P, Grandone A, D'Aniello A, Di Nardo M, Perrone L. Molecular screening of the ghrelin gene in Italian obese children: the Leu72Met variant is associated with an earlier onset of obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004;28:447-50.

Misra A, Wasir JS, Vikram NK. Waist circumference criteria for the diagnosis of abdominal obesity are not applicable uniformly to all populations and ethnic groups. *Nutrition*. 2005;21:969-76.

Misra S, Murthy KS, Zhou H, Grider JR. Coexpression of Y1, Y2, and Y4 receptors in smooth muscle coupled to distinct signaling pathways. *J Pharmacol Exp Ther*. 2004;311:1154-62.

Miyata G, Meguid MM, Fetisov SO, Torelli GF, Kim HJ. Nicotine's effect on hypothalamic neurotransmitters and appetite regulation. *Surgery*. 1999;126:255-63.

Mizuno TM, Kleopoulos SP, Bergen HT, Roberts JL, Priest CA, Mobbs CV. Hypothalamic pro-opiomelanocortin mRNA is reduced by fasting and [corrected] in ob/ob and db/db mice, but is stimulated by leptin. *Diabetes*. 1998;47:294-7.

Moffatt RJ, Owens SG. Cessation from cigarette smoking: changes in body weight, body composition, resting metabolism, and energy consumption. *Metabolism*. 1991;40:465-70.

Mokdad AH, Ford ES, Bowman BA, Dietz WH, Vinicor F, Bales VS, Marks JS. Prevalence of obesity, diabetes, and obesity-related health risk factors, 2001. *JAMA*. 2003;289:76-9.

Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, Wareham NJ, Sewter CP, Digby JE, Mohammed SN, Hurst JA, Cheetham CH, Earley AR, Barnett AH, Prins JB, O'Rahilly S. Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature* 1997;387:903-8.

Montague CT, O'Rahilly S. The perils of portliness: causes and consequences of visceral adiposity. *Diabetes*. 2000;49:883-8.

Monteiro CA, Moura EC, Conde WL, Popkin BM. Socioeconomic status and obesity in adult populations of developing countries: a review. *Bull World Health Organisation*. 2004;82:940-6.

Monterrey Gutiérrez P, Porroto Maury C. Procedimiento gráfico para la evaluación del estado nutricional de los adultos según el IMC. *Rev Cubana Aliment Nutr* 2001;15:62-70.

- Mooradian AD, Haas MJ, Wehmeier KR, Wong NC. Obesity-related changes in high-density lipoprotein metabolism. *Obesity (Silver Spring)*. 2008;16:1152-60.
- Moore AF, Jablonski KA, Mason CC, McAteer JB, Arakaki RF, Goldstein BJ, Kahn SE, Kitabchi AE, Hanson RL, Knowler WC, Florez JC; Diabetes Prevention Program Research Group. The association of ENPP1 K121Q with diabetes incidence is abolished by lifestyle modification in the diabetes prevention program. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94:449-55.
- Morales-Salinas A, Coca A. Obesidad, actividad física y riesgo cardiovascular: clasificación ergoantropométrica, variables farmacológicas, biomarcadores y “paradoja de la obesidad”. *Med Clin (Barc)*. 2010;134:492-8.
- Moran TH, Baldessarini AR, Salorio CF, Lowery T, Schwartz GJ. Vagal afferent and efferent contributions to the inhibition of food intake by cholecystokinin. *Am J Physiol*. 1997;272:R1245-R1251.
- Moran TH, Shnayder L, Hostetler AM, McHugh PR. Pylorotomy reduces the satiety action of cholecystokinin. *Am J Physiol*. 1988;255:R1059-R1063.
- Morandi A, Maffèis C, Lobbens S, Bouatia-Naji N, Heude B, Pinelli L, Meyre D, Froguel P. Early detrimental metabolic outcomes of rs17300539-A allele of ADIPOQ gene despite higher adiponectinemia. *Obesity (Silver Spring)*. 2010;18:1469-73.
- Moreno MJ, Martínez JA. El tejido adiposo: órgano de almacenamiento y órgano secretor. *ANALES Sis San Navarra* 2002;25:29-39.
- Mori Y, Otabe S, Dina C, Yasuda K, Populaire C, Lecoœur C, Vatin V, Durand E, Hara K, Okada T, Tobe K, Boutin P, Kadowaki T, Froguel P. Genome-wide search for type 2 diabetes in Japanese affected sib-pairs confirms susceptibility genes on 3q, 15q, and 20q and identifies two new candidate Loci on 7p and 11p. *Diabetes*. 2002;51:1247-55.
- Moriya M, Okumura T, Takahashi N, Yamagata K, Motomura W, Kohgo Y. An inverse correlation between serum leptin levels and hemoglobin A1c in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*. 1999;43:187-91.
- Moro C, Pillard F, de Glisezinski I, Crampes F, Thalamas C, Harant I, Marques MA, Lafontan M, Berlan M. Sex differences in lipolysis-regulating mechanisms in overweight subjects: effect of exercise intensity. *Obesity*. 2007;15:2245-55.
- Mousavinasab F, Tähtinen T, Jokelainen J, Koskela P, Vanhala M, Oikarinen J, Keinänen-Kiukaanniemi S, Laakso M. Common polymorphisms (single-nucleotide polymorphisms SNP+45 and SNP+276) of the adiponectin gene regulate serum adiponectin concentrations and blood pressure in young Finnish men. *Mol Genet Metab*. 2006;87:147-51.
- Muccioli G, Ghè C, Ghigo MC, Papotti M, Arvat E, Boghen MF, Nilsson MH, Deghenghi R, Ong H, Ghigo E. Specific receptors for synthetic GH secretagogues in the human brain and pituitary gland. *J Endocrinol*. 1998;157:99-106.
- Muccioli G, Tschöp M, Papotti M, Deghenghi R, Heiman M, Ghigo E. Neuroendocrine and peripheral activities of ghrelin: implications in metabolism and obesity. *Eur J Pharmacol*. 2002; 440:235-54.
- Mueller WM, Gregoire FM, Stanhope KL, Mobbs CV, Mizuno TM, Warden CH, Stern JS, Havel PJ. Evidence that glucose metabolism regulates leptin secretion from cultured rat adipocytes. *Endocrinology*. 1998;139:551-8.
- Muller DC, Elahi D, Pratley RE, Tobin JD, Andres R. An epidemiological test of the hyperinsulinemia-hypertension hypothesis. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993;76:544-8.
- Müller TD, Reichwald K, Wermter AK, Brönner G, Nguyen TT, Friedel S, Koberwitz K, Engeli S, Lichtner P, Meitinger T, Schäfer H, Hebebrand J, Hinney A. No evidence for an involvement of variants in the cannabinoid receptor gene (CNR1) in obesity in German children and adolescents. *Mol Genet Metab*. 2007;90:429-34.

Murakami K, Sasaki S, Takahashi Y, Uenishi K, Yamasaki M, Hayabuchi H, Goda T, Oka J, Baba K, Ohki K, Watanabe R, Sugiyama Y. Nutrient and food intake in relation to serum leptin concentration among young Japanese women. *Nutrition*. 2007;23:461-8.

Murray A, Cluett C, Bandinelli S, Corsi AM, Ferrucci L, Guralnik J, Singleton A, Frayling T, Melzer D. Common lipid-altering gene variants are associated with therapeutic intervention thresholds of lipid levels in older people. *Eur Heart J*. 2009;30:1711-9.

Müssig K, Heni M, Thamer C, Kantartzis K, Machicao F, Stefan N, Fritsche A, Häring HU, Staiger H. The ENPP1 K121Q polymorphism determines individual susceptibility to the insulin-sensitising effect of lifestyle intervention. *Diabetologia*. 2010;53:504-9.

Must A, Spadano J, Coakley EH, Field AE, Colditz G, Dietz WH. The disease burden associated with overweight and obesity. *JAMA* 1999;282: 1523-9.

Mutch DM, Wahli W, Williamson G. Nutrigenomics and nutrigenetics: the emerging faces of nutrition. *FASEB J*. 2005;19:1602-16.

Myra I, Alamowitch C, Michel O, Heudes D, Bariety J, Guy-Grand B, Chevalier J. Lipoprotein oxidation and plasma vitamin E in nondiabetic normotensive obese patients. *Obes Res*. 2003;11:112-20.

Nagaya N, Kojima M, Uematsu M, Yamagishi M, Hosoda H, Oya H, Hayashi Y, Kangawa K. Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2001;280: R1483-R1487.

Nakamura Y, Ueshima H, Okuda N, Miura K, Kita Y, Okamura T, Turin TC, Okayama A, Rodriguez B, Curb JD, Stamler J; for the INTERLIPID Research Group. Relation of dietary and lifestyle traits to difference in serum leptin of Japanese in Japan and Hawaii: The INTERLIPID study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2010. doi:10.1016/j.numecd.2010.03.004

Nakano Y, Tobe T, Choi-Miura NH, Mazda T, Tomita M. Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma. *J Biochem*. 1996;120:803-12.

Nakatani K, Noma K, Nishioka J, Kasai Y, Morioka K, Katsuki A, Hori Y, Yano Y, Sumida Y, Wada H, Nobori T. Adiponectin gene variation associates with the increasing risk of type 2 diabetes in non-diabetic Japanese subjects. *Int J Mol Med*. 2005;15:173-7.

Nakayama K, Bayasgalan T, Yamanaka K, Kumada M, Gotoh T, Utsumi N, Yanagisawa Y, Okayama M, Kajii E, Ishibashi S, Iwamoto S; Jichi Community Genetics Team (JCOG). Large scale replication analysis of loci associated with lipid concentrations in a Japanese population. *J Med Genet*. 2009;46:370-4.

Narkiewicz K, Somers VK, Mos L, Kato M, Accurso V, Palatini P. An independent relationship between plasma leptin and heart rate in untreated patients with essential hypertension. *J Hypertens*. 1999;17:245-9.

National Centre for Biotechnology Information, <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

National Cholesterol Education Program (NCEP). Third Report of the Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. National Institutes of Health, Bethesda, MD. Adult Treatment Panel III (ATP III). *JAMA*. 2001;285:2486-97

National Cholesterol Education Program (NCEP). Third report of the national cholesterol education program expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults final report. Adult Treatment Panel III (ATP III). *Circulation*. 2002;106:3143-421.

National Institutes of Health (NIH). National Heart, Lung and Blood Institute. Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults. The evidence report. Bethesda, junio 1999.

National Institutes of Health (NIH). Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults—the evidence report. *Obes Res.* 1998;6:51–209. Also available at http://www.nhlbi.gov/guidelines.obesity/ob_gdlns.htm.

National Institutes of Health (NIH). Publication No. 01-3680. Understanding adult obesity. 2006. From, <http://win.niddk.gov/publications/understanding.htm>

Navarro-López F. Bases genéticas de la enfermedad coronaria. *Rev Esp Cardiol.* 2002;55:413-31.

Naveilhan P, Svensson L, Nyström S, Ekstrand AJ, Ernfors P. Attenuation of hypercholesterolemia and hyperglycemia in ob/ob mice by NPY Y2 receptor ablation. *Peptides.* 2002;23:1087-91.

Neel JV. Diabetes mellitus: a “thrifty” genotype rendered detrimental by “progress”? *Am J Hum Genet.* 1962;14:353-362.

Nelson ME, Rejeski WJ, Blair SN, Duncan PW, Judge JO, King AC, Macera CA, Castaneda-Sceppa C. Physical Activity and Public Health in Older Adults. Recommendation from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Circulation.* 2007;116:1094-105.

Neovius M, Linné Y, Rossner S. BMI, waist-circumference and waist-hip-ratio as diagnostic tests for fatness in adolescents. *Int J Obes (Lond).* 2005;29:163-9.

Newby PK, Muller D, Hallfrisch J, Andres R, Tucker KL. Food patterns measured by factor analysis and anthropometric changes in adults. *Am J Clin Nutr.* 2004;80:504-13.

Ng MC, Tam CH, So WY, Ho JS, Chan AW, Lee HM, Wang Y, Lam VK, Chan JC, Ma RC. Implication of genetic variants near NEGR1, SEC16B, TMEM18, ETV5/DGKG, GNPDA2, LIN7C/BDNF, MTCH2, BCDIN3D/FAIM2, SH2B1, FTO, MC4R, and KCTD15 with obesity and type 2 diabetes in 7705 Chinese. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95:2418-25.

Nicholson AC, Hajjar DP. CD36, oxidized LDL and PPAR gamma: pathological interactions in macrophages and atherosclerosis. *Vascul Pharmacol.* 2004;41:139-46.

Nicklas TA, Elkasabany A, Srinivasan SR, Berenson G. Trends in nutrient intake of 10-year-old children over two decades (1973-1994) : the Bogalusa Heart Study. *Am J Epidemiol.* 2001;153:969-77.

Nicolás JM, Fernández-Solà J, Fatjó F, Casamitjana R, Bataller R, Sacanella E, Tobías E, Badía E, Estruch R. Increased circulating leptin levels in chronic alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res.* 2001;25:83-8.

Nielsen EM, Hansen L, Carstensen B, Echwald SM, Drivsholm T, Glümer C, Thorsteinsson B, Borch-Johnsen K, Hansen T, Pedersen O. The E23K variant of Kir6.2 associates with impaired post-OGTT serum insulin response and increased risk of type 2 diabetes. *Diabetes.* 2003;52:573-7.

Niswender KD, Morton GJ, Stearns WH, Rhodes CJ, Myers MG Jr, Schwartz MW. Intracellular signalling. Key enzyme in leptin-induced anorexia. *Nature.* 2001;413:794-5.

Noel SE, Lai CQ, Mattei J, Parnell LD, Ordovas JM, Tucker KL. Variants of the CD36 gene and metabolic syndrome in Boston Puerto Rican adults. *Atherosclerosis.* 2010;211:210-5.

Noma K, Goto C, Nishioka K, Hara K, Kimura M, Umemura T, Jitsuiki D, Nakagawa K, Oshima T, Chayama K, Yoshizumi M, Higashi Y. Smoking, endothelial function, and Rho-kinase in humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:2630-5.

Nonaka N, Shioda S, Niehoff ML, Banks WA. Characterization of blood-brain barrier permeability to PYY3–36 in mouse. *J Pharmacol Exp Ther.* 2003;306:948–953.

North KE, Carr JJ, Borecki IB, Kraja A, Province M, Pankow JS, Wilk JB, Hixson JE, Heiss G; FHS Investigators. QTL-specific genotype-by-smoking interaction and burden of calcified coronary atherosclerosis: the NHLBI Family Heart Study. *Atherosclerosis*. 2007;193:11-9.

Ntalla I, Dedoussis G, Yannakoulia M, Smart MC, Louizou E, Sakka SD, Papoutsakis C, Talmud PJ. ADIPOQ gene polymorphism rs1501299 interacts with fibre intake to affect adiponectin concentration in children: the GENE-Diet Attica Investigation on childhood obesity. *Eur J Nutr*. 2009;48:493-497.

Obici S, Feng Z, Tan J, Liu L, Karkanias G, Rossetti L. Central melanocortin receptors regulate insulin action. *J Clin Invest*. 2001; 108:1079-85.

Obregón MJ. Obesidad, termogénesis y hormonas tiroideas. *Rev Esp Obes* 2007;5:27-38.

Okamoto Y, Arita Y, Nishida M, Muraguchi M, Ouchi N, Takahashi M, Igura T, Inui Y, Kihara S, Nakamura T, Yamashita S, Miyagawa J, Funahashi T, Matsuzawa Y. An adipocyte derived plasma protein, adiponectin, adheres to injured vascular walls. *Horm Metab Res*. 2000;32:47-50.

Oki K, Yamane K, Kamei N, Asao T, Awaya T, Watanabe H, Kohno N. The relationship between -8503G/A polymorphism of adiponectin receptor 1 and insulin sensitivity in the Japanese population. *Diabetes Res Clin Pract*. 2009;83:78-80.

Olds LC, Sibley E. Lactase persistence DNA variant enhances lactase promoter activity in vitro: functional role as a cis regulatory element. *Hum Mol Genet*. 2003;12:2333-40.

Olshansky SJ, Passaro DJ, Hershow RC, Layden J, Carnes BA, Brody J, Hayflick L, Butler RN, Allison DB, Ludwig DS. A potential decline in life expectancy in the United States in the 21st century. *N Engl J Med*. 2005;352:1138-45.

Olusi SO. Obesity is an independent risk factor for plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002;26:1159-64.

Ordovas JM, Peterson JP, Santaniello P, Cohn JS, Wilson PW, Schaefer EJ. Enzyme linked immunosorbent assay for human apolipoprotein B. *J Lipid Res*. 1987;28:1216-24.

Ordovas JM, Mooser V. Nutrigenomics and nutrigenetics. *Curr Opin Lipidol*. 2004;15:101-8(a).

Ordovas JM, Corella D. Nutritional genomics. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2004;5:71-118(b).

Ordovas JM, Kaput J, Corella D. Nutrition in the genomics era: Cardiovascular disease risk and the Mediterranean diet. *Mol Nutr Food Res*. 2007;51:1293-1299.

Ordovas JM. Genotype-phenotype associations: modulation by diet and obesity. *Obesity*. 2008;16:S40-S46.

Ordovas JM. Integración del medio ambiente y la enfermedad en el análisis «ómico». *Rev Esp Cardiol*. 2009;62:17-22(a).

Ordovas JM. Interacciones entre genes y entorno y factores de riesgo cardiovascular *Rev Esp Cardiol*. 2009;9:39B-51B (b).

Organización Mundial de la Salud (OMS)/World Health Organisation (WHO). Programme of nutrition, family and reproductive health. Obesity. Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation on obesity. Ginebra, 3-5 junio 1997, Ginebra: WHO; 1998.

Organización Mundial de la Salud (OMS)/World Health Organization (WHO). Guidelines Subcommittee. 1999 World Health Organization-International Society of Hypertension Guidelines for the Management of Hypertension. *Hypertension*. 1999;17:151-83.

Organización Mundial de la Salud (OMS)/World Health Organisation (WHO). Consultation on Obesity. Obesity: preventing and managing the global epidemic. WHO Technical Report Series 894. Geneva, Switzerland: WHO; 2000.

Organización Mundial de la Salud (OMS)/ World Health Organization (WHO) Expert Consultation. Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies. *Lancet*. 2004;363:157-163.

Organización Mundial de la Salud (OMS)/World Health Organisation (WHO). Estrategia Global sobre Dieta, Actividad Física y Salud, Ginebra: WHO; 2004.

Organización Mundial de la Salud (OMS)/World Health Organisation (WHO). Carta Europea contra la Obesidad. Ministerial Conference on Counteracting Obesity. Istanbul, Turkey on 15-17 November; 2006.

Organización Mundial de la Salud (OMS)/World Health Organisation (WHO). Obesity. Accessed November 30, 2008 from: www.who.int/topics/obesity/en/

Organización Mundial de la Salud (OMS)/World Health Organisation (WHO). 10 datos sobre la obesidad. Febrero 2010. Disponible en: <http://www.who.int/features/factfiles/obesity/es/> (a).

Organización Muncial de la Salud (OMS)/World Health Organisation (WHO). Global Database on Body Mass Index; 2010. Disponible en: <http://apps.who.int/bmi/index.jsp> (b).

Orita M, Suzuki Y, Sekiya T, Hayashi K. Rapid and sensitive detection of point mutations and DNA polymorphisms using the Polymerase Chain Reaction. *Genomics*. 1989;5:874-879.

Ormsbee MJ, Choi MD, Medlin JK, Geyer GH, Trantham LH, Dubis GS, Hickner RC. Regulation of fat metabolism during resistance exercise in sedentary lean and obese men. *J Appl Physiol*. 2009;106:1529-37.

Otero M, Lago R, Lago F, Casanueva FF, Dieguez C, Gómez-Reino JJ, Gualillo O. Leptin, from fat to inflammation: old questions and new insights. *FEBS Lett*. 2005;579:295-301.

Otero M, Lago R, Lago F, Casanueva FF, Dieguez C, Gómez-Reino JJ. Leptin, from fat to inflammation: Old questions and new insights. *FEBS Lett*. 2005;579:295-301.

Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, Hotta K, Nishida M, Takahashi M, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation*. 1999;100:2473-6.

Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Okamoto Y, Maeda K, Kuriyama H, Hotta K, Nishida M, Takahashi M, Muraguchi M, Ohmoto Y, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Adiponectin, an adipocyte-derived plasma protein, inhibits endothelial NF-kappa B signaling through a c-AMP-dependent pathway. *Circulation*. 2000;102:1296-1301.

Owen CG, Whincup PH, Odoki K, Gilg JA, Cook DG. Birth weight and blood cholesterol level: a study in adolescents and systematic review. *Pediatrics*. 2003;111:1081-9.

Ozata M, Mergen M, Oktenli C, Aydin A, Sanisoglu SY, Bolu E, Yilmaz MI, Sayal A, Isimer A, Ozdemir IC. Increased oxidative stress and hypozincemia in male obesity. *Clin Biochem*. 2002;35:627-31.

Pagano G, Pacini G, Musso G, Gambino R, Mecca F, Depetris N, Cassader M, David E, Cavallo-Perin P, Rizzetto M. Nonalcoholic steatohepatitis, insulin resistance, and metabolic syndrome: further evidence for an etiologic association. *Hepatology*. 2002;35:367-72.

Page ST, Herbst KL, Amory JK, Coviello AD, Anawalt BD, Matsumoto AM, Bremner WJ. Testosterone administration suppresses adiponectin levels in men. *J Androl*. 2005;26:85-92.

Palma Gamiz JL. La diabetes mellitus entendida como una enfermedad cardiovascular de origen metabólico. *Rev Esp Cardiol*. 2007;7:12-19.

- Palou A, Serra F, Bonet ML, Picó C. Obesity: molecular bases of a multifactorial problem. *Eur J Nutr.* 2000; 39: 127-44.
- Palou A, Picó C, Bonet ML. Food safety and functional foods in the European Union: obesity as a paradigmatic example for novel food development. *Nutr Rev.* 2004; 62:S169-81(a).
- Palou A, Bonet ML, Pico C, Rodriguez AM. Nutrigenómica y obesidad. *Rev Med Univ Navarra.* 2004;48:36-48(b).
- Pan SY, Johnson KC, Ugnat AM, Wen SW, Mao Y; Canadian Cancer Registries Epidemiology Research Group. Association of obesity and cancer risk in Canada. *Am J Epidemiol.* 2004;159:259–268.
- Panagiotakos DB, Pitsavos C, Zampelas A, Chrysohoou C, Griffin BA, Stefanadis C, Toutouzias P. Fish consumption and the risk of developing acute coronary syndromes: the CARDIO2000 study. *Int J Cardiol.* 2005;102:403-9(a).
- Panagiotakos DB, Pitsavos C, Yannakoulia M, Chrysohoou C, Stefanadis C. The implication of obesity and central fat on markers of chronic inflammation: The ATTICA study. *Atherosclerosis.* 2005;183:308-15(b).
- Panagiotakos DB, Chrysohoou C, Pitsavos C, Stefanadis C. Association between the prevalence of obesity and adherence to the Mediterranean diet: the ATTICA study. *Nutrition.* 2006;22:449-56(a).
- Panagiotakos DB, Pitsavos C, Stefanadis C. Dietary patterns: A Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2006;16:559–68(b).
- Panagiotakos DB, Polystiopi A, Papairakleous N, Polychronopoulos E. Long-term adoption of a Mediterranean diet is associated with a better health status in elderly people; a cross-sectional survey in Cyprus. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2007;16:331-7(a).
- Panagiotakos DB, Tzima N, Pitsavos C, Chrysohoou C, Zampelas A, Toussoulis D, Stefanadis C. The association between adherence to the Mediterranean diet and fasting indices of glucose homeostasis: The ATTICA Study. *J Am Coll Nutr.* 2007;26:32–8(b).
- Paniagua JA, de la Sacristana AG, Sánchez E, Romero I, Vidal-Puig A, Berral FJ, Escribano A, Moyano MJ, Pérez-Martínez P, López-Miranda J, Pérez-Jiménez F. A MUFA-rich diet improves postprandial glucose, lipid and GLP-1 responses in insulin-resistant subjects. *Am Coll Nutr.* 2007;26:434-44.
- Pankow JS, Duncan BB, Schmidt MI, Ballantyne CM, Couper DJ, Hoogeveen RC, Golden SH; Atherosclerosis Risk in Communities Study. Fasting plasma free fatty acids and risk of type 2 diabetes: the atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes Care.* 2004;27:77-82.
- Paolisso G, Tagliamonte MR, Rizzo MR, Manzella D, Gambardella A, Varricchio M. Oxidative stress and advancing age: results in healthy centenarians. *J Am Geriatr Soc.* 1998;46:833-8.
- Papotti M, Ghè C, Cassoni P, Catapano F, Deghenghi R, Ghigo E, Muccioli G. Growth hormone secretagogue binding sites in peripheral human tissues. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:3803-7.
- Paracchini V, Pedotti P, Taioli E. Genetics of leptin and obesity: A HuGE review. *Am J Epidemiol.* 2005;162:101–14.
- Paragano AJ, Curotto-Grasiosi J, Alasia D, Merlo PM, Abdala A, Bertelle G, Delgado J, Esper RJ. Leptina, obesidad y aterosclerosis. *Rev Conarec.* 2006;83:23-30.
- Pardo IM, Geloneze B, Tambascia MA, Pereira JL, Barros Filho AA. Leptin as a marker of sexual dimorphism in newborn infants. *J Pediatr.* 2004;80:305–8.
- Parks EJ, Hellerstein MK. Carbohydrate-induced hypertriglycerolemia: historical perspective and review of biological mechanisms. *Am J Clin Nutr.* 2000;71:412-33.

- Pasarica M, Zachwieja JJ, Dejonge L, Redman S, Smith SR. Effect of growth hormone on body composition and visceral adiposity in middleaged men with visceral obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92:4265-70.
- Pasman WJ, Heimerikx J, Rubingh CM, van den Berg R, O'Shea M, Gambelli L, Hendriks HF, Einerhand AW, Scott C, Keizer HG, Mennen LI. The effect of Korean pine nut oil on in vitro CCK release, on appetite sensations and on gut hormones in post-menopausal overweight women. *Lipids Health Dis.* 2008;7:10.
- Pasman WJ, Westerterp-Plantenga MS, Saris WH. The effect of exercise training on leptin levels in obese males. *Am J Physiol.* 1998;274:E280-6.
- Peeters A, Barendregt JJ, Willekens F, Mackenbach JP, Al Mamun A, Bonneux L, NEDCOM, the Netherlands Epidemiology and Demography Compression of Morbidity Research Group. Obesity in adulthood and its consequences for life expectancy: a life-table analysis. *Ann Intern Med.* 2003;138:24-32.
- Peeters A, Beckers S, Mertens I, Van Hul W, Van Gaal L. The G1422A variant of the cannabinoid receptor gene (CNR1) is associated with abdominal adiposity in obese men. *Endocrine.* 2007;31:138-41.
- Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, Collins F. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science.* 1995;269:540-543.
- Pérez A, Muñoz J, Cortés V, de Pablos Velasco P. Obesity and Cardiovascular Disease. *Public Health Nutrition.* 2007;10:1156-63.
- Pérez Miguelsanz M^ªJ, Cabrera Parra W, Varela Moreiras G, Garaulet M. Distribución regional de la grasa corporal. Uso de técnicas de imagen como herramienta de diagnóstico nutricional. *Nutr Hosp.* 2010;25:207-223.
- Perez-Jimenez F, Alvarez de Cienfuegos G, Badimon L, Barja G, Battino M, Blanco A, Bonanome A, Colomer R, Corella-Piquer D, Covas I, Chamorro-Quiros J, Escrich E, Gaforio JJ, Garcia Luna PP, Hidalgo L, Kafatos A, Kris-Etherton PM, Lairon D, Lamuela-Raventos R, Lopez-Miranda J, Lopez-Segura F, Martinez-Gonzalez MA, Mata P, Mataix J, Ordovas J, Osada J, Pacheco-Reyes R, Perucho M, Pineda-Priego M, Quiles JL, Ramirez-Tortosa MC, Ruiz-Gutierrez V, Sanchez-Rovira P, Solfrizzi V, Soriguer-Escofet F, de la Torre-Fornell R, Trichopoulos A, Villalba-Montoro JM, Villar-Ortiz JR, Visioli F. International conference on the healthy effect of virgin olive oil. *Eur J Clin Invest.* 2005;35:421-4.
- Pérez-Jiménez F, López-Miranda J, Pinillos MD, Gómez P, Paz-Rojas E, Montilla P, Marín C, Velasco MJ, Blanco-Molina A, Jiménez Perepérez JA, Ordovás JM. A Mediterranean and a high-carbohydrate diet improve glucose metabolism in healthy young persons. *Diabetologia.* 2001;44:2038-43.
- Pérez-Martínez P, López-Miranda J, Cruz-Teno C, Delgado-Lista J, Jiménez-Gómez Y, Fernández JM, Gómez MJ, Marín C, Pérez-Jiménez F, Ordovás JM. Adiponectin gene variants are associated with insulin sensitivity in response to dietary fat consumption in Caucasian men. *J Nutr.* 2008;138:1609-14.
- Perkins KA, Fonte C. Effects of smoking status and smoking cessation on leptin levels. *Nicotine Tob Res.* 2002;4:459-66.
- Perula de Torres LA, Lluch C, Ruiz R, Espejo J, Tapia G, Mengual P. Prevalencia de actividad física y su relación con variables sociodemográficas y ciertos estilos de vida en escolares cordobeses. *Rev Esp Salud Pública.* 1998;72:233-44.
- Pérusse L, Collier G, Gagnon J, Leon AS, Rao DC, Skinner JS, Wilmore JH, Nadeau A, Zimmet PZ, Bouchard C. Acute and chronic effects of exercise on leptin levels in humans. *J Appl Physiol.* 1997;83:5-10.
- Pérusse L, Bouchard C. Gene-diet interactions in obesity. *An J Clin Nutr.* 2000;72:1285S-1290S.
- Pérusse L, Rice T, Chagnon YC, Despres JP, Lemieux S, Roy S, Lacaille M, Ho-Kim MA, Chagnon M, Province MA, Rao DC, Bouchard C. A genome-wide scan for abdominal fat assessed by computed tomography in the Quebec Family Study. *Diabetes.* 2001;50:614-21

Pérusse L, Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argyropoulos G, Walts B, Snyder EE, Bouchard C. The human obesity gene map: the 2004 update. *Obes Res.* 2005;13:381-490.

Piché ME, Weisnagel SJ, Corneau L, Nadeau A, Bergeron J, Lemieux S. Contribution of abdominal visceral obesity and insulin resistance to the cardiovascular risk profile of postmenopausal women. *Diabetes.* 2005;54:770-7.

Piernas C, Hernández-Morante JJ, Canteras M, Zamora S, Garaulet M. New computed tomography-derived indices to predict cardiovascular and insulin-resistance risks in overweight/obese patients. *Eur J Clin Nutr.* 2009;63:887-97.

Piers LS, Walker KZ, Stoney RM, Soares MJ, O'Dea K. Substitution of saturated with monounsaturated fat in a 4-week diet affects body weight and composition of overweight and obese men. *Br J Nutr.* 2003;90:717-27.

Pijl H, Langendonk JG, Burggraaf J, Frolich M, Cohen AF, Veldhuis JD, Meinders AE. Altered neuroregulation of GH secretion in viscerally obese premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:5509-15.

Pironi L, Stanghellini V, Miglioli M, Corinaldesi R, De Giorgio R, Ruggeri E, Tosetti C, Poggioli G, Morselli Labate AM, Monetti N, Gozzetti G, Barbara L, Go VLW. Fat-induced ileal brake in humans: a dose-dependent phenomenon correlated to the plasma levels of peptide YY. *Gastroenterology.* 1993;105:733-9.

Pirro M, Mauriege P, Tchernof A, Cantin B, Dagenais GR, Despres JP, Lamarche B. Plasma free fatty acid levels and the risk of ischemic heart disease in men: prospective results from the Quebec Cardiovascular Study. *Atherosclerosis.* 2002;160:377-84.

Pi-Sunyer FX, Aronne LJ, Heshmati HM, Devin J, Rosenstock J; RIO-North America Study Group. Effect of rimonabant, a cannabinoid-1 receptor blocker, on weight and cardiometabolic risk factors in overweight or obese patients: RIO-North America: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2006;295:761-75.

Pi-Sunyer FX. Medical hazards of obesity. *Ann Intern Med.* 1993;119:655-60.

Pittas AG, Joseph NA, Greenberg AS. Adipocytokines and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:447-52.

Pizzitti A, Frittitta L, Argiolas A, Baratta R, Goldfine I, Bozzali M, Ercolino T, Scarlato G, Iacoviello L, Vigneri R, Tassi V, Trischitta V. A polymorphism (K121Q) of the human glycoprotein PC-1 gene coding region is strongly associated with insulin resistance. *Diabetes.* 1999;48:1881-4.

Plaza Pérez I, Villar Alvarez F, Mata López P, Pérez Jiménez F, Maiquez Galán A, Casasnovas Lenguas JA, Banegas Banegas JR, Tomás Abadal L, Rodríguez Artalejo F, Gil López E. Control of cholesterolemia in Spain, 2000. A tool for cardiovascular prevention. *Rev Esp Cardiol.* 2000;53:815-37.

Plum L, Schubert M, Bruning JC. The role of insulin receptor signaling in the brain. *Trends Endocrinol Metab.* 2005;16:59-65.

Pocai A, Lam TK, Gutierrez-Juarez R, et al. Hypothalamic K(ATP) channels control hepatic glucose production. *Nature.* 2005; 434:1026-31.

Pociot F, McDermott MF. Genetics of type 1 diabetes mellitus. *Genes and Immunity.* 2002;3:235-49.

Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, Eckel RH; American Heart Association; Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation.* 2006;113:898-918.

Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, Eckel RH; American Heart Association; Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss: an update of the 1997 American Heart Association

Scientific Statement on Obesity and Heart Disease from the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation*. 2006;113:898-918.

Poissonnet CM, Burdi AR, Garn SM. The chronology of adipose tissue appearance and distribution in the human fetus. *Early Hum Dev*. 1984;10:1-11.

Poitou C, Lacorte JM, Coupaye M, Bertrais S, Bedel JF, Lafon N, Bouillot JL, Galan P, Borson-Chazot F, Basdevant A, Coussieu C, Clément K. Relationship between single nucleotide polymorphisms in leptin, IL6 and adiponectin genes and their circulating product in morbidly obese subjects before and after gastric banding surgery. *Obes Surg*. 2005;15:11-23.

Polak J, Klimcakova E, Moro C, Viguerie N, Berlan M, Hejnova J, Richterova B, Kraus I, Langin D, Stich V. Effect of aerobic training on plasma levels and subcutaneous abdominal adipose tissue gene expression of adiponectin, leptin, interleukin 6, and tumor necrosis factor alpha in obese women. *Metabolism*. 2006;55:1375-81.

Polgár N, Járomi L, Csöngéi V, Maász A, Sipeky C, Sáfrány E, Szabó M, Melegh B. Triglyceride level modifying functional variants of GALTN2 and MLXIPL in patients with ischaemic stroke. *Eur J Neurol*. 2010;17:1033-9.

Pollin TI, Tanner K, O'Connell JR, Ott SH, Damcott CM, Shuldiner AR, McLenithan JC, Mitchell BD. Linkage of plasma adiponectin levels to 3q27 explained by association with variation in the APM1 gene. *Diabetes*. 2005;54:268-74.

Popkin BM, Gordon-Larsen P. The nutrition transition: worldwide obesity dynamics and their determinants. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004;28:S2-9.

Portolés O, Sorlí JV, Francés F, Coltell O, González JI, Sáiz C, Corella D. Effect of genetic variation in the leptin gene promoter and the leptin receptor gene on obesity risk in a population-based case-control study in Spain. *Eur J Epidemiol*. 2006;21:605-12.

Pouliot MC, Després JP, Lemieux S, Moorjani S, Bouchard C, Tremblay A, Nadeau A, Lupien PJ. Waist circumference and abdominal sagittal diameter: best simple anthropometric indexes of abdominal visceral adipose tissue accumulation and related cardiovascular risk in men and women. *Am J Cardiol*. 1994;73:460-8.

Poulter M, Hollox E, Harvey CB, Mulcare C, Peuhkuri K, Kajander K, Sarner M, Korpela R, Swallow DM. The causal element for the lactase persistence/non-persistence polymorphism is located in a 1 Mb region of linkage disequilibrium in Europeans. *Ann Hum Genet*. 2003;67:298-311.

Poykko SM, Kellokoski E, Horkko S, Kauma H, Kesaniemi YA, Ukkola O. Low plasma ghrelin is associated with insulin resistance, hypertension, and the prevalence of type 2 diabetes. *Diabetes*. 2003;52:2546-53.

Prentice AM. The emerging epidemic of obesity in developing countries. *Int J Epidemiol*. 2006; 35:93-9.

Psilopanagioti A, Papadaki H, Kranioti EF, Alexandrides TK, Varakis JN. Expression of adiponectin and adiponectin receptors in human pituitary gland and brain. *Neuroendocrinology*. 2009;89:38-47.

Puchau B, Zulet MA, de Echávarri AG, Hermsdorff HH, Martínez JA. Dietary total antioxidant capacity is negatively associated with some metabolic syndrome features in healthy young adults. *Nutrition*. 2010;26:534-41.

Purnell JQ, Weigle DS, Breen P, Cummings DE. Ghrelin levels correlate with insulin levels, insulin resistance, and high-density lipoprotein cholesterol, but not with gender, menopausal status, or cortisol levels in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:5747-52.

Qatanani M, Lazar MA. Mechanisms of obesity-associated insulin resistance: many choices on the menu. *Genes Dev*. 2007;21:1443-55.

Qi L, Li T, Rimm E, Zhang C, Rifai N, Hunter D, Doria A, Hu FB. The +276 polymorphism of the APM1 gene, plasma adiponectin concentration, and cardiovascular risk in diabetic men. *Diabetes*. 2005;54:1607-10(a).

- Qi L, Rimm E, Liu S, Rifai N, Hu FB. Dietary glycemic index, glycemic load, cereal fiber, and plasma adiponectin concentration in diabetic men. *Diabetes Care*. 2005;28:1022-8(b).
- Qi L, Meigs JB, Liu S, Manson JE, Mantzoros C, Hu FB. Dietary fibers and glycemic load, obesity, and plasma adiponectin levels in women with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2006;29:1501-5.
- Qi L, Kraft P, Hunter DJ, Hu FB. The common obesity variant near MC4R gene is associated with higher intakes of total energy and dietary fat, weight change, and diabetes risk in women. *Hum Mol Genet*. 2008;17:3502-8.
- Quiles J, Vioque J. Validez de los datos antropométricos declarados para la determinación de la prevalencia de obesidad. *Med Clin (Barc)* 1996;106:725-9.
- Quinton ND, Lee AJ, Ross RJ, Eastell R, Blakemore AI. A single nucleotide polymorphism (SNP) in the leptin receptor is associated with BMI, fat mass and leptin levels in postmenopausal Caucasian women. *Hum Genet*. 2001;108:233-6.
- Raab W. Alimentäre faktoren in der entstehung von arteriosklerose und hypertonie. *Med Klin*. 1932;28:487-521.
- Raben A, Agerholm-Larsen L, Flint A, Holst JJ, Astrup A. Meals with similar energy densities but rich in protein, fat, carbohydrate, or alcohol have different effects on energy expenditure and substrate metabolism but not on appetite and energy intake. *Am J Clin Nutr*. 2003;77:91-100.
- Raguso CA, Kyle U, Kossovsky MP, Roynette C, Paoloni-Giacobino A, Hans D, Genton L, Pichard C. A 3-year longitudinal study on body composition changes in the elderly: role of physical exercise. *Clin Nutr*. 2006;25:573-80.
- Rahman MM, Laher I. Structural and functional alteration of blood vessels caused by cigarette smoking: an overview of molecular mechanisms. *Curr Vasc Pharmacol*. 2007;5:276-92.
- Rahmouni K, Haynes WG. Leptin and the cardiovascular system. *Recent Prog Horm Res*. 2004; 59:225-44.
- Rahmouni K, Correia MLG, Haynes WG, Mark AL. Obesity-associated hypertension. New insights into mechanisms. *Hypertension*. 2005;45:9-14.
- Raij L. Nitric oxide in the pathogenesis of cardiac disease. *J Clin Hypertens*. 2006;8:30-9.
- Rainwater DL, Almasy L, Blangero J, Cole SA, VandeBerg JL, MacCluer JW, Hixson JE. A genome search identifies major quantitative trait loci on human chromosomes 3 and 4 that influence cholesterol concentrations in small LDL particles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19:777-83.
- Ranganathan G, Unal R, Pokrovskaya I, Yao-Borengasser A, Phanavanh B, Lecka-Czernik B, Rasouli N, Kern PA. The lipogenic enzymes DGAT1, FAS, LPL in adipose tissue: effects of obesity, insulin resistance and TZD treatment. *J Lipid Res*. 2006;47:2444-2450.
- Rankinen T, Bouchard C. Gene-physical activity interactions: overview of human studies. *Obesity*. 2008;16:S47-S50.
- Rankinen T, Perusse L, Weisnagel SJ, Snyder EE, Chagnon YC, Bouchard C. The human obesity gene map: the 2001 update. *Obes Res*. 2002;10:196-243.
- Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argyropoulos G, Walts B, Pérusse L, Bouchard C. The human obesity gene map: the 2005 update. *Obesity (Silver Spring)*. 2006;14:529-644.
- Rasmussen MS, Lihn AS, Pedersen SB, Bruun JM, Rasmussen M, Richelsen B. Adiponectin receptors in human adipose tissue: effects of obesity, weight loss, and fat depots. *Obesity (Silver Spring)*. 2006;14:28-35.

- Ravinet Trillou C, Delgorge C, Menet C, Arnone M, Soubrié P. CB1 cannabinoid receptor knockout in mice leads to leanness, resistance to diet-induced obesity and enhanced leptin sensitivity. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2004;28:640-8.
- Ravussin E, Bogardus C. Energy balance and weight regulation: genetics versus environment. *Br J Nutr*. 2000;83:S17-20.
- Raybould HE. Mechanisms of CCK signaling from gut to brain. *Curr Opin Pharmacol*. 2007;7:570-4.
- Razquin C, Martínez JA, Martínez-González MA, Salas-Salvadó J, Estruch R, Martí A. A 3-year Mediterranean-style dietary intervention may modulate the association between adiponectin gene variants and body weight change. *Eur J Nutr*. 2010;49:311-9.
- Rector RS, Warner SO, Liu Y, Hinton PS, Sun GY, Cox RH, Stump CS, Laughlin MH, Dellsperger KC, Thomas TR. Exercise and diet induced weight loss improves measures of oxidative stress and insulin sensitivity in adults with characteristics of the metabolic syndrome. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007;293:500-6.
- Redinger RN, Small DM. Bile composition, bile salt metabolism and gallstones. *Arch Intern Med* 1972;130:618-30.
- Redon J. Hypertension in obesity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2001;11:344-53.
- Reidpath DD, Burns C, Garrard J, Mahoney M, Townsend M. An ecological study of the relationship between social and environmental determinants of obesity. *Health Place*. 2002;8:141-5.
- Reis AF, Ye WZ, Dubois-Laforgue D, Bellanné-Chantelot C, Timsit J, Velho G. Association of a variant in exon 31 of the sulfonylurea receptor 1 (SUR1) gene with type 2 diabetes mellitus in French Caucasians. *Hum Genet*. 2000;107:138-44.
- Renström F, Payne F, Nordström A, Brito EC, Rolandsson O, Hallmans G, Barroso I, Nordström P, Franks PW; GIANT Consortium. Replication and extension of genome-wide association study results for obesity in 4923 adults from northern Sweden. *Hum Mol Genet*. 2009;18:1489-96.
- Reseland JE, Mundal HH, Hollung K, Haugen F, Zahid N, Anderssen SA, Drevon CA. Cigarette smoking may reduce plasma leptin concentration via catecholamines. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2005;73:43-9.
- Resmini E, Andraghetti G, Rebora A, Cordera R, Vera L, Giusti M, Minuto F, Ferone D: Leptin, ghrelin, and adiponectin evaluation in transsexual subjects during hormonal treatments. *J Androl*. 2008;29:580-5.
- Rexrode KM, Carey VJ, Hennekens CH, Walters EE, Colditz GA, Stampfer MJ, Willett WC, Manson JE. Abdominal adiposity and coronary heart disease in women. *JAMA*. 1998;280:1843-8.
- Ribasés M, Gratacòs M, Fernández-Aranda F, Bellodi L, Boni C, Anderlüh M, Cavallini MC, Cellini E, Di Bella D, Erzegovesi S, Foulon C, Gabrovsek M, Gorwood P, Hebebrand J, Hinney A, Holliday J, Hu X, Karwautz A, Kipman A, Komel R, Nacmias B, Renschmidt H, Ricca V, Sorbi S, Wagner G, Treasure J, Collier DA, Estivill X. Association of BDNF with anorexia, bulimia and age of onset of weight loss in six European populations. *Hum Mol Genet*. 2004;13:1205-12.
- Richardson DK, Schneider J, Fourcaudot MJ, Rodriguez LM, Arya R, Dyer TD, Almasy L, Blangero J, Stern MP, Defronzo RA, Duggirala R, Jenkinson CP. Association between variants in the genes for adiponectin and its receptors with insulin resistance syndrome (IRS)-related phenotypes in Mexican Americans. *Diabetologia*. 2006;49:2317-28.
- Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med*. 1997;336:973-9.
- Riedel MJ, Light PE. Saturated and cis/trans unsaturated acyl CoA esters differentially regulate wild-type and polymorphic b-cell ATP-sensitive K⁺ channels. *Diabetes*. 2005;54:2070-79.

Riestra P, Garcia-Anguita A, Viturro E, Schoppen S, de Oya M, Garcés C. Influence of the leptin G-2548A polymorphism on leptin levels and anthropometric measurements in healthy Spanish adolescents. *Ann Hum Genet.* 2010;74:335-9.

Ritter S, Dinh TT, Li AJ. Hindbrain catecholamine neurons control multiple glucoregulatory responses. *Physiol Behav.* 2006;89:490-500.

Rivellese AA, Giacco R, Annuzzi G, De Natale C, Patti L, Di Marino L, Minerva V, Costabile G, Santangelo C, Masella R, Riccardi G. Effects of monounsaturated vs. saturated fat on postprandial lipemia and adipose tissue lipases in type 2 diabetes. *Clin Nutr.* 2008;27:133-41.

Robitaille J, Houde A, Lemieux S, Gaudet D, Pérusse L, Vohl MC. The lipoprotein/lipid profile is modulated by a gene-diet interaction effect between polymorphisms in the liver X receptor-alpha and dietary cholesterol intake in French-Canadians. *Br J Nutr.* 2007;97:11-8.

Roche HM, Zampelas A, Jackson KG, Williams CM, Gibney MJ. The effect of test meal monounsaturated fatty acid: saturated fatty acid ratio on postprandial lipid metabolism. *Brit J Nutr.* 1998;79:419-24.

Rockefeller University. Linkage programs home page. 2004. Available <http://linkage.rockefeller.edu/ott/linkutil.htm>

Rodríguez Artalejo F, Guallar-Castillon P, Banegas Banegas JR, de Andres Manzano B, del Rey Calero J. Consumption of fruit and wine and the decline in cerebrovascular disease mortality in Spain (1975-1993). *Stroke.* 1998;29:1556-61.

Rodriguez de Fonseca F. The endocannabinoid system and food intake control. *Rev Med Univ Nav* 2004;48:18-23.

Rodríguez VM, Portillo MP, Picó C, Macarulla MT, Palou A. Olive oil feeding up-regulates uncoupling protein genes in rat brown adipose tissue and skeletal muscle. *Am J Clin Nutr.* 2002;75:213-20.

Rodriguez-Reventa L, Mila M, Rosenberg C, Lamb A, Lee C. Structural variation in the human genome: the impact of copy number variants on clinical diagnosis. *Genet Med.* 2007;9:600-6.

Rodríguez-Roca G, Llisterri J, Barrios V, Alonso-Moreno J, Banegas J, Lou S, Matalí A. Grado de control de la dislipemia en los pacientes españoles asistidos en atención primaria. Estudio LIPICAP. *Clin Invest Arterioscl.* 2006;18:226-38.

Rodríguez-Roca GC, Alonso-Moreno FJ, Barrios V, Llisterri JL, Lou S, Matalí A, Banegas JR; Grupo de Trabajo de Riesgo Cardiovascular; Grupo de Hipertensión Arterial de la Sociedad Española. Blood pressure findings in Spanish dyslipidemic primary-care patients. LIPICAP-PA Study. *Rev Esp Cardiol.* 2007 ;60:825-32.

Rodríguez-Rodríguez E, Perea JM, López-Sobaler AM, Ortega RM. Obesidad, resistencia a la insulina y aumento de los niveles de adipocinas: importancia de la dieta y el ejercicio físico. *Nutr Hosp.* 2009;24:415-421.

Rolls B, Morris E, Roe L. Portion size of foods affects energy intake in normal-weight and overweight men and women. *Am J Clin Nutr.* 2002;76:1207-13.

Rolls BJ, Ello-Martin JA, Tohill BC. What can intervention studies tell us about the relationship between fruit and vegetable consumption and weight management?. *Nutr Rev.* 2004;62:1-17.

Romijn JA, Klein S, Coyle EF, Sidossis LS, Wolfe RR. Strenuous endurance training increases lipolysis and triglyceride- fatty acid cycling at rest. *J Appl Physiol.* 1993; 75:108-13.

Ronti T, Lupattelli G, Mannarino E. The endocrine function of adipose tissue: an update. *Clin Endocrinol.* 2006;64:355-65.

Ros E. Dietary cis-monounsaturated fatty acids and metabolic control in type 2 diabetes. *Am J Clin Nutr.* 2003;78:617-25.

- Ros E. Dieta mediterránea y enfermedad cardiovascular. *Hipertensión*. 2008;25:9-15
- Roselli-Rehffuss L, Mountjoy KG, Robbins LS, Mortrud MT, Low MJ, Tatro JB, Entwistle ML, Simerly RB, Cone RD. Identification of a receptor for gamma melanotropin and other proopiomelanocortin peptides in the hypothalamus and limbic system. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993; 90:8856-60.
- Rosenbaum M, Leibel RL. Role of gonadal steroids in the sexual dimorphisms in body composition and circulating concentrations of leptin. *J Clin Endocrinol Metab*. 1999;84:1784-9.
- Rosmond R, Dallman MF, Bjorntorp P. Stress-related cortisol secretion in men: Relationships with abdominal obesity, endocrine, metabolic, and hemodynamic abnormalities. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83:1853-9.
- Rosmond R. Association studies of genetic polymorphisms in central obesity: a critical review. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003;27:1141-51.
- Ross R, Freeman JA, Janssen I. Exercise alone is an effective strategy for reducing obesity and related comorbidities. *Exerc Sport Sci Rev*. 2000;28:165-170.
- Ross R, Aru J, Freeman J, Hudson R, Janssen I. Abdominal adiposity and insulin resistance in obese men. *Am J Physiol*. 2002;282:E657-63.
- Roth MJ, Baer DJ, Albert PS, Castonguay TW, Dorgan JF, Dawsey SM, Brown ED, Hartman TJ, Campbell WS, Giffen CA, Judd JT, Taylor PR. Relationship between serum leptin levels and alcohol consumption in a controlled feeding and alcohol ingestion study. *J Natl Cancer Inst*. 2003;95:1722-5.
- Rothenbacher D, Brenner H, März W, Koenig W. Adiponectin, risk of coronary heart disease and correlations with cardiovascular risk markers. *Eur Heart J*. 2005;26:1640-6.
- Rozen S, Skaletsky H. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. *Methods Mol Biol*. 2000;132:365-86.
- Rubio MA, Gómez de la Cámara A, Del Campo J, Jurado C, García JD, Gómez-Gerique JA, y colaboradores. Prevalencia de obesidad en España tras 14 años de seguimiento de la cohorte DRECE. *Endocr Nutr* 2006;53:86.
- Ruiz-Ramos M, Escolar-Pujolar A, Mayoral-Sánchez E, Corral-San Laureano F, Fernández-Fernández I. Mellitus diabetes in Spain: death rates, prevalence, impact, costs and inequalities. *Gac Sanit*. 2006;20:15-24.
- Russo P, Strazzullo P, Cappuccio FP, Tregouet DA, Lauria F, Loguercio M, Barba G, Versiero M, Siani A. Genetic variations at the endocannabinoid type 1 receptor gene (CNR1) are associated with obesity phenotypes in men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92:2382-6.
- Saad MF, Damani S, Gingerich RL, Riad-Gabriel MG, Khan A, Boyadjian R, Jinagouda SD, el-Tawil K, Rude RK, Kamdar V. Sexual dimorphism in plasma leptin concentration. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82:579-84.
- Sabaté J, Ros E, Salas-Salvadó J. Nuts: nutrition and health outcomes. Preface. *Br J Nutr*. 2006;96:S1-2.
- Sabaté J, Ros E, Salas-Salvadó J. Nuts: nutrition and health outcomes. *BJN*. 2006;96:S1-S2.
- Sabatti C, Service SK, Hartikainen AL, Pouta A, Ripatti S, Brodsky J, Jones CG, Zaitlen NA, Varilo T, Kaakinen M, Sovio U, Ruokonen A, Laitinen J, Jakkula E, Coin L, Hoggart C, Collins A, Turunen H, Gabriel S, Elliot P, McCarthy MI, Daly MJ, Jarvelin MR, Freimer NB, Peltonen L. Genome-wide association analysis of metabolic traits in a birth cohort from a founder population. *Nat Genet*. 2009;41:35-46.
- Sabatti C, Service SK, Hartikainen AL, Pouta A, Ripatti S, Brodsky J, Jones CG, Zaitlen NA, Varilo T, Kaakinen M, Sovio U, Ruokonen A, Laitinen J, Jakkula E, Coin L, Hoggart C, Collins A, Turunen H, Gabriel S, Elliot P, McCarthy MI, Daly MJ, Jarvelin MR, Freimer NB, Peltonen L. Genome-wide association analysis of metabolic traits in a birth cohort from a founder population. *Nat Genet*. 2009;41:35-46.

Sacerdote C, Guarrera S, Smith GD, Grioni S, Krogh V, Masala G, Mattiello A, Palli D, Panico S, Tumino R, Veglia F, Matullo G, Vineis P. Lactase persistence and bitter taste response: instrumental variables and mendelian randomization in epidemiologic studies of dietary factors and cancer risk. *Am J Epidemiol.* 2007;166:576-81.

Sahu A. Leptin signaling in the hypothalamus: emphasis on energy homeostasis and leptin resistance. *Front Neuroendocrinol.* 2003; 24:225-253.

Saijo Y, Yoshioka E, Fukui T, Kawaharada M, Sata F, Sato H, Kishi R. Effects of the interaction between interleukin-6 -634C/G polymorphism and smoking on serum C-reactive protein concentrations. *Hypertens Res.* 2007;30:593-9.

Sainsbury A, Schwarzer C, Couzens M, Fetisov S, Furlinger S, Jenkins A, Cox HM, Sperk G, Hökfelt T, Herzog H. Important role of hypothalamic Y2 receptors in body weight regulation revealed in conditional knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99:8938-43.

Sakamoto Y, Inoue H, Keshavarz P, Miyawaki K, Yamaguchi Y, Moritani M, Kunika K, Nakamura N, Yoshikawa T, Yasui N, Shiota H, Tanahashi T, Itakura M. SNPs in the KCNJ11-ABCC8 gene locus are associated with type 2 diabetes and blood pressure levels in the Japanese population. *J Hum Genet.* 2007;52:781-93.

Salas-Salvado J, Bulló M, Pérez-Heras A, Ros E. Dietary fibre, nuts and cardiovascular diseases. *Br J Nutr.* 2006;96:S46-51.

Salas-Salvado J, Rubio MA, Barbany M, Moreno B; Grupo Colaborativo de la SEEDO. Consenso SEEDO 2007 para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y el establecimiento de criterios de intervención terapéutica. *Med Clin (Barc).* 2007;128:184-96.

Salmerón J, Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz GA, Rimm EB, Willett WC. Dietary fat intake and risk of type 2 diabetes in women. *Am J Clin Nutr.* 2001;73:1019-26.

Salopuro T, Pulkkinen L, Lindström J, Eriksson JG, Valle TT, Hämäläinen H, Ilanne-Parikka P, Keinänen-Kiukkaanniemi S, Tuomilehto J, Laakso M, Uusitupa M; Finnish Diabetes Prevention Study Group. Genetic variation in leptin receptor gene is associated with type 2 diabetes and body weight: The Finnish Diabetes Prevention Study. *Int J Obes (Lond).* 2005;29:1245-51.

Samad F, Yamamoto K, Loskutoff DJ. Distribution and regulation of plasminogen activator inhibitor-1 in murine adipose tissue in vivo. Induction by tumor necrosis factor-alpha and lipopolysaccharide. *J Clin Invest.* 1996;97:37-46.

Samad F, Yamamoto K, Pandey M, Loskutoff DJ. Elevated expression of transforming growth factor-beta in adipose tissue from obese mice. *Mol Med.* 1997;3:37-48.

Samson WK, White MM, Price C, Ferguson AV. Obestatin acts in brain to inhibit thirst. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2007;292:637-43.

Sánchez-Lasheras C, Könnér AC, Brüning JC. Integrative neurobiology of energy homeostasis-neurocircuits, signals and mediators. *Front Neuroendocrinol.* 2010; 31:4-15.

Sanchez-Margalet V, Martin-Romero C. Human leptin signaling in human peripheral blood mononuclear cells: activation of the JAK-STAT pathway. *Cell Immunol.* 2001;211:30-6.

Sanchez-Villegas A, Bes-Rastrollo M, Martinez-Gonzalez MA, Serra-Majem L. Adherence to a Mediterranean dietary pattern and weight gain in a follow-up study: the SUN cohort. *Int J Obes (Lond).* 2006;30:350-8.

Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1977;74:5463-7.

- Santoro N, Del Giudice EM, Grandone A, Marzuillo P, Cozzolino D, Di Salvo G, Pacileo G, Calabro R, Perrone L. Y2 receptor gene variants reduce the risk of hypertension in obese children and adolescents. *J Hypertens*. 2008;26:1590-4.
- Sanz Y, Santacruz A, Gauffin P. Gut microbiota in obesity and metabolic disorders. *Proc Nutr Soc*. 2010;69:434-41.
- Sarafidis PA, Bakris GL. Non-esterified fatty acids and blood pressure elevation: a mechanism for hypertension in subjects with obesity/insulin resistance?. *J Hum Hypertens*. 2007; 21:12-9.
- Sartipy P, Loskutoff DJ. Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100:7265-70.
- Saukko M, Kesäniemi YA, Ukkola O. Leptin receptor Lys109Arg and Gln223Arg polymorphisms are associated with early atherosclerosis. *Metab Syndr Relat Disord*. 2010;8:425-30.
- Scarsella C, Després JP. Treatment of obesity: the need to target attention on high-risk patients characterized by abdominal obesity. *Cad Saude Publica*. 2003;19:S7-19.
- Schäffler A, Orsó E, Palitzsch KD, Büchler C, Drobnik W, Fürst A, Schölmerich J, Schmitz G. The human apM-1, an adipocyte-specific gene linked to the family of TNF's and to genes expressed in activated T cells, is mapped to chromosome 1q21.3-q23, a susceptibility locus identified for familial combined hyperlipidaemia (FCH). *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;260:416-25.
- Scheen AJ. Pathophysiology of type 2 diabetes. In: Kuhlman J, Puls W, (eds). *Handbook of Experimental Pharmacology, Oral Antidiabetics* (Springer Verlag: Berlin). 1996;7-42.
- Scherer PE, Williams S, Fogliano M. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem*. 1995;270:26746-9.
- Schleinitz D, Carmienke S, Böttcher Y, Tönjes A, Berndt J, Klötting N, Enigk B, Müller I, Dietrich K, Breitfeld J, Scholz GH, Engeli S, Stumvoll M, Blüher M, Kovacs P. Role of genetic variation in the cannabinoid type 1 receptor gene (CNR1) in the pathophysiology of human obesity. *Pharmacogenomics*. 2010;11:693-702.
- Schmidt MI, Duncan BB, Vigo A, Pankow JS, Couper D, Ballantyne CM, Hoogeveen RC, Heiss G: ARIC Investigators. Leptin and incident type 2 diabetes: risk or protection?. *Diabetologia*. 2006;49:2086-96.
- Schmidt PT, Naslund E, Gryback P, Jacobsson H, Hartmann B, Holst JJ, Hellstrom PM. Peripheral administration of GLP-2 to humans has no effect on gastric emptying or satiety. *Regul Pept*. 2003;116: 21-25.
- Schmitz-Peiffer C. Signalling aspects of insulin resistance in skeletal muscle: mechanisms induced by lipid oversupply. *Cell Signal*. 2000;12:583-94.
- Schoen RE, Tangen CM, Kuller LH, Burke GL, Cushman M, Tracy RP, Dobs A, Savage PJ. Increased blood glucose and insulin, body size, and incident colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst*. 1999;91:1147-54.
- Schroder H, Marrugat J, Vila J, Covas MI, Elosua R. Adherence to the traditional mediterranean diet is inversely associated with body mass index and obesity in a spanish population. *J Nutr*. 2004;134: 3355-61.
- Schroder H. Protective mechanisms of the Mediterranean diet in obesity and type 2 diabetes. *J Nutr Biochem*. 2007;18: 149-60.
- Schwanstecher C, Meyer U, Schwanstecher M. K(IR)6.2 polymorphism predisposes to type 2 diabetes by inducing overactivity of pancreatic beta-cell ATP-sensitive K(+) channels. *Diabetes*. 2002;51:875-9.
- Schwartz GJ, Moran TH, White WO, Ladenheim EE. Relationships between gastric motility and gastric vagal afferent responses to CCK and GRP in rats differ. *Am J Physiol*. 1997; 272:R1726-33.

Schwartz MW, Woods SC, Porte D Jr, Seeley RJ, Baskin DG. Central nervous system control of food intake. *Nature*. 2000;404:661-671.

Schwartz MW, Erickson JC, Baskin DG, Palmiter RD. Effect of fasting and leptin deficiency on hypothalamic neuropeptide Y gene transcription in vivo revealed by expression of a lacZ reporter gene. *Endocrinology*. 1998;139:2629-32.

Schwarz PE, Towers GW, Fischer S, Govindarajulu S, Schulze J, Bornstein SR, Hanefeld M, Vasseur F. Hypoadiponectinemia is associated with progression toward type 2 diabetes and genetic variation in the ADIPOQ gene promoter. *Diabetes Care*. 2006;29:1645-50.

Searles CD. Transcriptional and posttranscriptional regulation of endothelial nitric oxide synthase expression. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2006;291: 803-16.

Seböková E, Klimes I. Molecular and cellular determinants of triglyceride availability. *Ann N Y Acad Sci*. 1997;827:200-14.

Seftel AD. Testosterone selectively reduces the high molecular weight form of adiponectin by inhibiting its secretion from adipocytes. *J Urol*. 2005;174:1045-6.

Seidell JC, Kahn HS, Williamson DF, Lissner L, Valdez R. Report from a Centers for Disease Control and Prevention Workshop on use of adult anthropometry for public health and primary health care. *Am J Clin Nutr*. 2001;73:123-6.

Seino S, Miki T. Physiological and pathophysiological roles of ATP-sensitive K⁺ channels. *Prog Biophys Mol Biol*. 2003;81:133-76.

Seip RL, Volek JS, Windemuth A, Kocherla M, Fernandez ML, Kraemer WJ, Ruaño G. Physiogenomic comparison of human fat loss in response to diets restrictive of carbohydrate or fat. *Nutr Metab (Lond)*. 2008;5:4.

Serra-Majem L, Ribas L, Aranceta J, Pérez C, Saavedra P, Peña L. Obesidad infantil y juvenil en España. Resultados del estudio enKid (1998-2000). *Med Clin (Barc)* 2003;121:725-32(a).

Serra-Majem L, Ngo de la Cruz J, Ribas L, Tur JA. Olive oil and the Mediterranean diet: beyond the rethoric. *Eur J Clin Nutr*. 2003;57:2-7(b).

Serra-Majem L, Trichopoulou A, Ngo de la Cruz J, Cervera P, García Álvarez A, La Vecchia C, Lemtouni A and Trichopoulos D, on behalf of the International Task Force on the Mediterranean Diet. 2004 Foreword: Does the definition of the Mediterranean diet need to be updated?. *Public Health Nutr*. 2004;7:927-9.

Serra-Majem LI. ¿Más beneficios de la dieta mediterránea?. *Nutrición y Obesidad*. 2001;4:43-6.

Sethi JK, Vidal-Puig AJ. Adipose tissue function and plasticity orchestrate nutritional adaptation. *J. Lipid. Res*. 2007;48:1253-1262.

Sethi JK, Vidal-Puig AJ. Adipose tissue function and plasticity orchestrate nutritional adaptation. *J Lipid Res*. 2007;48:1253-1262.

Shaat N, Ekelund M, Lernmark A, Ivarsson S, Almgren P, Berntorp K, Groop L. Association of the E23K polymorphism in the KCNJ11 gene with gestational diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2005;48:2544-51.

Shafir E. Development and consequences of insulin resistance: lessons from animals with hyperinsulinaemia. *Diabetes Metab*. 1996;22:122-31.

Shai I, Schwarzfuchs D, Henkin Y, Shahar DR, Witkow S, Greenberg I, et al. Weight loss with a low carbohydrate, Mediterranean, or low-fat diet. *N Engl J Med*. 2008;359:229-41.

- Shankar A, Xiao J. Positive relationship between plasma leptin level and hypertension. *Hypertension*. 2010;56:623-8.
- Shapiro L, Scherer PE. The crystal structure of a complement-1q family protein suggests an evolutionary link to tumor necrosis factor. *Curr Biol*. 1998; 8:335-8.
- Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract*. 2010;87:4-14
- Sheehan MT, Jensen MD. Metabolic complications of obesity. Pathophysiologic considerations. *Med Clin North Am*. 2000;84:363-85.
- Sheng T, Yang K. Adiponectin and its association with insulin resistance and type 2 diabetes. *J Genet Genomics*. 2008;35:321-6.
- Shigemoto, Y, Yoshimasa, S, Nishi, K, Hosoda, J, Inazawa, K, Nakao, Structural organization and chromosomal assignment of the human obese gene. *J Biol Chem*. 1995;270:27728-33.
- Shih PA, Wang L, Chiron S, Wen G, Nievergelt C, Mahata M, Khandrika S, Rao F, Fung MM, Mahata SK, Hamilton BA, O'Connor DT. Peptide YY (PYY) gene polymorphisms in the 3'-untranslated and proximal promoter regions regulate cellular gene expression and PYY secretion and metabolic syndrome traits in vivo. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94:4557-66.
- Shin MJ, Jang Y, Koh SJ, Chae JS, Kim OY, Lee JE, Ordovas JM, Lee JH. The association of SNP276G>T at adiponectin gene with circulating adiponectin and insulin resistance in response to mild weight loss. *Int J Obes (Lond)*. 2006;30:1702-8.
- Shubair MM, McColl RS, Hanning RM. Mediterranean dietary components and body mass index in adults: the peel nutrition and heart health survey. *Chronic Dis Can*. 2005;26:43-51.
- Shuldiner AR, Munir KM. Genetics of obesity: more complicated than initially thought. *Lipids*. 2003;38:97-101.
- Shuto Y, Shibasaki T, Otagiri A, Kuriyama H, Ohata H, Tamura H, Kamegai J, Sugihara H, Oikawa S, Wakabayashi I. Hypothalamic growth hormone secretagogue receptor regulates growth hormone secretion, feeding, and adiposity. *J Clin Invest*. 2002;109:1429-36.
- Siani A, Cappuccio FP, Barba G, Trevisan M, Farinara E, Lacone R, Russo O, Russo P, Mancini M, Strazzullo P. The relationship of waist circumference to blood pressure: the Olivetti Heart Study. *Am J Hypertens*. 2002;15:780-6.
- Siddiq A, Gueorguiev M, Samson C, Hercberg S, Heude B, Levy-Marchal C, Jouret B, Weill J, Meyre D, Walley A, Froguel P. Single nucleotide polymorphisms in the neuropeptide Y2 receptor (NPY2R) gene and association with severe obesity in French white subjects. *Diabetologia*. 2007;50:574-84.
- Siitonen N, Pulkkinen L, Mager U, Lindström J, Eriksson JG, Valle TT, Hämäläinen H, Ilanne-Parikka P, Keinänen-Kiukaanniemi S, Tuomilehto J, Laakso M, Uusitupa M. Association of sequence variations in the gene encoding adiponectin receptor 1 (ADIPOR1) with body size and insulin levels. The Finnish Diabetes Prevention Study. *Diabetologia*. 2006;49:1795-805.
- Siitonen N, Pulkkinen L, Lindström J, Kolehmainen M, Eriksson JG, Venojärvi M, Ilanne-Parikka P, Keinänen-Kiukaanniemi S, Tuomilehto J, Uusitupa M. Association of ADIPOQ gene variants with body weight, type 2 diabetes and serum adiponectin concentrations: the Finnish Diabetes Prevention Study. *BMC Med Genet*. 2011;12:5.
- Silventoinen K, Kaprio J, Lahelma E, Koskenvuo M. Relative effect of genetic and environmental factors on body height: differences across birth cohorts among Finnish men and women. *Am J Public Health*. 2000;90:627-30.
- Silverstein RL, Febbraio M. CD36 and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*. 2000; 11: 483-91.

Simard B, Turcotte H, Marceau P, Biron S, Hould FS, Lebel S, Marceau S, Boulet LP. Asthma and sleep apnea in patients with morbid obesity: outcome after bariatric surgery. *Obes Surg.* 2004;14:1381-8.

Simpson KA, Fiatarone-Singh MA. Effects of exercise on adiponectin: a systematic review. *Obesity.* 2008;16:241-56.

Simpson KA, Martin NM, Bloom SR. Hypothalamic regulation of food intake and clinical therapeutic applications. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2009; 53:120-8.

Singh RB, Dubnov G, Niaz MA, Ghosh S, Singh R, Rastogi SS, Manor O, Pella D, Berry EM. Effect of an Indo-Mediterranean diet on progression of coronary artery disease in high risk patients (Indo-Mediterranean Diet Heart Study): a randomised single-blind trial. *Lancet.* 2002;360:1455-61.

Sinha MK, Opentanova I, Ohannesian JP, et al. Evidence of free and bound leptin in human circulation. Studies in lean and obese subjects and during short-term fasting. *J Clin Invest.* 1996;98:1277-1282.

Sinha MK, Opentanova I, Ohannesian JP, Kolaczynski JW, Heiman ML, Hale J, Becker GW, Bowsher RR, Stephens TW, Caro JF. Evidence of free and bound leptin in human circulation. Studies in lean and obese subjects and during short-term fasting. *J Clin Invest.* 1996;98:1277-1282.

Sinnayah P, Jobst EE, Rathner JA, Caldera-Siu AD, Tonelli-Lemos L, Eusterbrock AJ, Enriori PJ, Pothos EN, Grove KL, Cowley MA. Feeding induced by cannabinoids is mediated independently of the melanocortin system. *PLoS One.* 2008;3:2202.

Skibola CF, Holly EA, Forrest MS, Hubbard A, Bracci PM, Skibola DR, Hegedus C, Smith MT. Body mass index, leptin and leptin receptor polymorphisms, and non-hodgkin lymphoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2004;13:779-86.

Sloth B, Davidsen L, Holst JJ, Flint A, Astrup A. Effect of subcutaneous injections of PYY1-36 and PYY3-36 on appetite, ad libitum energy intake, and plasma free fatty acid concentration in obese males. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2007;293:E604-9.

Small CJ, Bloom SR. Gut hormones and the control of appetite. *Trends Endocrinol Metab.* 2004;15:259-63.

Smith DE, Lewis CE, Caveny JL, Perkins LL, Burke GL, Bild DE. Longitudinal changes in adiposity associated with pregnancy. The CARDIA Study. Coronary Artery Risk Development in Young Adults Study. *JAMA.* 1994;271:1747-51.

Smith GD, Lawlor DA, Timpson NJ, Baban J, Kiessling M, Day IN, Ebrahim S. Lactase persistence-related genetic variant: population substructure and health outcomes. *Eur J Hum Genet.* 2009;17:357-67.

Smith J, Al-Amri M, Sniderman A, Cianflone K. Leptin and adiponectin in relation to body fat percentage, waist to hip ratio and the apoB/apoA1 ratio in Asian Indian and Caucasian men and women. *Nutr Metab (Lond).* 2006; 3:18.

Smith PM, Ferguson AV. Neurophysiology of hunger and satiety. *Dev Disabil Res Rev.* 2008;14:96-104.

Smith-Kirwin SM, O'Connor DM, De Johnston J, Lancey ED, Hassink SG, Funanage VL. Leptin expression in human mammary epithelial cells and breast milk. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:1810-3.

Snijder MB, Heine RJ, Seidell JC, Bouter LM, Stehouwer CD, Nijpels G, Funahashi T, Matsuzawa Y, Shimomura I, Dekker JM. Associations of adiponectin levels with incident impaired glucose metabolism and type 2 diabetes in older men and women: the hoorn study. *Diabetes Care.* 2006;29:2498-503.

Snijder MB, Dekker JM, Bouter LM, Heine RJ, Stehouwer CD, Seidell JC. Comment on: Schmidt MI, Duncan BB, Vigo A et al (2006) Leptin and incident type 2 diabetes: risk or protection? *Diabetologia* 49:2086-2096. *Diabetologia.* 2007;50:234-40.

- Snitker S, Pratley RE, Nicolson M, Tataranni PA, Ravussin E. Relationship between muscle sympathetic nerve activity and plasma leptin concentration. *Obes Res.* 1997;5:338-340.
- Snyder EE, Walts B, Pérusse L, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Rankinen T, Bouchard C. The human obesity gene map: the 2003 update. *Obes Res.* 2004;12:369-439.
- Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO). Consenso SEEDO'2000 para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y el establecimiento de criterios de intervención terapéutica. *Med Clin (Barc)* 2000;115:587-597.
- Söderberg S, Ahrén B, Jansson JH, Johnson O, Hallmans G, Asplund K, Olsson T. Leptin is associated with increased risk of myocardial infarction. *J Intern Med.* 1999 ;246:409-18.
- Solomon A, De Fanti BA, Martínez JA. Control del apetito y peso corporal: la ghrelina y la señalización orexigénica. *Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria.* 2004;55:13-27.
- Staiger H, Kaltenbach S, Staiger K, Stefan N, Fritsche A, Guirguis A, Péterfi C, Weisser M, Machicao F, Stumvoll M, Häring HU. Expression of adiponectin receptor mRNA in human skeletal muscle cells is related to in vivo parameters of glucose and lipid metabolism. *Diabetes.* 2004;53:2195-201.
- Staiger H, Machicao F, Kantartzis K, Schäfer SA, Kirchhoff K, Guthoff M, Silbernagel G, Stefan N, Fritsche A, Häring HU. Novel meta-analysis-derived type 2 diabetes risk loci do not determine prediabetic phenotypes. *PLoS One.* 2008;3:3019.
- Stancáková A, Kuulasmaa T, Paananen J, Jackson AU, Bonnycastle LL, Collins FS, Boehnke M, Kuusisto J, Laakso M. Association of 18 confirmed susceptibility loci for type 2 diabetes with indices of insulin release, proinsulin conversion, and insulin sensitivity in 5,327 nondiabetic Finnish men. *Diabetes.* 2009;58:2129-36.
- Stefan N, Machicao F, Staiger H, Machann J, Schick F, Tschritter O, Spieth C, Weigert C, Fritsche A, Stumvoll M, Häring HU. Polymorphisms in the gene encoding adiponectin receptor 1 are associated with insulin resistance and high liver fat. *Diabetologia.* 2005;48:2282-91.
- Stefanovic A, Kotur-Stevuljevic J, Spasic S, Bogavac-Stanojevic N, Bujisic N. The influence of obesity on the oxidative stress status and the concentration of leptin in type 2 diabetes mellitus patients. *Diabetes Res Clin Pract.* 2008;79:156-63.
- Steffensen CH, Roepstorff C, Madsen M, Kiens B. Myocellular triacylglycerol breakdown in females but not in males during exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002;282:E634-42.
- Steffensen KR, Gustafsson JA. Putative metabolic effects of the liver X receptor (LXR). *Diabetes.* 2004;53:36-42.
- Steinberg HO, Tarshoby M, Monestel R, Hook G, Cronin J, Johnson A, Bayazeed B, Baron AD. Elevated circulating free fatty acid levels impair endothelium-dependent vasodilation. *Clin Invest.* 1997;100:1230-9.
- Steinberg HO, Paradisi G, Hook G, Crowder K, Cronin J, Baron AD. Free fatty acid elevation impairs insulin-mediated vasodilation and nitric oxide production. *Diabetes.* 2000;49:1231-8.
- Steinle NI, Pollin TI, O'Connell JR, Mitchell BD, Shuldiner AR. Variants in the ghrelin gene are associated with metabolic syndrome in the Old Order Amish. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:6672-7.
- Stenvinkel P. Leptin and blood pressure--is there a link?. *Nephrol Dial Transplant.* 2000;15:1115-7.
- Stephens JW, Dhamrait SS, Mani AR, Acharya J, Moore K, Hurel SJ, Humphries SE. Interaction between the uncoupling protein 2 -866G>A gene variant and cigarette smoking to increase oxidative stress in subjects with diabetes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2008;18:7-14.

Stephens TW, Basinski M, Bristow PK, Bue-Valleskey JM, Burgett SG, Craft L, Hale J, Hoffmann J, Hsiung HM, Kriauciunas A, MacKellar W, Rosteck PR Jr, Schoner B, Smith D, Tinsley FC, Zhang ZY, Heiman M. The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. *Nature*. 1995; 377:530-2.

Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature*. 2001;409:307-12.

Stevens J, Cai J, Panuk ER, Williamson DF, Thun MJ, Wood JL. The effect of age on the association between body-mass index and mortality. *N Engl J Med*. 1998;338:1-7.

Stockhorst U, de Fries D, Steingrueber HJ, et al. Insulin and the CNS: effects on food intake, memory, and endocrine parameters and the role of intranasal insulin administration in humans. *Physiol Behav*. 2004;83:47-54.

Stojilkovic MP, Zhang D, Lopes HF, Lee CG, Goodfriend TL, Egan BM. Hemodynamic effects of lipids in humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2001;280:R1674-R9.

Stolerman ES, Manning AK, McAteer JB, Dupuis J, Fox CS, Cupples LA, Meigs JB, Florez JC. Haplotype structure of the ENPP1 Gene and Nominal Association of the K121Q missense single nucleotide polymorphism with glycemic traits in the Framingham Heart Study. *Diabetes*. 2008;57:1971-7.

Stone S, Abkevich V, Russell DL, Riley R, Timms K, Tran T, Trem D, Frank D, Jammulapati S, Neff CD, Iliev D, Gress R, He G, Frech GC, Adams TD, Skolnick MH, Lanchbury JS, Gutin A, Hunt SC, Shattuck D. TBC1D1 is a candidate for a severe obesity gene and evidence for a gene/gene interaction in obesity predisposition. *Hum Mol Genet*. 2006;15:2709-20.

St-Onge MP, Heymsfield SB. Reducing CVD risk through appropriate weight management. En: St-Onge MP, Keller KL, Heymsfield SB. Changes in childhood food consumption patterns: a cause for concern in light of increasing body weights. *Am J Clin Nutr*. 2003;78:1068-73.

Stratigopoulos G, LeDuc CA, Matsuoka N, Gutman R, Rausch R, Robertson SA, Myers MG Jr, Chung WK, Chua SC Jr, Leibel RL. Functional consequences of the human leptin receptor (LEPR) Q223R transversion. *Obesity (Silver Spring)*. 2009;17:126-35.

Strobel A, Issad T, Camoin L, Ozata M, Strosberg AD. A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. *Nat Genet*. 1998;18:213-5.

Stubbs R. Peripheral signals affecting food intake. *Nutrition*. 1999;15:614-25.

Stuebe AM, Lyon H, Herring AH, Ghosh J, Wise A, North KE, Siega-Riz AM. Obesity and diabetes genetic variants associated with gestational weight gain. *Am J Obstet Gynecol*. 2010;203:283.1-17.

Stumvoll M, Goldstein BJ and van Haften TW. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet*. 2005;365:1333-46.

Stumvoll M, Tschrutter O, Fritsche A, Staiger H, Renn W, Weisser M, Machicao F, Häring H. Association of the T-G polymorphism in adiponectin (exon 2) with obesity and insulin sensitivity: interaction with family history of type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002;51:37-41.

Stunkard A, Berkowitz R, Wadden T, Tanrikut C, Reiss E, Young L. Binge eating disorder and the night-eating syndrome. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1996;20:1-6.

Stutzmann F, Cauchi S, Durand E, Calvacanti-Proença C, Pigeire M, Hartikainen AL, Sovio U, Tichet J, Marre M, Weill J, Balkau B, Potoczna N, Laitinen J, Elliott P, Jarvelin MR, Horber F, Meyre D, Froguel P. Common genetic variation near MC4R is associated with eating behaviour patterns in European populations. *Int J Obes (Lond)*. 2009;33:373-8.

Suárez C, del Arco C, Sáez T, Blanco F, Ruiz JM, Alonso M, Gabriel R. Monitorización ambulatoria de la presión arterial en ancianos. Estudio EPICARDIAN. *Rev Esp Cardiol*. 1998;51:965-71.

Subramanian V, Rothenberg A, Gomez C, Cohen AW, Garcia A, Bhattacharyya S, Shapiro L, Dolios G, Wang R, Lisanti MP, Brasaemle DL. Perilipin A mediates the reversible binding of CGI-58 to lipid droplets in 3T3-L1 adipocytes. *J Biol Chem*. 2004;279:42062-42071.

Suematsu M, Katsuki A, Sumida Y, Gabazza EC, Murashima S, Matsumoto K, Kitagawa N, Akatsuka H, Hori Y, Nakatani K, Togashi K, Yano Y, Adachi Y. Decreased circulating levels of active ghrelin are associated with increased oxidative stress in obese subjects. *Eur J Endocrinol*. 2005;153:403-7.

Summers LK, Samra JS, Humphreys SM, Morris RJ, Frayn KN. Subcutaneous abdominal adipose tissue blood flow: variation within and between subjects and relationship to obesity. *Clin Sci (Lond)*. 1996;91:679-83.

Suter PM, Locher R, Hasler E, Vetter W. Is there a role for the ob gene product leptin in essential hypertension?. *Am J Hypertens*. 1998;11:1305-11.

Suter PM, Gerritsen-Zehnder M, Häsler E, Gürtler M, Vetter W, Hänseler E. Effect of alcohol on postprandial lipemia with and without preprandial exercise. *J Am Coll Nutr*. 2001;20:58-64.

Sutton BS, Weinert S, Langefeld CD, Williams AH, Campbell JK, Saad MF, Haffner SM, Norris JM, Bowden DW. Genetic analysis of adiponectin and obesity in Hispanic families: the IRAS Family Study. *Hum Genet*. 2005;117:107-18.

Suwa M, Kishimoto H, Nofuji Y, Nakano H, Sasaki H, Radak Z, Kumagai S. Serum brain derived neurotrophic factor level is increased and associated with obesity in newly diagnosed female patients with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*. 2006;55:852-7.

Suzuki K, Inoue T, Hioki R, Ochiai J, Kusuhara Y, Ichino N, Osakabe K, Hamajima N, Ito Y. Association of abdominal obesity with decreased serum levels of carotenoids in a healthy Japanese population. *Clin Nutr*. 2006;25:780-9.

Suzuki K, Simpson KA, Minnion JS, Shillito JC, Bloom SR. The role of gut hormones and the hypothalamus in appetite regulation. *Endocr J*. 2010;57:359-72.

Szilagyi A, Shrier I, Heilpern D, Je J, Park S, Chong G, Lalonde C, Cote LF, Lee B. Differential impact of lactose/lactase phenotype on colonic microflora. *Can J Gastroenterol*. 2010;24:373-9.

Szopa M, Malczewska-Malec M, Kiec-Wilk B, Skupien J, Wolkow P, Malecki MT, Sieradzki J. Variants of the adiponectin gene and type 2 diabetes in a Polish population. *Acta Diabetol*. 2009;46:317-22.

Takahashi M, Arita Y, Yamagata K, Matsukawa Y, Okutomi K, Horie M, Shimomura I, Hotta K, Kuriyama H, Kihara S, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Genomic structure and mutations in adipose-specific gene, adiponectin. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2000;24:861-8.

Takeuchi F, Serizawa M, Yamamoto K, Fujisawa T, Nakashima E, Ohnaka K, Ikegami H, Sugiyama T, Katsuya T, Miyagishi M, Nakashima N, Nawata H, Nakamura J, Kono S, Takayanagi R, Kato N. Confirmation of multiple risk loci and genetic impacts by a genome-wide association study of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetes*. 2009;58:1690-9.

Takizawa H, Ura N, Saitoh S, Wang L, Higashiura K, Takagi S, Takada M, Togashi N, Nakano M, Hayashi Y, Shimamoto K. Gender difference in the relationships among hyperleptinemia, hyperinsulinemia, and hypertension. *Clin Exp Hypertens*. 2001;23:357-68.

Talmud PJ, Stephens JW. Lipoprotein lipase gene variants and the effect of environmental factors on cardiovascular disease risk. *Diabetes Obes Metab*. 2004;6:1-7.

Tang ED, Nunez G, Barr FG, Guan KL. Negative regulation of the forkhead transcription factor FKHR by Akt. *J Biol Chem*. 1999;274:16741-6.

Tankó LB, Siddiq A, Lecoœur C, Larsen PJ, Christiansen C, Walley A, Froguel P. ACDC/adiponectin and PPAR-gamma gene polymorphisms: implications for features of obesity. *Obes Res.* 2005;13:2113-21.

Tao YX. Molecular mechanisms of the neural melanocortin receptor dysfunction in severe early onset obesity. *Mol Cell Endocrinol.* 2005;239:1-14.

Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, Richards GJ, Campfield LA, Clark FT, Deeds J, Muir C, Sanker S, Moriarty A, Moore KJ, Smutko JS, Mays GG, Wool EA, Monroe CA, Tepper RI. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell.* 1995;83:1263-71.

Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, et al. Identification and expression cloning of the a leptin receptor, OB-R. *Cell.* 1995;83:1263-1271.

Tartaglia LA. The leptin receptor. *J Biol Chem.* 1997;272:6093-6.

Tate DF, Jeffery RW, Sherwood NE, Wing RR. Long-term weight losses associated with prescription of higher physical activity goals. Are higher levels of physical activity protective against weight regain?. *Am J Clin Nutr.* 2007;85:954-959.

Tchernof A, Lamarche B, Prund'Homme D, Nadeau A, Moorjani S, Labrine F, Lupien PJ, Després JP. The dense LDL phenotype: association with plasma lipoprotein levels, visceral obesity, and hyperinsulinemia in men. *Diabetes Care.* 1996;19:629-37.

Tchernof A, Nolan A, Sites CK, Ades PA, Poehlman ET. Weight loss reduces C-reactive protein levels in obese postmenopausal women. *Circulation.* 2002;105:564-9.

Terry RB, Stefanick ML, Haskell WL, Wood PD. Contributions of regional adipose tissue depots to plasma lipoprotein concentrations in overweight men and women: possible protective effects of thigh fat. *Metabolism.* 1991;40:733-40.

Tesch PA, Ploutz-Snyder LL, Ystrom L, Castro MJ, Dudley G. Skeletal muscle glycogen loss evoked by resistance exercise. *J Str Cond Res.* 1998;12:67-73.

Teupser D, Mueller MA, Koglin J, Wilfert W, Ernst J, von Scheidt W, Steinbeck G, Seidel D, Thiery J. CD36 mRNA expression is increased in CD14+ monocytes of patients with coronary heart disease. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2008;35:552-6.

The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron.* 2003;37:649-61.

The Pooling Project Research Group. Relationship of blood pressure, serum cholesterol, smoking habit, relative weight and ECG abnormalities to the incidence of major coronary events: final report of the pooling Project. *J Chronic Dis.* 1978;31:201-306.

Therrien F, Drapeau V, Lalonde J, Lupien SJ, Beaulieu S, Tremblay A, Richard D. Awakening cortisol response in lean, obese, and reduced obese individuals: effect of gender and fat distribution. *Obesity.* 2007;15:377-85.

Thom T, Haase N, Rosamond W, Howard VJ, Rumsfeld J, Manolio T, Zheng ZJ, Flegal K, O'Donnell C, Kittner S, Lloyd-Jones D, Goff DC Jr, Hong Y, Adams R, Friday G, Furie K, Gorelick P, Kissela B, Marler J, Meigs J, Roger V, Sidney S, Sorlie P, Steinberger J, Wasserthiel-Smoller S, Wilson M, Wolf P; American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Heart disease and stroke statistics--2006 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation.* 2006;113:e85-151.

Thompson PD, Crouse SF, Goodpaster B, Kelley D, Moyna N, Pescatello L. The acute versus the chronic response to exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2001;33:438-45.

Thompson PD, Buchner D, Pina IL, Balady GJ, Williams MA, Marcus BH, Berra K, Blair SN, Costa F, Franklin B, Fletcher GF, Gordon NF, Pate RR, Rodriguez BL, Yancey AK, Wenger NK; American Heart Association Council on Clinical Cardiology Subcommittee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention; American Heart Association Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism Subcommittee on Physical Activity. Exercise and physical activity in the prevention and treatment of atherosclerotic cardiovascular disease: a statement from the Council on Clinical Cardiology (Subcommittee on Exercise, Rehabilitation, and Prevention) and the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism (Subcommittee on Physical Activity). *Circulation*. 2003;107(24):3109-16.

Thorand B, Baumert J, Doring A, Herder C, Kolb H, Rathmann W, Giani G, Koenig W. Sex differences in the relation of body composition to markers of inflammation. *Atherosclerosis*. 2006;184: 216–224(a).

Thorand B, Baumert J, Chambless L, Meisinger C, Kolb H, Döring A, Löwel H, Koenig W; MONICA/KORA Study Group. Elevated markers of endothelial dysfunction predict type 2 diabetes mellitus in middle-aged men and women from the general population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26:398-405(b)

Thorleifsson G, Walters GB, Gudbjartsson DF, Steinthorsdottir V, Sulem P, Helgadóttir A, Styrkarsdóttir U, Gretarsdóttir S, Thorlacius S, Jonsdóttir I, Jonsdóttir T, Olafsdóttir EJ, Olafsdóttir GH, Jonsson T, Jonsson F, Borch-Johnsen K, Hansen T, Andersen G, Jorgensen T, Lauritzen T, Aben KK, Verbeek AL, Roeleveld N, Kampman E, Yanek LR, Becker LC, Tryggvadóttir L, Rafnar T, Becker DM, Gulcher J, Kiemeneý LA, Pedersen O, Kong A, Thorsteinsdóttir U, Stefansson K. Genome-wide association yields new sequence variants at seven loci that associate with measures of obesity. *Nat Genet*. 2009;41:18-24.

Thorne RF, Mhaidat NM, Ralston KJ, Burns GF. CD36 is a receptor for oxidized high density lipoprotein: implications for the development of atherosclerosis. *FEBS Lett*. 2007;581:1227-32.

Thorsby PM, Midthjell K, Gjerlaugsen N, Holmen J, Hanssen KF, Birkeland KI, Berg JP. Comparison of genetic risk in three candidate genes (TCF7L2, PPAR γ , KCNJ11) with traditional risk factors for type 2 diabetes in a population-based study--the HUNT study. *Scand J Clin Lab Invest*. 2009;69:282-7.

Tolppanen AM, Lindstrom J, Eriksson JG, Carlberg C, Tuomilehto J, Uusitupa M. Variations in the ghrelin receptor gene associate with obesity and glucose metabolism in individuals with impaired glucose tolerance. *PLoS ONE*. 2008;3:2941.

Toobert DJ, Glasgow RE, Strycker LA, Barrera M Jr, Radcliffe JL, Wander RC, Bagdade JD. Biologic and quality-of-life outcomes from the Mediterranean Lifestyle Program: a randomized clinical trial. *Diabetes Care*. 2003;26:2288-93.

Torekov SS, Larsen LH, Glumer C, Borch-Johnsen K, Jorgensen T, Holst JJ, Madsen OD, Hansen T, Pedersen O. Evidence of an association between the Arg72 allele of the peptide YY and increased risk of type 2 diabetes. *Diabetes*. 2005;54:2261–5

Torekov SS, Larsen LH, Andersen G, Albrechtsen A, Glümer C, Borch-Johnsen K, Jørgensen T, Hansen T, Pedersen O. Variants in the 5' region of the neuropeptide Y receptor Y2 gene (NPY2R) are associated with obesity in 5,971 white subjects. *Diabetologia*. 2006;49:2653-8.

Torniaainen S, Hedelin M, Autio V, Rasinperä H, Bälter KA, Klint A, Bellocco R, Wiklund F, Stattin P, Ikonen T, Tammela TL, Schleutker J, Grönberg H, Järvelä I. Lactase persistence, dietary intake of milk, and the risk for prostate cancer in Sweden and Finland. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007;16:956-61.

Trayhurn P, Beattie JH. Physiological role of adipose tissue: white adipose tissue as an endocrine and secretory organ. *Proc Nut Soc*. 2001;60:329-39.

Tremblay MS, Pérez CE, Ardern CI, Bryan SN, Katzmarzyk PT. Obesity, overweight and ethnicity. *Health Rep*. 2005;16:23-34.

Trichopoulou A, Gnardellis C, Ligiou A, Benetou V, Trichopoulos D. Body mass index in relation to energy intake and expenditure among adults in Greece. *Epidemiology*. 2000;11:333-6.

Trichopoulou A, Costacou T, Bamia C, Trichopoulos D. Adherence to a Mediterranean diet and survival in a Greek population. *N Engl J Med*. 2003;348:2599-608.

Trichopoulou A, Naska A, Orfanos P, Trichopoulos D. Mediterranean diet in relation to body mass index and waist-to-hip ratio: the Greek European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition Study. *Am J Clin Nutr*. 2005;82:935-40(a).

Trichopoulou A, Bamia C, Trichopoulos D. Mediterranean diet and survival among patients with coronary heart disease in Greece. *Arch Intern Med*. 2005;25;165:929-35(b).

Troiano RP, Frongillo EA Jr, Sobal J, Levitsky DA. The relationship between body weight and mortality: a quantitative analysis of combined information from existing studies. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 1996;20:63-75.

Troiano RP, Briefel RR, Carroll MD, Bialostosky K. Energy and fat intakes of children and adolescents in the United States: data from the National Health and Nutrition Examination surveys. *Am J Clin Nutr*. 2000;72:1343S-53S.

Trujillo ME, Scherer PE. Adipose tissue-derived factors: impact on health and disease. *Endocr Rev*. 2006;27:762-78.

Tsao TS, Tomas E, Murrey HE, Hug C, Lee DH, Ruderman NB, Heuser JE, Lodish HF. Role of disulfide bonds in Acrp30/adiponectin structure and signaling specificity. Different oligomers activate different signal transduction pathways. *J Biol Chem*. 2003;278:50810-7.

Tschöp M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*. 2000;407:908-13.

Tschöp M, Weyer C, Tataranni PA, Devanarayan V, Ravussin E, Heiman ML. Circulating ghrelin levels are decreased in human obesity. *Diabetes*. 2001;50:707-9.

Tsimikas S, Philis-Tsimikas A, Alexopoulos S, Sigari F, Lee C, Reaven PD. 1999 LDL isolated from Greek subjects on a typical diet or from American subjects on an oleate-supplemented diet induce less monocyte chemotaxis and adhesion when exposed to oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19:122-30.

Tsou K, Brown S, Sanudo-Pena MC, Mackie K, Walker JM. Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB1 receptors in the rat central nervous system. *Neuroscience*. 1998;83:393-411.

Tsuchida A, Yamauchi T, Ito Y. Insulin/ Foxo1 pathway regulates expression levels of adiponectin receptors and adiponectin sensitivity. *J Biol Chem*. 2004;279:30817-22.

Tucci SA, Rogers EK, Korbonits M, Kirkham TC. The cannabinoid CB1 receptor antagonist SR141716 blocks the orexigenic effects of intrahypothalamic ghrelin. *Br J Pharmacol* 2004;143:520-523.

Tunstall-Pedoe H, Kuulasmaa K, Mähönen M, Tolonen H, Ruokokoski E, Amouyel P. Contribution of trends in survival and coronary-event rates to changes in coronary heart disease mortality: 10 years results from 37 WHO MONICA project populations. Monitoring trends and determinants in cardiovascular disease. *Lancet* 1999; 353: 1547 - 1557.

Tur JA, Serra-Majem L, Romaguera D, Pons A. Profile of overweight and obese people in a Mediterranean Region. *Obes Res* 2005;13:527-536.

Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JI. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 2006;444:1027-31.

Tyrovolas S, Psaltopoulou T, Pounis G, Papairakleous N, Bountziouka V, Zeimbekis A, Gotsis E, Antonopoulou M, Metallinos G, Polychronopoulos E, Lionis C, Panagiotakos DB. Nutrient intake in relation to central and overall obesity status among elderly people living in the Mediterranean islands: The MEDIS study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2011;21:438-45.

Tzima N, Pitsavos C, Panagiotakos DB, Skoumas J, Zampelas A, Chrysohoou C, Stefanadis C. Mediterranean diet and insulin sensitivity, lipid profile and blood pressure levels, in overweight and obese people; the Attica study. *Lipids Health Dis.* 2007;6:22.

Ujii H, Oritani K, Kato H, Yokota T, Takahashi I, Maeda T, Masaie H, Ichii M, Kamada Y, Tamura S, Kihara S, Funahashi T, Tomiyama Y, Kanakura Y. Identification of amino-terminal region of adiponectin as a physiologically functional domain. *J Cell Biochem.* 2006;98:194-207.

Ukkola O, Ravussin E, Jacobson P, Snyder EE, Chagnon M, Sjöström L, Bouchard C. Mutations in the preproghrelin/ghrelin gene associated with obesity in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:3996-9.

Ukkola O, Ravussin E, Jacobson P, Pérusse L, Rankinen T, Tschöp M, Heiman ML, Leon AS, Rao DC, Skinner JS, Wilmore JH, Sjöström L, Bouchard C. Role of ghrelin polymorphisms in obesity based on three different studies. *Obes Res.* 2002;10:782-91.

Ukkola O, Ravussin E, Jacobson P, Sjöström L, Bouchard C. Mutations in the adiponectin gene in lean and obese subjects from the Swedish obese subjects cohort. *Metabolism.* 2003;52:881-4.

Ukkola O, Santaniemi M, Rankinen T, Leon AS, Skinner JS, Wilmore JH, Rao DC, Bergman R, Kesaniemi YA, Bouchard C. Adiponectin polymorphisms, adiposity and insulin metabolism: HERITAGE family study and Oulu diabetic study. *Ann Med.* 2005; 37:141-50.

Urakawa H, Katsuki A, Sumida Y, Gabazza EC, Murashima S, Morioka K, Maruyama N, Kitagawa N, Tanaka T, Hori Y, Nakatani K, Yano Y, Adachi Y. Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:4673-6.

US Department of Health and Human Services (USDHHS). The health benefits of smoking cessation: a report of the Surgeon General. Rockville: Office on Smoking and Health. 1990.

US Department of Health and Human Services (USDHHS). Physical activity and health: A report of the Surgeon General. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion. 1996.

US Department of Health and Human Services (USDHHS). Healthy people 2010: With understanding and improving health and objectives for improving health. 2nd ed. Washington, DC: US Government Printing Office (GPO), 2000;19-3.

US Department of Health and Human Services (USDHHS). Dietary guidelines for Americans 2005. Washington, DC: USDA, 2005.

US Department of Health and Human Services (USDHHS). Data 2010: the Healthy People 2010 database. Available at <http://wonder.cdc.gov/data2010>.

Uyeda K, Repa JJ. Carbohydrate response element binding protein, ChREBP, a transcription factor coupling hepatic glucose utilization and lipid synthesis. *Cell Metab.* 2006;4:107-10.

Uzun H, Konukoglu D, Gelisgen R, Zengin K, Taskin M. Plasma protein carbonyl and thiol stress before and after laparoscopic gastric banding in morbidly obese patients. *Obes Surg.* 2007;17:1367-73.

Vague J. La différenciation sexuelle, facteur determinant des formes de l'obésité. *Presse Médicale* 1947;30: 339-40.

Vaisse C, Clement K, Durand E, Hercberg S, Guy-Grand B, Froguel P. Melanocortin-4 receptor mutations are a frequent and heterogeneous cause of morbid obesity. *J Clin Invest.* 2000;106:253-62.

Vaisse C, Clement K, Guy-Grand B, Froguel P. A frameshift mutation in human MC4R is associated with a dominant form of obesity. *Nat Genet.* 1998;20:113-14.

- Valdés S, Rojo-Martínez G, Soriguer F. Evolución de la prevalencia de la diabetes tipo 2 en población adulta española. *Med Clin (Barc)*. 2007;129:352-5.
- Valenzuela A, Sanhueza J. El tejido adiposo: algo más que un reservorio de energía. *Grasas y aceites*. 2009;60:437-450.
- Valenzuela A. Tejido adiposo: algo más que grasa corporal. *Rev Esp Obes*. 2004;2:327-350.
- van Dam RM, Hoebee B, Seidell JC, Schaap MM, de Bruin TW, Feskens EJ. Common variants in the ATP-sensitive K⁺ channel genes *KCNJ11* (Kir6.2) and *ABCC8* (SUR1) in relation to glucose intolerance: population-based studies and meta-analyses. *Diabet Med*. 2005;22:590-8.
- van der Vaart H, Postma DS, Timens W, ten Hacken NH. Acute effects of cigarette smoke on inflammation and oxidative stress: a review. *Thorax*. 2004;59:713-21.
- Van Gaal LF, Rissanen AM, Scheen AJ, Ziegler O, Rössner S; RIO-Europe Study Group. Effects of the cannabinoid-1 receptor blocker rimonabant on weight reduction and cardiovascular risk factors in overweight patients: 1-year experience from the RIO-Europe study. *Lancet*. 2005;365:1389-97.
- Van Gaal LF, Mertens IL, De Block CE. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature*. 2006;444:875-80.
- Van Guilder GP, Hoetzer GL, Greiner JJ, Stauffer BL, Desouza CA. Influence of metabolic syndrome on biomarkers of oxidative stress and inflammation in obese adults. *Obesity*. 2006;14:2127-31.
- van Rossum CT, Hoebee B, Seidell JC, Bouchard C, van Baak MA, de Groot CP, Chagnon M, de Graaf C, Saris WH. Genetic factors as predictors of weight gain in young adult Dutch men and women. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002;26:517-28.
- van Rossum CT, Hoebee B, van Baak MA, Mars M, Saris WH, Seidell JC. Genetic variation in the leptin receptor gene, leptin, and weight gain in young Dutch adults. *Obes Res*. 2003;11:377-86.
- Varo JJ, Martínez-González MA, Irala J, Kearney J, Gibney MJ, Martínez JA. Determinants of sedentary lifestyles in the European Union. *Int J Epidemiol*. 2003;32:138-46.
- Vasseur F, Helbecque N, Dina C, Lobbens S, Delannoy V, Gaget S, Boutin P, Vaxillaire M, Leprêtre F, Dupont S, Hara K, Clément K, Bihain B, Kadowaki T, Froguel P. Single-nucleotide polymorphism haplotypes in the both proximal promoter and exon 3 of the *APM1* gene modulate adipocyte-secreted adiponectin hormone levels and contribute to the genetic risk for type 2 diabetes in French Caucasians. *Hum Mol Genet*. 2002;11:2607-14.
- Vasseur F, Helbecque N, Lobbens S, Vasseur-Delannoy V, Dina C, Clément K, Boutin P, Kadowaki T, Scherer PE, Froguel P. Hypoadiponectinaemia and high risk of type 2 diabetes are associated with adiponectin-encoding (*ACDC*) gene promoter variants in morbid obesity: evidence for a role of *ACDC* in diabetes. *Diabetologia*. 2005;48:892-9.
- Vasseur F, Meyre D, Froguel P. Adiponectin, type 2 diabetes and the metabolic syndrome: lessons from human genetic studies. *Expert Rev Mol Med*. 2006;8:1-12.
- Vázquez-Vela ME, Torres N, Tovar AR. White adipose tissue as endocrine organ and its role in obesity. *Arch Med Res*. 2008;39:715-28.
- Vegazo O, Banegas J, Civeira F, Serrano P, Luengo E, Mantilla T. Prevalencia de las dislipemias en consultas ambulatorias del sistema sanitario español. Estudio Hispalipid. *Med Clin (Barc)*. 2006;127:331-4.
- Verty AN, McFarlane JR, McGregor IS, Mallet PE. Evidence for an interaction between CB1 cannabinoid and melanocortin MCR-4 receptors in regulating food intake. *Endocrinology*. 2004; 145: 3224-31.
- Vesa TH, Seppo LM, Marteau PR, Sahi T, Korpela R. Role of irritable bowel syndrome in subjective lactose intolerance. *Am J Clin Nutr*. 1998;67:710-5.

- Vidal A, Calleja A, Ballesteros MD, Gómez López JJ, Cano I. Evaluación del consumo de tabaco y el riesgo cardiovascular en pacientes obesos. *Rev Esp Obes.* 2010;8:21-7.
- Vidal N, Tirapequi S, Torche M, Urquieta K, Lanzarini E. Hibernoma. Presentación de dos casos clínicos. *Rev Chil Cir.* 2004;56:279-282.
- Villegas R, Gao YT, Yang G, Li HL, Elasy TA, Zheng W, Shu XO. Legume and soy food intake and the incidence of type 2 diabetes in the Shanghai Women's Health Study. *m J Clin Nutr.* 2008;87:162-7.
- Vincent HK, Taylor AG. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes (Lond).* 2006;30:400-18.
- Vincent-Baudry S, Defoort C, Gerber M, Bernard MC, Verger P, Helal O, Portugal H, Planells R, Grolier P, Amiot-Carlin MJ, Vague P, Lairon D. The Medi-RIVAGE study: reduction of cardiovascular disease risk factors after a 3-mo intervention with a Mediterranean-type diet or a low-fat diet. *Am J Clin Nutr.* 2005;82:964-71.
- Vionnet N, Hani EH, Dupont S, Gallina S, Francke S, Dotte S, De Matos F, Durand E, Leprêtre F, Lecoeur C, Gallina P, Zekiri L, Dina C, Froguel P. Genomewide search for type 2 diabetes-susceptibility genes in French whites: evidence for a novel susceptibility locus for early-onset diabetes on chromosome 3q27-qter and independent replication of a type 2-diabetes locus on chromosome 1q21-q24. *Am J Hum Genet.* 2000;67:1470-80.
- Vioque J, Weinbrenner T, Castelló A, Asensio L, García de la Hera M. Intake of fruits and vegetables in relation to 10-year weight gain among Spanish adults. *Obesity (Silver Spring).* 2008;16:664-70.
- Visser M, Pahor M, Tylavsky F, Kritchevsky SB, Cauley JA, Newman AB, Blunt BA, Harris TB. One- and two-year change in body composition as measured by DXA in a population-based cohort of older men and women. *J Appl Physiol.* 2003;94:2368-74.
- Vitseva OI, Tanriverdi K, Tchkonja TT, Kirkland JL, McDonnell ME, Apovian CM, Freedman J, Gokce N. Inducible Toll-like receptor and NF-kappaB regulatory pathway expression in human adipose tissue. *Obesity (Silver Spring).* 2008;16:932-7.
- Vivenza D, Rapa A, Castellino N, Bellone S, Petri A, Vacca G, Aimaretti G, Broglio F, Bona G. Ghrelin gene polymorphisms and ghrelin, insulin, IGF-I, leptin and anthropometric data in children and adolescents. *Eur J Endocrinol.* 2004;151:127-33.
- Vozařova de Courten B, Hanson RL, Funahashi T, Lindsay RS, Matsuzawa Y, Tanaka S, Thameem F, Gruber JD, Froguel P, Wolford JK. Common polymorphisms in the adiponectin gene ACDC are not associated with diabetes in Pima Indians. *Diabetes.* 2005;54:284-9.
- Vrablik M, Ceska R, Adamkova V, Peasey A, Pikhart H, Kubinova R, Marmot M, Bobak M, Hubacek JA. MLXIPL variant in individuals with low and high triglyceridemia in white population in Central Europe. *Hum Genet.* 2008;124:553-5.
- Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr Rev.* 2000;21:697-738.
- Waki H, Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Uchida S, Kita S, Hara K, Hada Y, Vasseur F, Froguel P, Kimura S, Nagai R, Kadowaki T. Impaired multimerization of human adiponectin mutants associated with diabetes: molecular structure and multimer formation of adiponectin. *J Biol Chem.* 2003;278:40352-63.
- Walker KZ, Piers LS, Putt RS, Jones JA, O'Dea K. Effects of regular walking on cardiovascular risk factors and body composition in normoglycemic women and women with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 1999;22:555-61.
- Wan C, Zhang T, Wang B, Han Y, Zhang C, Zhang Y, Gong H, Jin F, Wang L. Obesity risk associated with the K121Q polymorphism of the glycoprotein PC-1 gene. *Diabetes Obes Metab.* 2006;8:703-8.

Wang H, Storlien LH, Huang XF. Effects of dietary fat types on body fatness, leptin, and ARC leptin receptor, NPY, and AgRP mRNA expression. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002;282:E1352-9.

Wang H, Zhang H, Jia Y, Zhang Z, Craig R, Wang X, Elbein SC. Adiponectin receptor 1 gene (ADIPOR1) as a candidate for type 2 diabetes and insulin resistance. *Diabetes.* 2004;53:2132-6.

Wang HJ, Geller F, Dempfle A, Schäuble N, Friedel S, Lichtner P, Fontenla-Horro F, Wudy S, Hagemann S, Gortner L, Huse K, Remschmidt H, Bettecken T, Meitinger T, Schäfer H, Hebebrand J, Hinney A. Ghrelin receptor gene: identification of several sequence variants in extremely obese children and adolescents, healthy normal-weight and underweight students, and children with short normal stature. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:157-62.

Wang J, Liu R, Hawkins M, Barzilai N, Rossetti L. A nutrient-sensing pathway regulates leptin gene expression in muscle and fat. *Nature.* 1998;393:684-8.

Wang J, Ban MR, Zou GY, Cao H, Lin T, Kennedy BA, Anand S, Yusuf S, Huff MW, Pollex RL, Hegele RA. Polygenic determinants of severe hypertriglyceridemia. *Hum Mol Genet.* 2008;17:2894-9.

Wang TN, Huang MC, Chang WT, Ko AM, Tsai EM, Liu CS, Lee CH, Ko YC. G-2548A polymorphism of the leptin gene is correlated with extreme obesity in Taiwanese aborigines. *Obesity (Silver Spring).* 2006;14:183-7.

Wang WY, Barratt B, Clayton DG, Todd JA. Genome-wide association studies: theoretical and practical concerns. *Nat Rev Genet.* 2005;6:109-18.

Wang Y, Xu A, Knight C, Xu LY, Cooper GJ. Hydroxylation and glycosylation of the four conserved lysine residues in the collagenous domain of adiponectin. Potential role in the modulation of its insulin-sensitizing activity. *J Biol Chem.* 2002;277:19521-9.

Wannamethee SG, Lowe GDO, Rumley A, Cherry L, Whincup PH, Sattar N. Adipokines and risk of type 2 diabetes in older men. *Diabetes Care.* 2007;30:1200-5.

Warden CH, Yi N, Fislser J. Epistasis among genes is a universal phenomenon in obesity: evidence from rodent models. *Nutrition.* 2004;20:74 - 77.

Warodomwicht D, Shen J, Arnett DK, Tsai MY, Kabagambe EK, Peacock JM, Hixson JE, Straka RJ, Province MA, An P, Lai CQ, Parnell LD, Borecki IB, Ordovas JM. ADIPOQ polymorphisms, monounsaturated fatty acids, and obesity risk: the GOLDN study. *Obesity (Silver Spring).* 2009;17:510-7.

Wasserman DH, Cherrington AD. Regulation of extramuscular fuel sources during exercise. In *Handbook of Physiology*. Rowell LB, Shepherd JT, (eds). Columbia, MD, Bermedica Production, 1996.

Watzl B, Kulling SE, Möseneder J, Barth SW, Bub A. A 4-wk intervention with high intake of carotenoid-rich vegetables and fruit reduces plasma C-reactive protein in healthy, nonsmoking men. *Am J Clin Nutr.* 2005;82:1052-8.

Wauters M, Mertens I, Chagnon M, Rankinen T, Considine RV, Chagnon YC, Van Gaal LF, Bouchard C. Polymorphisms in the leptin receptor gene, body composition and fat distribution in overweight and obese women. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001;25:714-20.

Weedon MN, Shields B, Hitman G, Walker M, McCarthy MI, Hattersley AT, Frayling TM. No evidence of association of ENPP1 variants with type 2 diabetes or obesity in a study of 8,089 U.K. Caucasians. *Diabetes.* 2006;55:3175-9.

Weikard R, Kühn C, Goldammer T, Freyer G, Schwerin M. The bovine PPARGC1A gene: molecular characterization and association of an SNP with variation of milk fat synthesis. *Physiol Genomics.* 2005;21:1-13.

- Weinbrener T, Schröder H, Escurriol V, Fito M, Elosua R, Vila J, Marrugat J, Covas MI. Circulating oxidized LDL is associated with increased waist circumference independent of body mass index in men and women. *Am J Clin Nutr*. 2006;83:30-5.
- Weinstein AR, Sesso HD, Lee IM, Cook NR, Manson JE, Buring JE, Gaziano JM. Relationship of physical activity vs body mass index with type 2 diabetes in women. *JAMA*. 2004;292:1188-94.
- Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante Jr AW. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *Journal of Clinical Investigation*. 2003;112:1796-808.
- Weiss KM, Clark AG. Linkage disequilibrium and the zapping of complex human traits. *Trends Genet*. 2002;18:19-24.
- Wellen KE, Hotamisligil GS. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest*. 2005;115:1111-9.
- Wellen KE, Hotamisligil GS. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. *J Clin Invest*. 2003;112:1785-8.
- Wells JC. Sexual dimorphism of body composition. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2007;21:415-30.
- Welsh P, Murray HM, Buckley BM, de Craen AJ, Ford I, Jukema JW, Macfarlane PW, Packard CJ, Stott DJ, Westendorp RG, Shepherd J, Sattar N. Leptin predicts diabetes but not cardiovascular disease: results from a large prospective study in an elderly population. *Diabetes Care*. 2009;32:308-10.
- Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, Tataranni PA. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:1930-5.
- Wieczorek S, Holle JU, Bremer JP, Wibisono D, Moosig F, Fricke H, Assmann G, Harper L, Arning L, Gross WL, Eppelen JT. Contrasting association of a non-synonymous leptin receptor gene polymorphism with Wegener's granulomatosis and Churg-Strauss syndrome. *Rheumatology (Oxford)*. 2010;49:907-14.
- Wiedmer P, Nogueiras R, Broglio F, D'Alessio D, Tschöp MH. Ghrelin, obesity and diabetes. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2007;3:705-12.
- Wilding JP. Neuropeptides and appetite control. *Diabet Med*. 2002;19:619-27.
- Wilkinson M, Brown R, Imran SA, Ur E. Adipokine gene expression in brain and pituitary gland. *Neuroendocrinology*. 2007;86:191-209.
- Willer CJ, Bonnycastle LL, Conneely KN, Duren WL, Jackson AU, Scott LJ, Narisu N, Chines PS, Skol A, Stringham HM, Petrie J, Erdos MR, Swift AJ, Enloe ST, Sprau AG, Smith E, Tong M, Doherty KF, Pugh EW, Watanabe RM, Buchanan TA, Valle TT, Bergman RN, Tuomilehto J, Mohlke KL, Collins FS, Boehnke M. Screening of 134 single nucleotide polymorphisms (SNPs) previously associated with type 2 diabetes replicates association with 12 SNPs in nine genes. *Diabetes*. 2007;56:256-64.
- Willer CJ, Sanna S, Jackson AU, Scuteri A, Bonnycastle LL, Clarke R, Heath SC, Timpson NJ, Najjar SS, Stringham HM, Strait J, Duren WL, Maschio A, Busonero F, Mulas A, Albai G, Swift AJ, Morken MA, Narisu N, Bennett D, Parish S, Shen H, Galan P, Meneton P, Hercberg S, Zelenika D, Chen WM, Li Y, Scott LJ, Scheet PA, Sundvall J, Watanabe RM, Nagaraja R, Ebrahim S, Lawlor DA, Ben-Shlomo Y, Davey-Smith G, Shuldiner AR, Collins R, Bergman RN, Uda M, Tuomilehto J, Cao A, Collins FS, Lakatta E, Lathrop GM, Boehnke M, Schlessinger D, Mohlke KL, Abecasis GR. Newly identified loci that influence lipid concentrations and risk of coronary artery disease. *Nat Genet*. 2008;40:161-9.
- Willer CJ, Speliotes EK, Loos RJ, Li S, Lindgren CM, Heid IM, Berndt SI, Elliott AL, Jackson AU, Lamina C, Lettre G, Lim N, Lyon HN, McCarroll SA, Papadakis K, Qi L, Randall JC, Roca-Secca RM, Sanna S, Scheet P, Weedon MN, Wheeler E, Zhao JH, Jacobs LC, Prokopenko I, Soranzo N, Tanaka T, Timpson NJ, Almgren P, Bennett A, Bergman RN, Bingham SA, Bonnycastle LL, Brown M, Burt NP, Chines P, Coin L, Collins FS,

Connell JM, Cooper C, Smith GD, Dennison EM, Deodhar P, Elliott P, Erdos MR, Estrada K, Evans DM, Gianniny L, Gieger C, Gillson CJ, Guiducci C, Hackett R, Hadley D, Hall AS, Havulinna AS, Hebebrand J, Hofman A, Isomaa B, Jacobs KB, Johnson T, Jousilahti P, Jovanovic Z, Khaw KT, Kraft P, Kuokkanen M, Kuusisto J, Laitinen J, Lakatta EG, Luan J, Luben RN, Mangino M, McArdle WL, Meitinger T, Mulas A, Munroe PB, Narisu N, Ness AR, Northstone K, O'Rahilly S, Purmann C, Rees MG, Ridderstråle M, Ring SM, Rivadeneira F, Ruokonen A, Sandhu MS, Saramies J, Scott LJ, Scuteri A, Silander K, Sims MA, Song K, Stephens J, Stevens S, Stringham HM, Tung YC, Valle TT, Van Duijn CM, Vimalaswaran KS, Vollenweider P, Waeber G, Wallace C, Watanabe RM, Waterworth DM, Watkins N; Wellcome Trust Case Control Consortium, Witteman JC, Zeggini E, Zhai G, Zillikens MC, Altshuler D, Caulfield MJ, Chanock SJ, Farooqi IS, Ferrucci L, Guralnik JM, Hattersley AT, Hu FB, Jarvelin MR, Laakso M, Mooser V, Ong KK, Ouwehand WH, Salomaa V, Samani NJ, Spector TD, Tuomi T, Tuomilehto J, Uda M, Uitterlinden AG, Wareham NJ, Deloukas P, Frayling TM, Groop LC, Hayes RB, Hunter DJ, Mohlke KL, Peltonen L, Schlessinger D, Strachan DP, Wichmann HE, McCarthy MI, Boehnke M, Barroso I, Abecasis GR, Hirschhorn JN; Genetic Investigation of ANthropometric Traits Consortium. Six new loci associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation. *Nat Genet.* 2009;41:25-34.

Willett WC, Leibel RL. Dietary fat is not a major determinant of body fat. *Am J Med.* 2002;113:47S-59S.

Willett WC, Sacks F, Trichopoulou A, Drescher G, Ferro-Luzzi A, Helsing E, Trichopoulos D. Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. *Am J Clin Nutr.* 1995;61:1402S-1406S(a).

Willett WC, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz GA, Rosner B, Speizer FE, Hennekens CH. Weight, weight change, and coronary heart disease in women: risk within the "normal" weight range. *JAMA.* 1995;273:461-5(b).

Willi C, Bodenmann P, Ghali WA, Faris PD, Cornuz J. Active smoking and the risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *JAMA.* 2007;298:2654-64.

Williams CM, Kirkham TC. Anandamide induces overeating: mediation by central cannabinoid (CB1) receptors. *Psychopharmacology (Berl).* 1999; 143:315-317.

Williams DE, Prevost AT, Whichelow MJ, Cox BD, Day NE, Wareham NJ. A cross-sectional study of dietary patterns with glucose intolerance and other features of the metabolic syndrome. *Br J Nutr.* 2000;83:257-66.

Williams MJ, Hunter GR, Kekes-Szabo T, Snyder S, Treuth MS: Regional fat distribution in women and risk of cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* 1997;65:855-60.

Williamson DF, Madans J, Anda RF, Kleinman JC, Giovino GA, Byers T. Smoking cessation and severity of weight gain in a national cohort. *N Engl J Med.* 1991;324:739-45.

Williamson DF, Madans J, Pamuk E, Flegal KM, Kendrick JS, Serdula MK. A prospective study of childbearing and 10-year weight gain in US white women 25 to 45 years of age. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1994;18:561-9.

Willumsen N, Skorve J, Hexeberg S, Rustan AC, Berge RK. The hypotriglyceridemic effect of eicosapentaenoic acid in rats is reflected in increased mitochondrial fatty acid oxidation followed by diminished lipogenesis. *Lipids.* 1993;28:683-90.

Wilson PW, D'Agostino RB, Sullivan L, Parise H, Kannel WB. Overweight and obesity as determinants of cardiovascular risk: the Framingham experience. *Arch Intern Med.* 2002;162:1867-1872.

Wilt TJ, Shaikat A, Shamliyan T, Taylor BC, MacDonald R, Tacklind J, Rutks I, Schwarzenberg SJ, Kane RL, Levitt M. Lactose intolerance and health. *Evid Rep Technol Assess (Full Rep).* 2010;192:1-410.

Wisse BE, Schwartz MW. The skinny on neurotrophins. *Nat Neurosci.* 2003;6:655-6.

Wolf HK, Tuomilehto J, Kuulasmaa K, Domarkiene S, Cepaitis Z, Molarius A, Sans S, Dobson A, Keil U, Rywik S. Blood pressure levels in the 41 populations of the WHO MONICA Project. *J Hum Hypertens.* 1997;11:733-42.

- Wolf-Maier K, Cooper RS, Banegas JR, Giampaoli S, Hense HW, Joffres M, Kastarinen M, Poulter N, Primatesta P, Rodríguez-Artalejo F, Stegmayr B, Thamm M, Tuomilehto J, Vanuzzo D, Vescio F. Hypertension Prevalence and Blood Pressure Levels in 6 European Countries, Canada, and the United States. *JAMA*. 2003;289:2363-9.
- Wolk P, Kara T, Somers VK. Sleep-disordered breathing and cardiovascular disease. *Circulation*. 2003;108:9-12.
- Wong S, Reardon M, Nestel P. Reduced triglyceride formation from long-chain polyenoic fatty acids in rat hepatocytes. *Metabolism*. 1985;34:900-5.
- Woo JG, Dolan LM, Deka R, Kaushal RD, Shen Y, Pal P, Daniels SR, Martin LJ. Interactions between noncontiguous haplotypes in the adiponectin gene ACDC are associated with plasma adiponectin. *Diabetes*. 2006;55:523-9.
- Woods SC, Seeley RJ, Portre DJ, Schwartz MW. Signals that regulate food intake and energy homeostasis. *Science*. 1998; 280:1378-1382.
- Woods SC, D'Alessio DA. Central control of body weight and appetite. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:S37-50.
- Wortley KE, Chang GQ, Davydova Z, Leibowitz SF. Peptides that regulate food intake: orexin gene expression is increased during states of hypertriglyceridemia. *Am J Physiol Regul. Integr Comp Physiol*. 2003; 284: R1454-R1465.
- Wren AM, Small CJ, Abbott CR, Dhillon WS, Seal LJ, Cohen MA, Batterham RL, Taheri S, Stanley SA, Ghatei MA, Bloom SR. Ghrelin causes hyperphagia and obesity in rats. *Diabetes*. 2001; 50:2540-7.
- Wren AM, Small CJ, Ward HL, Murphy KG, Dakin CL, Taheri S, Kennedy AR, Roberts GH, Morgan DG, Ghatei MA, Bloom SR. The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion. *Endocrinology*. 2000;141:4325-8.
- Wright J, Kennedy Stephenson J, Wang C, McDowell M, Johnson C. Trends in intake of energy and macronutrients—United States, 1971–2000. *MMWR*. 2004;53:80-2.
- Wynne K, Park AJ, Small CJ, Meeran K, Ghatei MA, Frost GS, Bloom SR. 2006 Oxyntomodulin increases energy expenditure in addition to decreasing energy intake in overweight and obese humans: a randomised controlled trial. *Int J Obes (Lond)*. 2006;30:1729–36.
- Wynne K, Stanley S, McGowan B, Bloom S. Appetite control. *J Endocrinol*. 2005;184:291-318.
- Wynne K, Bloom SR. The role of oxyntomodulin and peptide tyrosine-tyrosine (PYY) in appetite control. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2006;2:612–20.
- Xu AW, Kaelin CB, Takeda K, Akira S, Schwartz MW, Barsh GS. PI3K integrates the action of insulin and leptin on hypothalamic neurons. *J Clin Invest*. 2005;115:951-8.
- Xu B, Goulding EH, Zang K, Cepoi D, Cone RD, Jones KR, Tecott LH, Reichardt LF. Brain-derived neurotrophic factor regulates energy balance downstream of melanocortin-4 receptor. *Nat Neurosci*. 2003;6:736-742.
- Xydakis AM, Case CC, Jones PH, Hoogeveen RC, Liu MY, Smith EO, Nelson KW, Ballantyne CM. Adiponectin, inflammation, and the expression of the metabolic syndrome in obese individuals: the impact of rapid weight loss through caloric restriction. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:2697-703.
- Yamada M, Wong LF, Kodama K, Sasaki H, Shimaoka K, Yamakido M. Longitudinal trends in total serum cholesterol levels in a Japanese cohort, 1958–1986. *J Clin Epidemiol*. 1997; 50: 425–34.
- Yamagishi SI, Edelstein D, Du XL, Kaneda Y, Guzmán M, Brownlee M. Leptin induces mitochondrial superoxide production and monocyte chemoattractant protein-1 expression in aortic endothelial cells by increasing fatty acid oxidation via protein kinase A. *J Biol Chem*. 2001;276:25096-100.

Yamamoto M, Otani M, Jia DM, et al. Differential mechanism and site of action of CCK on the pancreatic secretion and growth in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2003;285:G681-7.

Yamamoto Y, Hirose H, Saito I, Tomita M, Taniyama M, Matsubara K, Okazaki Y, Ishii T, Nishikai K, Saruta T. Correlation of the adipocyte-derived protein adiponectin with insulin resistance index and serum high-density lipoprotein-cholesterol, independent of body mass index, in the Japanese population. *Clin Sci (Lond).* 2002;103:137-42.

Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ide T, Murakami K, Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O, Akanuma Y, Gavrilova O, Vinson C, Reitman ML, Kagechika H, Shudo K, Yoda M, Nakano Y, Tobe K, Nagai R, Kimura S, Tomita M, Froguel P, Kadowaki T. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat Med.* 2001;7:941-6.

Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, Ito Y, Waki H, Uchida S, Yamashita S, Noda M, Kita S, Ueki K, Eto K, Akanuma Y, Froguel P, Foufelle F, Ferre P, Carling D, Kimura S, Nagai R, Kahn BB, Kadowaki T. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med.* 2002;8:1288-95.

Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, Sugiyama T, Miyagishi M, Hara K, Tsunoda M, Murakami K, Ohteki T, Uchida S, Takekawa S, Waki H, Tsuno NH, Shibata Y, Terauchi Y, Froguel P, Tobe K, Koyasu S, Taira K, Kitamura T, Shimizu T, Nagai R, Kadowaki T. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature.* 2003;423:762-9.

Yan Q, Radeke MJ, Matheson CR, Talvenheimo J, Welcher AA, Feinstein SC. Immunocytochemical localization of trkB in the central nervous system of the adult rat. *J Comp Neurol.* 1997;378:135-57.

Yang W, Kelly T, He J. Genetic epidemiology of obesity. *Epidemiol Rev.* 2007;29:49-61.

Yang WS, Lee WJ, Funahashi T, Tanaka S, Matsuzawa Y, Chao CL, Chen CL, Tai TY, Chuang LM. Plasma adiponectin levels in overweight and obese Asians. *Obes Res.* 2002;10:1104-10.

Yang WS, Tsou PL, Lee WJ, Tseng DL, Chen CL, Peng CC, Lee KC, Chen MJ, Huang CJ, Tai TY, Chuang LM. Allele-specific differential expression of a common adiponectin gene polymorphism related to obesity. *J Mol Med.* 2003;81:428-34.

Yang WS, Chuang LM. Human genetics of adiponectin in the metabolic syndrome. *J Mol Med.* 2006;84:112-121.

Yang WS, Yang YC, Chen CL, Wu IL, Lu JY, Lu FH, Tai TY, Chang CJ. Adiponectin SNP276 is associated with obesity, the metabolic syndrome, and diabetes in the elderly. *Am J Clin Nutr.* 2007;86:509-13.

Yannakoulia M, Yiannakouris N, Melistas L, Kontogianni MD, Malagaris I, Mantzoros CS. A dietary pattern characterized by high consumption of whole-grain cereals and low-fat dairy products and low consumption of refined cereals is positively associated with plasma adiponectin levels in healthy women. *Metabolism.* 2008;57:824-30.

Yeo GS, Farooqi IS, Aminian S, Halsall DJ, Stanhope RG, O'Rahilly S. A frameshift mutation in MC4R associated with dominantly inherited human obesity. *Nat Genet.* 1998;20:111-12.

Yiannakouris N, Melistas L, Yannakoulia M, Mungal K, Mantzoros CS. The-2548G/A polymorphism in the human leptin gene promoter region is associated with plasma free leptin levels; interaction with adiposity and gender in healthy subjects. *Hormones (Athens).* 2003;2:229-36.

Yiannakouris N, Yannakoulia M, Melistas L, Chan JL, Klimis-Zacas D, Mantzoros CS. The Q223R polymorphism of the leptin receptor gene is significantly associated with obesity and predicts a small percentage of body weight and body composition variability. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:4434-9.

Yokoi N, Kanamori M, Horikawa Y, Takeda J, Sanke T, Furuta H, Nanjo K, Mori H, Kasuga M, Hara K, Kadowaki T, Tanizawa Y, Oka Y, Iwami Y, Ohgawara H, Yamada Y, Seino Y, Yano H, Cox NJ, Seino S.

Association studies of variants in the genes involved in pancreatic beta-cell function in type 2 diabetes in Japanese subjects. *Diabetes*. 2006;55:2379-86.

Yokota T, Oritani K, Takahashi I, Ishikawa J, Matsuyama A, Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Tenner AJ, Tomiyama Y, Matsuzawa Y. Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages. *Blood*. 2000;96:1723-32.

Yoon MJ, Lee GY, Chung JJ, Ahn YH, Hong SH, Kim JB. Adiponectin increases fatty acid oxidation in skeletal muscle cells by sequential activation of AMP-activated protein kinase, p38 mitogen-activated protein kinase, and peroxisome proliferator-activated receptor. *Diabetes*. 2006;55:2562-70.

You T, Nicklas BJ, Ding J, Penninx BW, Goodpaster BH, Bauer DC, Tylavsky FA, Harris TB, Kritchevsky SB. For the health, aging and body composition study. The metabolic syndrome is associated with circulating adipokines in older adults across a wide range of adiposity. *J Gerontol Med Sci*. 2008;63:414-9.

Yu BP, Chung HY. Adaptive mechanisms to oxidative stress during aging. *Mech Ageing Dev*. 2006;127:436-43.

Yu Z, Ye X, Wang J, Qi Q, Franco OH, Rennie KL, Pan A, Li H, Liu Y, Hu FB, Lin X. Associations of physical activity with inflammatory factors, adipocytokines, and metabolic syndrome in middle-aged and older chinese people. *Circulation*. 2009;119:2969-77.

Yudkin JS. Adipose tissue, insulin action and vascular disease: inflammatory signals. *Int J Obes*. 2003;27:25-28.

Zacharova J, Chiasson JL, Laakso M; STOP-NIDDM Study Group. The common polymorphisms (single nucleotide polymorphism [SNP] +45 and SNP +276) of the adiponectin gene predict the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes: the STOP-NIDDM trial. *Diabetes*. 2005;54:893-9.

Zambón D, Sabaté J, Muñoz S, Campero B, Casals E, Merlos M, Laguna JC, Ros E. Substituting walnuts for monounsaturated fat improves the serum lipid profile of hypercholesterolemic men and women. A randomized crossover trial. *Ann Intern Med*. 2000;132:538-46.

Zechner R, Strauss J, Frank S, Wagner E, Hofmann W, Kratky D, Hiden M, Levak-Frank S. The role of lipoprotein lipase in adipose tissue development and metabolism. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2000;24:S53-6.

Zeggini E, Scott LJ, Saxena R, Voight BF, Marchini JL, Hu T, de Bakker PI, Abecasis GR, Almgren P, Andersen G, Ardlie K, Boström KB, Bergman RN, Bonnycastle LL, Borch-Johnsen K, Burtt NP, Chen H, Chines PS, Daly MJ, Deodhar P, Ding CJ, Doney AS, Duren WL, Elliott KS, Erdos MR, Frayling TM, Freathy RM, Gianniny L, Grallert H, Grarup N, Groves CJ, Guiducci C, Hansen T, Herder C, Hitman GA, Hughes TE, Isomaa B, Jackson AU, Jørgensen T, Kong A, Kubalanza K, Kuruvilla FG, Kuusisto J, Langenberg C, Lango H, Lauritzen T, Li Y, Lindgren CM, Lyssenko V, Marville AF, Meisinger C, Midthjell K, Mohlke KL, Morken MA, Morris AD, Narisu N, Nilsson P, Owen KR, Palmer CN, Payne F, Perry JR, Pettersen E, Platou C, Prokopenko I, Qi L, Qin L, Rayner NW, Rees M, Roix JJ, Sandbaek A, Shields B, Sjögren M, Steinthorsdottir V, Stringham HM, Swift AJ, Thorleifsson G, Thorsteinsdottir U, Timpson NJ, Tuomi T, Tuomilehto J, Walker M, Watanabe RM, Weedon MN, Willer CJ, Wellcome Trust Case Control Consortium, Illig T, Hveem K, Hu FB, Laakso M, Stefansson K, Pedersen O, Wareham NJ, Barroso I, Hattersley AT, Collins FS, Groop L, McCarthy MI, Boehnke M, Altshuler D. Meta-analysis of genome-wide association data and large-scale replication identifies additional susceptibility loci for type 2 diabetes. *Nat Genet*. 2008;40:638-45.

Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone L, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994;372:425-432.

Zhang JV, Ren PG, Avsian-Kretschmer O, Luo CW, Rauch R, Klein C, Klein C, Hsueh AJ. Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science*. 2005;310:996-9.

Zhang Z, Lanza E, Ross AC, Albert PS, Colburn NH, Rovine MJ, Bagshaw D, Ulbrecht JS, Hartman TJ. A high-legume low-glycemic index diet reduces fasting plasma leptin in middle-aged insulin-resistant and -sensitive men. *Eur J Clin Nutr*. 2011;65:415-8.

Zhao AZ, Huan JN, Gupta S, Pal R, Sahu A. A phosphatidylinositol 3-kinase phosphodiesterase 3B-cyclic AMP pathway in hypothalamic action of leptin on feeding. *Nat Neurosci.* 2002; 5:727–8.

Zhao C, Dahlman-Wright K. Liver X receptor in cholesterol metabolism. *J Endocrinol.* 2010;204:233-40.

Zhao YF, Feng DD, Chen C. Contribution of adipocyte-derived factors to betacell dysfunction in diabetes. *Int J Biochem Cell Biol.* 2006;38:804–19.

Zhu S, Heymsfield SB, Toyoshima H, Wang Z, Pietrobelli A, Heshka S. Race-ethnicity-specific waist circumference cutoffs for identifying cardiovascular disease risk factors. *Am J Clin Nutr.* 2005;81:409–15.

Ziccardi P, Nappo F, Giugliano G, Esposito K, Marfella R, Cioffi M, D'Andrea F, Molinari AM, Giugliano D. Reduction of inflammatory cytokine concentrations and improvement of endothelial functions in obese women after weight loss over one year. *Circulation.* 2002;105:804-9.

Ziegler O, Quilliot D, Guerci B, Drouin P. Macronutriments, masse grasse, flux d'acides gras et insulinosensibilité. *Diabetes Metabol.* 2001;27:261-70.

Zingman LV, Hodgson DM, Bast PH, Kane GC, Perez-Terzic C, Gumina RJ, Pucar D, Bienengraeber M, Dzeja PP, Miki T, Seino S, Alekseev AE, Terzic A. Kir6.2 is required for adaptation to stress. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99:13278-83.

Zobel DP, Andreasen CH, Grarup N, Eiberg H, Sørensen TI, Sandbaek A, Lauritzen T, Borch-Johnsen K, Jørgensen T, Pedersen O, Hansen T. Variants near MC4R are associated with obesity and influence obesity-related quantitative traits in a population of middle-aged people: studies of 14,940 Danes. *Diabetes.* 2009;58:757-64.

Zondervan KT, Cardon LR. The complex interplay among factors that influence allelic association. *Mat Rev Genet.* 2004;5:89-100.

Figura 1.1. Distribución geográfica de la prevalencia de sobrepeso en el mundo (Global Database on Body Mass Index, OMS, 2010. http://apps.who.int/bmi/index.jsp (b))	27
Figura 1.2. Distribución geográfica de la prevalencia de obesidad en Europa A. en hombres y B. en mujeres obtenido a partir de estudios realizados en cada uno de los países en los últimos quince años (Berghöfer A et al, 2008).....	28
Figura 1.3. Prevalencia de obesidad (%) y por las distintas áreas de la geografía española en función del sexo, proporcionado por el estudio DORICA (Aranceta J et al, 2004).....	30
Figura 1.4. Representación esquemática de los procesos de lipogénesis y lipogenolisis. (Vázquez-Vela ME et al, 2008).....	38
Figura 1.5. Representación esquemática de las múltiples adipocitoquinas secretadas por el tejido adiposo blanco y la implicación que presentan con enfermedades inflamatorias o autoinmunes (Gómez R et al, 2009).	40
Figura 1.6. Estructura propuesta para los receptores de la adiponectina, ADIPOR1 y ADIPOR2, respectivamente (Kadowaki T et al, 2006)	48
Figura 1.7. Representación esquemática de la acción de la adiponectina en el hígado, músculo esquelético, arterias coronarias y sobre el control hipotalámico de la ingesta y el gasto energético (Bonet ML et al, 2009)	51
Figura 1.8. Representación esquemática de las diferentes señales que influyen en la regulación del apetito (Woods SC et al, 2008)	58
Figura 1.9. Representación esquemática de cómo fumar podría sumarse a varios mecanismos que vinculan la obesidad con la enfermedad cardiovascular. Ambos, obesidad abdominal y tabaco se asocian con resistencia a la insulina, estrés oxidativo y aumento de diferentes adipocitoquinas, todo lo cual conduce a la disfunción endotelial. Las flechas rojas indican el efecto de fumar (Van Gaal LF et al, 2006).....	63
Figura 1.10. Pirámide nutricional propuesta por USDA en 2005.....	67
Figura 1.11. Pirámide de la Alimentación Saludable (SENC, 2004)	68
Figura 1.12. Pirámide de Dieta Mediterránea Tradicional Óptima (Willett W et al, 1995(a))	72

Figura 1.13. Algunos de los genes involucrados en la regulación del peso corporal en función del proceso en el que se han visto relacionados (Martí A et al, 2004).....	79
Figura 1.14. Representación de las principales complicaciones clínicas asociadas con la obesidad (Modificado de Jebb S, 2004)	90
Figura 1.15. Representación esquemática de la interacción gen*ambiente en la obesidad (Marti A et al, 2004).....	103
Figura 1.16. Representación del objetivo de estudio de la nutrigenética y la nutrigenómica (Mutch DM et al, 2005).....	107
Figura 3.1. Identificador de los participantes incluido en cada cuestionario.....	119
Figura 3.2. Representación esquemática del gen de la adiponectina (ADIPOQ), se muestran la posición de cada uno de los polimorfismos objeto de estudio de este gen, así como una pequeña región de la secuencia flanqueante, con la secuencia salvaje (base subrayada) y la secuencia mutada.....	134
Figura 3.3. En esta figura se muestra como la sonda con la secuencia complementaria al DNA molde se une de manera específica y durante la elongación la polimerasa ejerce su actividad 5' exonucleasa permitiendo la liberación del fluorocromo y consecuentemente la emisión de fluorescencia. Modificado del TaqMan SNP Genotyping Assays Protocol.....	140
Figura 3.4. A la izquierda se muestra los instrumentos que componen la plataforma 7900HT Fast Real-Tiem PCR. A al derecha los gráficos que proporciona el programa SDS 2.3 en A) para la detección cuantitativa (arriba) en la PCR, y B) para la detección cualitativa (abajo) en la discriminación alélica de fluorescencia.....	141
Figura 3.5. Instrumentos que componen la plataforma TaqMan Openarray Genotyping. De izquierda a derecha: Ordenador con software SNP OpenArray Genotyping, OpenArray NT Imager, dispensador para cargar las matrices, sellador de matrices y termociclador para matrices de OpenArray.	143
Figura 3.6. Matriz de OpenArray compuesta por 48 submatrices 8x8 y 3072 micropocillos. Cada pocillo tiene una parte hidrofílica para atraer la mezcla de ADN y MasterMix y una parte hidrofóbica que la repele. Se introducen 33 nL de volumen final de reacción en cada micropocillo. En esta matriz se pueden genotipar 64 polimorfismos de 48 muestras de ADN.	146
Figura 4.1. Prevalencia del rango de obesidad en función del sexo	160
Figura 4.2. Representación del riesgo de obesidad (OR) asociado a la adherencia a la Dieta Mediterránea en la muestra estudiada tras ajustar por sexo y edad, y según el sexo tras ajustar por edad.	165
Figura 4.3. Valores medios de adiponectina plasmática en la población estudiada en función de padecer o no obesidad, DMT2, la hipercolesterolemia e HTA.....	182

Figura 4.4. Valores medios de leptina plasmática en la población estudiada en función de padecer o no obesidad, DMT2, la hipercolesterolemia e HTA.	183
Figura 4.5. Valores medios de AGNE plasmáticos en la población estudiada en función de padecer o no obesidad, DMT2, la hipercolesterolemia e HTA.	184
Figura 4.6. Media de concentración de adiponectina (a la izquierda) y de AGNE (a la derecha) en hombres y mujeres según el genotipo del polimorfismo rs2241766 del gen ADIPOQ.....	195
Figura 4.7. Media de concentración de glucosa (a la izquierda) y de leptina (a la derecha) en obesos y no obesos según el genotipo del polimorfismo rs17366743 del gen ADIPOQ.....	198
Figura 4.8. Gráfico de desequilibrio de ligamiento entre los polimorfismos rs17300539, rs17366568, rs1501299, rs2241766 y rs17366743 del gen ADIPOQ y tabla con los parámetros medidos para el desequilibrio de ligamiento entre polimorfismos.....	200
Figura 4.9. Efecto del genotipo portadores del alelo mutado A frente a los homocigotos salvajes del rs17300539 y del homocigoto mutados frente al salvaje del rs1501299 y del haplotipo de estos genotipos sobre el peso, IMC, cintura y los niveles plasmáticos de adiponectina en la población estudiada.	203
Figura 4.10. Media de concentración de leptina en hombres y mujeres según el genotipo del polimorfismo rs7799039 del gen LEP	209
Figura 4.11. Media de concentración de leptina en no obesos y obesos según el genotipo del polimorfismo rs7799039 del gen LEP	210
Figura 4.12. Media de concentración de leptina y peso en hombres y mujeres según el genotipo del polimorfismo rs806381 del gen CNR1	228
Figura 4.13. Media de concentración de leptina y peso en hombres y mujeres según el genotipo del polimorfismo rs6454674 del gen CNR1	229
Figura 4.14. Gráfico de desequilibrio de ligamiento entre los polimorfismos rs806381 y rs6454674 del gen CNR1 y tabla con los parámetros medidos para el desequilibrio de ligamiento entre polimorfismos	230
Figura 4.15. Efecto del genotipo homocigoto mutado frente al homocigoto salvaje y del haplotipo de estos genotipos sobre el IMC y los niveles plasmáticos de leptina, de los polimorfismos rs806381 y rs6454674 del CNR1 en la población estudiada.	232
Figura 4.16. Gráfico de desequilibrio de ligamiento entre los polimorfismos rs5219 del gen KCNJ11 y el rs757110 del gen ABCC8 y tabla con los parámetros medidos para el desequilibrio de ligamiento entre polimorfismos	243
Figura 4.17. Media de concentración de AGNE en hombres y en mujeres según el genotipo del polimorfismo rs1761667 del gen CD36.....	255

Figura 4.18. Gráfico de desequilibrio de ligamiento entre los polimorfismos rs1761667 y rs2151916 del gen CD36 y tabla con los parámetros medidos para el desequilibrio de ligamiento entre polimorfismos	255
Figura 4.19. Gráfico de desequilibrio de ligamiento entre los polimorfismos rs3812316 y rs17145738 y tabla con los parámetros medidos para el desequilibrio de ligamiento entre polimorfismos.....	261
Figura 4.20. Efecto del genotipo homocigoto salvaje frente al portador del alelo mutado y del haplotipo de estos genotipos sobre el peso, la cintura, los niveles plasmáticos de adiponectina y triglicéridos de los polimorfismos rs17145738 y rs3812316 en la población estudiada.	263
Figura 4.21. Media de concentración de c-HDL (izquierda) y de IMC (derecha) entre individuos fumadores y no fumadores según el genotipo del polimorfismo rs4684677 en la población estudiada.....	269
Figura 4.22. Media de peso en individuos sedentarios y no sedentarios según el genotipo del polimorfismo rs7799039 en la población estudiada.	274
Figura 4.23. Media de peso (izquierda) y de concentración de glucosa (derecha) en individuos sedentarios y no sedentarios según el genotipo del polimorfismo rs1044498 en la población estudiada.	275
Figura 4.24. Media de IMC en individuos que consumen frutos secos 3 o más veces o menos de 3 veces a la semana según el genotipo del polimorfismo rs1058046 en la población estudiada.	281
Figura 4.25. Media de concentración de IMC y leptina en individuos que consumen menos de 2 veces o 2 o más veces al día verduras u hortalizas según el genotipo del polimorfismo rs806381 del gen CNR1	283
Figura 4.26. Media de concentración de IMC y leptina en individuos que consumen menos de 2 veces o 2 o más veces al día verduras u hortalizas según el genotipo del polimorfismo rs6454674 del gen CNR1	284
Figura 4.27. Valores de IMC en individuos que consumen productos lácteos con las frecuencias $\leq 12,5$ veces por semana, 13,0-20,0 veces por semana y $\geq 20,5$ veces por semana según el polimorfismo rs3754686 del gen MCM6	290
Figura 4.28. Valor medio del perímetro de la cintura (cm) según el genotipo de los polimorfismos rs572169 del gen GHSR y rs17782313 del gen MC4R en la población estudiada.	295
Figura 4.29. Valor medio del IMC (kg/m ²) según el genotipo de los polimorfismos rs806381 del gen CNR1 y rs17782313 del gen MC4R en la población estudiada.....	296
Figura 4.30. Valor medio del IMC (kg/m ²) según el genotipo de los polimorfismos rs6454764 del gen CNR1 y rs17782313 del gen MC4R en la población estudiada.....	297

-
- Figura 4.31. Estudio de nuevos polimorfismos en los tres exones del gen ADIPOQ. A. Secuencia de un individuo portador de la mutación rs17366653 en heterocigosis. B. Secuencia de un individuo portador de la mutación rs2241766 en heterocigosis. C. Secuencia de un individuo portador de la mutación rs17366743 también en heterocigosis.....299

9

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Criterios para definir la obesidad según la OMS en función del IMC (OMS, 1998).....	21
Tabla 1.2. Criterios para clasificar el sobrepeso y la obesidad según la SEEDO en función del IMC (SEEDO, 2000).....	21
Tabla 3.1. Número de participantes incluidos en el estudio PREDIMED del nodo de Valencia en cada provincia de la Comunidad Valenciana.	120
Tabla 3.2. Secuencia de oligonucleótidos, temperatura de anillamiento, ciclos de amplificación, y tamaño de los fragmentos de ADN amplificados mediante PCR.	137
Tabla 3.3. Enzimas utilizadas, secuencia de corte y fragmentos obtenidos tras la digestión del producto de amplificación para el cribado de las variantes en los genes de interés.....	138
Tabla 3.4. Referencia de las TaqMan SNP Genotyping Assay de Applied Biosystems para cada polimorfismo genotipado con 7900HT Fast Real-Time PCR.....	142
Tabla 3.5. Condiciones de amplificación en el 7900HT Fast Real-Time PCR	142
Tabla 3.6. Porcentaje de resultados concordantes de cada genotipo y en general al comparar los resultados obtenidos mediante las plataformas 7900HT y OpenArray de los polimorfismos rs1300539 del gen ADIPOQ, rs1044498 del gen ENPP1 y rs5219 del gen KCNJ11.	144
Tabla 3.7. Referencia de las TaqMan SNP Genotyping Assay de Applied Biosystems para cada polimorfismo genotipado con TaqMan Openarray Genotyping.....	145
Tabla 3.8. Listado de primers utilizados en este trabajo para la amplificación de los tres exones del gen de la adiponectina, T ^a de anillamiento y tamaño del amplificado.....	148
Tabla 4.1. Características antropométricas y bioquímicas de la población estudiada y en comparación por sexo.....	156
Tabla 4.2. Características clínicas de la población estudiada y en comparación por sexo.	157
Tabla 4.3. Características antropométricas y bioquímicas de la población estudiada en relación a la obesidad	158

Tabla 4.4. Valores de porcentaje de individuos según en nivel de estudios en la población estudiada y en función del sexo y la obesidad.	160
Tabla 4.5. Valores de porcentaje de individuos según su consumo de tabaco en la población estudiada y en función del sexo y la obesidad.	161
Tabla 4.6. Diferencias en parámetros antropométricos, niveles plasmáticos de lípidos y tensión arterial entre fumadores y no fumadores en la población estudiada...	162
Tabla 4.7. Diferencias en parámetros antropométricos, niveles plasmáticos de lípidos y tensión arterial entre sedentarios y no sedentarios en la población estudiada.	163
Tabla 4.8. Diferencias en parámetros antropométricos, niveles plasmáticos de lípidos y tensión arterial entre individuos que consumen una dieta con elevado o bajo grado de adherencia a la DM en la población estudiada.....	166
Tabla 4.9. Niveles medios de adiponectina, leptina y AGNE en la población estudiada y en comparación con el sexo.....	167
Tabla 4.10. Coeficiente de correlación entre adiponectina, leptina y AGNE con parámetros antropométricas y bioquímicos en la población estudiada.	168
Tabla 4.11. Coeficiente de correlación entre adiponectina y parámetros antropométricos y bioquímicos de la población estudiada según el sexo.....	169
Tabla 4.12. Coeficiente de correlación entre leptina y parámetros antropométricos y bioquímicos de la población estudiada según el sexo.....	170
Tabla 4.13. Coeficiente de correlación entre AGNE y parámetros antropométricos y bioquímicos de la población estudiada según el sexo.....	171
Tabla 4.14. Coeficiente de correlación entre adiponectina y perímetro de la cintura y parámetros bioquímicos de la población estudiada según el grado de obesidad.....	172
Tabla 4.15. Coeficiente de correlación entre leptina y perímetro de la cintura y parámetros bioquímicos de la población estudiada según el grado de obesidad.....	173
Tabla 4.16. Coeficiente de correlación entre AGNE y perímetro de la cintura y parámetros bioquímicos de la población estudiada según el grado de obesidad.....	174
Tabla 4.17. Valores medios de adiponectina, leptina y AGNE según la influencia de factores ambientales en la población estudiada.	176
Tabla 4.18. Valores medios de concentración de adiponectina, leptina y AGNE según la frecuencia de consumo de lácteos y aceite de oliva virgen en la población estudiada.....	178
Tabla 4.19. Valores medios de concentración de adiponectina, leptina y AGNE según la frecuencia de consumo de carnes rojas, pescados y legumbres en la población estudiada.	179

Tabla 4.20. Valores medios de concentración de adiponectina, leptina y AGNE según la frecuencia de consumo de verduras, frutas, repostería comercial, frutos secos y vino en la población estudiada.....	180
Tabla 4.21. Frecuencias genotípicas de los polimorfismos rs17300539, rs17366568, rs1501299, rs2241766 y rs17366743 del gen ADIPOQ en la población estudiada y según el sexo.....	186
Tabla 4.22. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina, AGNE y marcadores de inflamación (PCR, ICAM-1, VCAM-1, IL-6) según el genotipo del polimorfismo rs17300539 del gen ADIPOQ en la población estudiada.....	187
Tabla 4.23. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y glucosa según el genotipo del polimorfismo rs17300539 del gen ADIPOQ en la población estudiada.....	188
Tabla 4.24. Valores de concentración de adiponectina según el genotipo del polimorfismo rs17300539 del gen ADIPOQ en función del sexo y la obesidad en la población estudiada.....	189
Tabla 4.25. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina, AGNE y marcadores de inflamación (PCR, ICAM-1, VCAM-1, IL-6) según el genotipo del polimorfismo rs17366568 del gen ADIPOQ en la población estudiada.....	190
Tabla 4.26. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y glucosa según el genotipo del polimorfismo rs17366568 del gen ADIPOQ en la población estudiada.....	191
Tabla 4.27. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina, AGNE y marcadores de inflamación (PCR, ICAM-1, VCAM-1, IL-6) según el genotipo del polimorfismo rs1501299 del gen ADIPOQ en la población estudiada.....	192
Tabla 4.28. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y glucosa según el genotipo del polimorfismo rs1501299 del gen ADIPOQ en la población estudiada.....	193
Tabla 4.29. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina, AGNE y marcadores de inflamación (PCR, ICAM-1, VCAM-1, IL-6) según el genotipo del polimorfismo rs2241766 del gen ADIPOQ en la población estudiada.....	194
Tabla 4.30. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y glucosa según el genotipo del polimorfismo rs2241766 del gen ADIPOQ en la población estudiada.....	194
Tabla 4.31. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina, AGNE y marcadores de inflamación según el genotipo del polimorfismo rs17366743 del gen ADIPOQ en la población estudiada.....	196

Tabla 4.32. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y glucosa según el genotipo del polimorfismo rs17366743 del gen ADIPOQ en la población estudiada.....	197
Tabla 4.33. Análisis del riesgo de obesidad y diabetes según el genotipo de los diferentes polimorfismos analizados del gen ADIPOQ en la población estudiada.....	199
Tabla 4.34. Valores medios de peso, IMC, cintura y adiponectina según el haplotipo formado por el doble homocigoto salvaje GG frente al haplotipo mutado portadores A de los polimorfismos rs17300539 y rs17366568 en la población estudiada.....	201
Tabla 4.35. Valores medios de peso, IMC, cintura y adiponectina según el haplotipo formado por el doble homocigoto salvaje GG frente al haplotipo mutado portadores A-TT de los polimorfismos rs17300539 y rs1501299 en la población estudiada.....	202
Tabla 4.36. Valores medios de peso, IMC, cintura, adiponectina y glucosa según el haplotipo formado por el doble homocigoto salvaje GGTT frente al haplotipo de los portadores de los alelos mutados de los polimorfismos rs1501299 (T) y rs2241766 (G) en la población estudiada.....	204
Tabla 4.37. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs6666089 del gen ADIPOR1 en la población total y comparando por sexo.....	204
Tabla 4.38. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina, AGNE y marcadores de inflamación (PCR, ICAM-1, VCAM-1, IL-6) según el genotipo del polimorfismo rs6666089 del gen ADIPOR1 en la población estudiada.....	205
Tabla 4.39. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y de glucosa según el genotipo del polimorfismo rs6666089 del gen ADIPOR1 en la población estudiada.....	206
Tabla 4.40. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs7799039 del gen LEP en la población total y comparando por sexo.....	207
Tabla 4.41. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina, AGNE y marcadores de inflamación (PCR, ICAM-1, VCAM-1, IL-6) según el genotipo del polimorfismo rs7799039 del gen LEP en la población estudiada.....	207
Tabla 4.42. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y glucosa según el genotipo del polimorfismo rs7799039 del gen LEP en la población estudiada.....	208
Tabla 4.43. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs1137101 del gen RLEP en la población total y comparando por sexo.....	210
Tabla 4.44. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina, AGNE y marcadores de inflamación (PCR, ICAM-1,	

VCAM-1, IL-6) según el genotipo del polimorfismo rs1137101 del gen RLEP en la población estudiada.....	211
Tabla 4.45. Análisis del riesgo de obesidad según el genotipo del polimorfismo rs1137101 del gen RLEP.....	212
Tabla 4.46. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y glucosa según el genotipo del polimorfismo rs1137101 del gen RLEP en la población estudiada.....	212
Tabla 4.47. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs4684677 del gen GHRL en la población total y comparando por sexo.....	214
Tabla 4.48. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs4684677 del gen GHRL en la población estudiada.....	214
Tabla 4.49. Análisis del riesgo de obesidad según el genotipo del polimorfismo rs4684677 del gen GHRL.....	215
Tabla 4.50. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG), glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del polimorfismo rs4684677 del gen GHRL en la población estudiada.....	216
Tabla 4.51. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs572169 del gen GHSR en la población total y comparando por sexo.....	217
Tabla 4.52. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs572169 del gen GHSR en la población estudiada.....	218
Tabla 4.53. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG), glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del rs572169 del gen GHSR en la población estudiada.....	218
Tabla 4.54. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs1058046 del gen PYY en la población total y comparando por sexo.....	219
Tabla 4.55. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs1058046 del gen PYY en la población estudiada.....	219
Tabla 4.56. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG), glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del polimorfismo rs1058046 del gen PYY en la población estudiada.....	220
Tabla 4.57. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs17782313 del gen MC4R en la población total y comparando por sexo.....	221
Tabla 4.58. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs17782313 del gen MC4R en la población estudiada.....	222

Tabla 4.59. Análisis del riesgo de obesidad según el genotipo del polimorfismo rs17782313 del gen MC4R.....	222
Tabla 4.60. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG), glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del rs17782313 del gen MC4R en la población estudiada.....	223
Tabla 4.61. Frecuencias genotípicas de los polimorfismos rs806381 y rs6454674 del gen CNR1 en la población total y comparando por sexo.	224
Tabla 4.62. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs806381 del gen CNR1 en la población estudiada.	225
Tabla 4.63. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs6454674 del gen CNR1 en la población estudiada.	225
Tabla 4.64. Análisis del riesgo de obesidad según el genotipo de los polimorfismos rs806381 y rs6454674 del gen CNR1.....	226
Tabla 4.65. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG), glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del polimorfismo rs806381 del gen CNR1 en la población estudiada.....	227
Tabla 4.66. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG), glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del polimorfismo rs6454674 del gen CNR1 en la población estudiada.....	227
Tabla 4.67. Valores medios de IMC y leptina plasmática según el haplotipo salvaje y mutado de los polimorfismos rs806381 y rs6454674 del gen CNR1 en la población estudiada.....	231
Tabla 4.68. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs925946 del gen BDNF en la población total y comparando por sexo.....	232
Tabla 4.69. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs925946 del gen BDNF en la población estudiada.....	233
Tabla 4.70. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG), glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del rs925946 del gen BDNF en la población estudiada.....	234
Tabla 4.71. Análisis del riesgo de obesidad e hipertensión según el genotipo del polimorfismo rs925946 del gen BDNF.	235
Tabla 4.72. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs2880411 del gen NPY2R en la población total y comparando por sexo.....	235
Tabla 4.73. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs2880411 del gen NPY2R en la población estudiada.....	236

Tabla 4.74. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG), glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del rs2880411 del gen NPY2R en la población estudiada.	237
Tabla 4.75. Frecuencias genotípicas del polimorfismo E23K, rs5219 del gen KCNJ11 en la población total y comparando por sexo.	238
Tabla 4.76. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs5219 del gen KCNJ11 en la población estudiada.	239
Tabla 4.77. Niveles plasmáticos de colesterol total, triglicéridos, glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del polimorfismo rs5219 del gen KCNJ11 en la población estudiada.	239
Tabla 4.78. Análisis del riesgo de DMT2 e hipertensión según el genotipo del polimorfismo rs5219 del gen KCNJ11.	240
Tabla 4.79. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs757110 del gen ABCC8 en la población total y comparando por sexo.	241
Tabla 4.80. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs757110 del gen ABCC8 en la población estudiada.	241
Tabla 4.81. Niveles plasmáticos de colesterol total, triglicéridos, glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del polimorfismo rs757110 del gen ABCC8 en la población estudiada.	242
Tabla 4.82. Análisis del riesgo de DMT2 e hipertensión según el genotipo del polimorfismo rs757110 del gen ABCC8.	243
Tabla 4.83. Valores medios de PAS y PAD según el haplotipo formado por el haplotipo doble homocigoto por el haplotipo formado por los portadores de los alelos mutados de los polimorfismos rs5219 y rs757110 en la población estudiada.	244
Tabla 4.84. Análisis del riesgo de DMT2 e hipertensión según el haplotipo formado por los portadores de los alelos mutados frente al haplotipo doble homocigoto salvaje de los polimorfismos rs5219 y rs757110 en la población estudiada.	245
Tabla 4.85. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs1044498 del gen ENPP1 en la población total y comparando por sexo.	245
Tabla 4.86. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs1044498 del gen ENPP1 en la población estudiada.	246
Tabla 4.87. Niveles plasmáticos de colesterol total, triglicéridos, glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del rs1044498 del gen ENPP1 en la población estudiada.	247
Tabla 4.88. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs7961581 del gen TSPAN8/LGR5 en la población total y comparando por sexo.	248

Tabla 4.89. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs7961581 del gen TSPAN8/LGR5 en la población estudiada.....	248
Tabla 4.90. Niveles plasmáticos de colesterol total, triglicéridos, glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del polimorfismo rs7961581 del gen TSPAN8/LGR5 en la población estudiada.	249
Tabla 4.91. Análisis del riesgo de DMT2 según el genotipo del polimorfismo rs7961581 del gen TSPAN8/LGR5.....	250
Tabla 4.92. Frecuencias genotípicas de los polimorfismos rs1761667 y rs2151916 del gen CD36 en la población total y comparando por sexo.	251
Tabla 4.93. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs1761667 del gen CD36 en la población estudiada.....	251
Tabla 4.94. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs2151916 del gen CD36 en la población estudiada.....	252
Tabla 4.95. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y glucosa según el genotipo del polimorfismo rs1761667 del gen CD36 en la población estudiada.....	253
Tabla 4.96. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG), glucosa y de presión arterial (PAS, PAD) según el genotipo del polimorfismo rs2151916 del gen CD36 en la población estudiada.....	253
Tabla 4.97. Análisis del riesgo de DMT2 según el genotipo de los polimorfismos rs1761667 y rs2151916 del gen CD36.	254
Tabla 4.98. Valores medios de AGNE y c-LDL según el haplotipo formado por los homocigotos de mayor prevalencia (AA y TT) frente al haplotipo formado por los homocigotos de menor prevalencia (GG y CC) de los polimorfismos rs1711667 y rs2151916 del gen CD36 respectivamente en la población estudiada.....	256
Tabla 4.99. Frecuencias genotípicas de los polimorfismos rs3812316 y rs17145738 del gen MLXIPL en la población total y comparando por sexo.....	257
Tabla 4.100. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs3812316 del gen MLXIPL en la población estudiada.....	258
Tabla 4.101. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs17145738 del gen MLXIPL en la población estudiada.....	258
Tabla 4.102. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y glucosa según el genotipo del rs3812316 del gen MLXIPL en la población estudiada.	259

Tabla 4.103. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y glucosa según el genotipo del rs17145738 del gen MLXIPL en la población estudiada.	259
Tabla 4.104. Análisis del riesgo de obesidad e hipercolesterolemia según el genotipo de los polimorfismos rs3812316 y rs17145738 del gen MLXIPL.	260
Tabla 4.105. Valores medios de peso, cintura, adiponectina y triglicéridos según el haplotipo formado por el doble homocigoto salvaje frente a los portadores de los alelos mutados de los polimorfismos rs3812316 y rs17145738 en la población estudiada.	262
Tabla 4.106. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs3754686 del gen MCM6 en la población total y comparando por sexo.	263
Tabla 4.107. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs3754686 del gen MCM6 en la población estudiada.	264
Tabla 4.108. Análisis del riesgo de obesidad según el genotipo del polimorfismo rs3754686 del gen MCM6.	265
Tabla 4.109. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y glucosa según el genotipo del polimorfismo rs3754686 del gen MCM6 en la población estudiada.	265
Tabla 4.110. Frecuencias genotípicas del polimorfismo rs7120118 del gen NR1H3 en la población total y comparando por sexo.	266
Tabla 4.111. Variables antropométricas (edad, peso, IMC, cintura), niveles de adiponectina, leptina y AGNE según el genotipo del polimorfismo rs7120118 del gen NR1H3 en la población estudiada.	266
Tabla 4.112. Niveles plasmáticos de lípidos (CT, c-LDL, c-HDL, TG) y glucosa según el genotipo del rs7120118 del gen NR1H3 en la población estudiada.	267
Tabla 4.113. Riesgo de obesidad asociado al polimorfismo rs4684677 del gen de GHRL en individuos fumadores y no fumadores en la población estudiada.	269
Tabla 4.114. Interacción entre el polimorfismo rs17782313 del gen MC4R y consumo de tabaco sobre los niveles de AGNE en la población estudiada.	270
Tabla 4.115. Interacción entre el polimorfismo rs925946 del gen BDNF y consumo de tabaco sobre el perímetro de la cintura en la población estudiada.	271
Tabla 4.116. Interacción entre el polimorfismo rs2241766 del gen ADIPOQ y la actividad física sobre el peso en la población estudiada.	272
Tabla 4.117. Interacción entre el polimorfismo rs17366743 del gen ADIPOQ y la actividad física sobre la concentración de glucosa en la población estudiada.	273
Tabla 4.118. Interacción entre el polimorfismo rs17300539 del gen ADIPOQ y la adherencia a la DM sobre el peso en la población estudiada.	276

Tabla 4.119. Interacción entre el polimorfismo rs17300539 del gen ADIPOQ y el consumo de legumbres sobre el peso y la concentración de adiponectina en la población estudiada.	277
Tabla 4.120. Interacción entre el haplotipo de los polimorfismos rs17300539 y rs1501299 del gen ADIPOQ y el consumo de legumbres sobre el peso, IMC, perímetro de la cintura y la concentración de adiponectina en la población estudiada.	278
Tabla 4.121. Riesgo de obesidad asociado el haplotipo de los polimorfismos rs17300539 y rs1501299 del gen ADIPOQ según la frecuencia de consumo de legumbres en la población estudiada.	279
Tabla 4.122. Interacción entre el polimorfismo rs17366743 del gen ADIPOQ y el uso de aceite de oliva principalmente para cocinar sobre la concentración de glucosa en la población estudiada.....	280
Tabla 4.123. Riesgo de obesidad asociado al polimorfismo rs1058046 del gen PYY en individuos según la frecuencia de consumo de frutos secos en la población estudiada.	281
Tabla 4.124. Interacción entre el polimorfismo rs17782313 del gen MC4R y el consumo de legumbres sobre la concentración de AGNE en la población estudiada.	282
Tabla 4.125. Interacción entre el polimorfismo rs2880411 del gen NPY2R y el consumo de carnes rojas, hamburguesas, salchichas o embutidos sobre el IMC en la población estudiada.	285
Tabla 4.126. Interacción entre el polimorfismo rs1761667 del gen CD36 y el consumo de pescado o marisco sobre la concentración de triglicéridos, AGNE y adiponectina en la población estudiada.	286
Tabla 4.127. Interacción entre el polimorfismo rs3812316 del gen MLXIPL y la adherencia a la DM sobre el IMC en la población estudiada.....	287
Tabla 4.128. Riesgo de obesidad asociado al polimorfismo rs3812316 del gen MLXIPL en individuos según la adherencia a la DM en la población estudiada.....	287
Tabla 4.129. Interacción entre el polimorfismo rs3812316 del gen MLXIPL y el consumo de legumbres sobre el IMC en la población estudiada.	288
Tabla 4.130. Riesgo de obesidad asociado al polimorfismo rs3812316 del gen MLXIPL según el consumo de legumbres en la población estudiada.	288
Tabla 4.131. Media de consumo de productos lácteos en la población estudiada y en comparación por sexo	289
Tabla 4.132. Frecuencia de consumo de productos lácteos según el genotipo del polimorfismo rs3754686 del gen MCM6 en la población estudiada y en función del sexo.....	289
Tabla 4.133. Riesgo de obesidad asociado al polimorfismo rs3754686 del gen MCM6 según el consumo de productos lácteos en la población estudiada.....	290

Tabla 4.134. Interacción entre el polimorfismo rs7120118 del gen NR1H3 y la adherencia a la DM sobre la concentración de c-HDL en la población estudiada.....	291
Tabla 4.135. Interacción entre el polimorfismo rs7120118 del gen NR1H3 y el consumo de aceite de oliva sobre la concentración de c-HDL en la población estudiada.....	292
Tabla 4.136. Efecto del genotipo asociado con mayor concentración sobre el relacionado con menor concentración de los polimorfismos rs17782313 del gen MC4R y rs3812316 del gen MLXIPL y de la combinación de estos genotipos sobre la concentración de triglicéridos, en población estudiada. ...	293
Tabla 4.137. Efecto del genotipo asociado con mayor concentración sobre el relacionado con menor concentración del polimorfismo rs7120118 del gen NR1H3 y la variante genética rs4684677 del gen GHRL y de la combinación de estos genotipos sobre la concentración de c-HDL, en la población estudiada.....	294