



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**Asociación de polimorfismos de LEP (-2548 G>A), LEPR (-
Gln233Arg) y ADIPOQ (+276 G/T) en mujeres
postmenopáusicas obesas como biomarcador de riesgo para
cáncer de mama**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICAS

Presenta:

IBT. Jessica Berenice López González

Asesor académico

Dr. Jonnathan Guadalupe Santillán
Benítez
Facultad de Química, UAEMex

Asesores adjuntos

Dr. Antonio Sandoval Cabrera
Hospital para el niño, IMIEM.
Dra. Laura Sánchez Hernández
Unidad Profesional Interdisciplinaria de
Biotecnología del IPN



Toluca de Lerdo, Estado de México, Noviembre 2021

Jurado Revisor

Dr. Jonnathan Guadalupe Santillán Benítez	Facultad de Químicas, UAEMex
Dr. Antonio Saldoval Cabrera	Hospital para el Niño, IMIEM
Dra. Laura Sanchez Hernandez	Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología del IPN
Dra. Leticia Buendia Gonzalez	Facultad de Ciencias, UAEMex
Dra. Linda Guiliana Bautista Gómez	Centro Universitario Amecameca
Dr. Pedro Fernando Vera Hernández	Clínica Multidisciplinaria de Salud, UAEMex
Dr. José de Jesús Garduño García	Facultad de Medicina, UAEMex

Se agradece el apoyo al proyecto **“Asociación de polimorfismos de LEP (-2548 G>A), LEPR (Gln233Arg) y ADIPOQ (+276 G/T) en mujeres postmenopáusicas obesas como biomarcador de riesgo para cáncer de mama”** con clave **6247/2020CIF** por la realización de este trabajo de investigación. El proyecto que desarrollé se realizó bajo la tutoría de la Dr. Jonnathan Guadalupe Santillán Benítez. Se agradece también al Dr. Antonio Sandoval Cabrera y la Dra. Laura Sánchez Hernández sus aportaciones y críticas a éste proyecto. Los experimentos fueron llevados a cabo en el Laboratorio de Hemato.Oncología del Hospital para el niño y la Facultad de Química de la Universidad Autónoma del Estado de México.

DEDICATORIAS

A Dios por sus bendiciones a mi vida, por darme el conocimiento, sabiduría y por permitirme llegar a esta etapa en mi carrera profesional.

A mis padres por su apoyo, amor y confianza, sin ustedes no lo hubiese logrado.

A mi hermana por su apoyo incondicional y sus oraciones.

A tí Hever, por alentarme y apoyarme en todo momento.

Agradecimientos

- A la Facultad de Química de la Universidad Autónoma del Estado de México.
- Al Hospital del Niño por su participación y apoyo en la realización de este proyecto.
- A la Unidad Médica Especializada para la Detección y Diagnóstico de Cáncer de Mama Toluca (UNEME – DEDICAM TOLUCA) por su participación en el proyecto.
- Al Dr. Jonnathan Guadalupe Santillán Benítez por la dirección de este trabajo de investigación, por su apoyo, confianza y por permitirme trabajar con él.
- Al Dr. Antonio Sandoval Cabrera, por su apoyo incondicional, por sus enseñanzas y conocimientos compartidos durante mi estancia en el hospital del niño.
- A la Dra. Laura Sánchez Hernández por su apoyo en dirección de este trabajo, por sus enseñanzas, por siempre estar al pendiente y por esos mensajes de ánimo.
- A la Dra. Adriana Quijano quien nos dio la confianza y el apoyo para la Unidad Médica Especializada para la Detección y Diagnóstico de Cáncer de Mama Toluca (UNEME – DEDICAM TOLUCA).

CONTENIDO	
ABREVIATURAS	9
RESUMEN	10
1 INTRODUCCIÓN	12
2 ANTECEDENTES	13
2.1 Cáncer de mama	13
2.1.1 Epidemiología	14
2.1.2 Clasificación, signos y síntomas	14
2.1.3. Diagnóstico y tratamientos	17
2.1.4 Factores de riesgo	20
2.3 Genes y polimorfismos genéticos asociado a CM y obesidad	24
2.3.1 LEP	24
2.3.2 LEPR	25
2.3.3 ADIPOQ	26
2.3.4 ADIPOR1	26
2.3.5 CYP19	27
2 JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	27
4 HIPÓTESIS	28
5 OBJETIVOS	29
5.1 Objetivo General	29
5.2 Objetivo Especifico	30
6 MATERIALES Y MÉTODOS	30
6.1 Diseño de estudio	30
6.2 Definición de la población	31
6.2.1 Criterios de inclusión	31
6.2.2 Criterios de exclusión	31
6.2.3 Criterios de eliminación	31
6.2.4 Tamaño de muestra	31
6.4 Tecinas, instrumentos y procedimientos de recolección de la información	32
6.5 Análisis e interpretación	34
6.6 Recursos	34
6.7 Aspectos éticos de bioseguridad	34
7 RESULTADOS	35
8 CONCLUSIONES	49
9 PERSPECTIVAS	50
10 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
11 ANEXOS	59

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Subtipos de cáncer de mama de acuerdo con la expresión de sus receptores.

Tabla 2. Estadificación clínica de cáncer de mama.

Tabla 3. Interpretación de imágenes resultantes de la mamografía a través del sistema BI-RADS.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Anatomía de la glándula mamaria.

Figura 2. Participación de los adipocitos en los diversos mecanismos carcinogénicos

ABREVIATURAS

A	Adenina
ADIPOQ	<i>adiponectina</i>
<i>AdipoR1</i>	<i>receptor de adiponectina de tipo 1</i>
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
<i>Her2</i>	<i>receptor epitelial humano</i>
<i>IL-6</i>	<i>interleucina tipo 6</i>
IMC	Índice de masa corporal
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
<i>LEP</i>	<i>leptina</i>
<i>LEPR</i>	<i>receptor de leptina</i>
G	guanina
GCO	The Global Cancer Observatory
OCDE	Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos
OPS	Organización Panamericana de la Salud
PCR	Reacción de la Cadena Polimerasa
<i>RE</i>	<i>receptor de estrógeno</i>
<i>RP</i>	<i>receptor de progesterona</i>
SOMEON	Sociedad Mexicana de Oncología
SNP's	Polimorfismos de un solo nucleótido
T	timina
<i>TNF</i>	<i>factor de necrosis tumoral</i>

RESUMEN

La obesidad es un factor negativo para el desarrollo de cáncer de mama en mujeres postmenopáusicas que disminuye su tasa de supervivencia. Actualmente, diversos estudios se centran en investigar la asociación de diversos genes y polimorfismos de mayor prevalencia en mujeres obesas como *LEP*, *LEPR*, *ADIPOQ*, entre otros, en diversas poblaciones. Por lo cual entender la etiología y asociación del cáncer de mama y la obesidad en el estadio posmenopáusico en la mujeres mexiquenses nos ayudará a comprender el origen de estas patologías y su utilidad como biomarcador de riesgo, con fin de diseñar tratamientos dirigidos que mejoren la calidad de vida de las pacientes, disminuyendo su incidencia y mortalidad.

Como primera parte de esta investigación nos enfocamos en evaluar la expresión de los genes *LEPR* y *AdipoR1* con relación el aumento del IMC, para esto se trabajó con grupo de 46 mujeres voluntarias mayores a 55 años de edad, sin el diagnóstico de alguna patología confirmada. La población se clasifico de acuerdo a su IMC y se caracterizó de acuerdo a sus datos clínicos y expresión de *LEPR* y *AdipoR1* mediante RT-PCR. Los datos obtenidos nos permitieron observar que es 70% de la población estudiada presentaba problemas de obesidad y sobrepeso y que estos a su vez se correlacionaban de manera modera ($r=0.648$, $p=0.043$) con la expresión del gen *LEPR* y moderada negativa con el gen *AdipoR1* ($r= -0.389$, $p=0.034$).

Esta relación sugiere que estos genes podrían participar como un factor mediador entre la obesidad y el cáncer de mama, por lo cual, se continuarán realizando estudios para la detección de los SNP's y se pueda aportar más información acerca del fenotipo y los factores implicados en el desarrollo del cáncer de mama y la obesidad.

ABSTRACT

Obesity is a negative cause for the development of breast cancer in postmenopausal women and decreases their survival rate. Recent studies are focused on the association of various genes and polymorphisms of higher prevalence in obese women, such as LEP, LEPR, ADIPOQ, among others in diverse populations. Therefore, understanding the etiology and association of breast cancer and obesity in the postmenopausal stage in Mexican women might help us understand the origin of these pathologies and their usefulness as a risk biomarker to design targeted treatments that improve the quality and life span of patients reducing their incidence and mortality.

In this research, we focused on evaluating whether the expression of the LEPR and AdipoR1 genes were associated with the increase in BMI. For this, we worked with a group of 46 female volunteers without the diagnosis of any confirmed pathology. The population was classified according to its BMI and characterized according to its clinical data and expression of LEPR and AdipoR1 by RT-PCR. The data obtained allowed us to observe that 70% of the studied population had obesity and overweight problems and were moderately correlated ($r = 0.648$, $p = 0.043$) with the expression of the LEPR gene and moderately negative with the AdipoR1 gene ($r = -0.389$, $p = 0.034$).

This relationship suggests that these genes could participate as a factor between obesity and breast cancer. Therefore, studies will be carried out to detect SNPs, and more information can be provided about the phenotype and the factors involved in the development of breast cancer and obesity.

1 INTRODUCCIÓN

La obesidad se define como una variación en el Índice de Masa Corporal (IMC) y conduce a la acumulación de tejido adiposo dentro del organismo (Ristow, Müller-Wieland, Pfeiffer, Krone, & Kahn, 2002; Scuteri et al., 2007). El desarrollo de esta, se relaciona con una serie de factores adversos incluyendo el desarrollo de enfermedades de tipo metabólicas, cardiovasculares y en el diagnóstico y desarrollo de distintos tipos de cáncer como el cáncer de mama (Crake, 2015; D'Angelo et al., 2018; Nickel et al., 2018).

La acumulación excesiva de tejido adiposo es considerado un factor de pronóstico negativo para el desarrollo de cáncer de mama y en la progresión del mismo (Nickel et al., 2018). En mujeres postmenopáusicas obesas este riesgo aumenta hasta en un 40 % con una disminución en la tasa de supervivencia (Bowers & deGraffenried, 2015).

Recientes estudios se centran en la investigación de la asociación de genes y polimorfismos de un solo nucleótido (SNP's) reportados en cáncer de mama y obesidad, tal es de caso LEP (rs7799039), LEPR (rs1137101 y rs1137100), ADIPOQ-ADIPOR1-ADIPOR2 (rs2241766, rs1501299, rs7539542), IRS2, entre otros (Daghestani et al., 2019; Fangyi, 2013; Geriki et al., 2019; Ibarra & Velasquillo, 2013; Liu & Liu, 2011; Nyante et al., 2011).

Por lo cual, estudiar la asociación de los genes como LEPR y AdipoR1 y polimorfismos de LEP (-2548 G>A), LEPR (-Gln233Arg) y ADIPOQ (+276 G/T) en pacientes postmenopáusicas obesas, nos ayudará a comprender el origen de la enfermedad y su utilidad como posibles biomarcadores de riesgo del cáncer de mama.

2 ANTECEDENTES

2.1 Cáncer de mama

El cáncer de mama (CM) es considerada la enfermedad más común entre mujeres (Malvia et al., 2019; Shah, 2014). De acuerdo a la Guía de Referencia Rápida “Diagnóstico y Tratamiento del Cáncer de Mama” (IMSS-232-09) este es definido como aquel crecimiento anormal y desordenado de las células epiteliales de los conductos o lobulillos mamarios, que tiene la capacidad de diseminarse (IMSS, 2004).

Este cáncer tiene la característica de desarrollar tumores malignos en la glándula mamaria, la cual se compone de areola y pezón e internamente de tejido adiposo o grasa y el tejido glandular, que a su vez se compone de lóbulos y lobulillo unidos por una serie de tubos llamados conductos (Figura 1) (Fernandez & Ovares, 2012). El cáncer de mama puede desarrollarse en diversas áreas de la glándula mamaria y su tipo es determinado por las células específicas que se afectan (Feng et al., 2018).

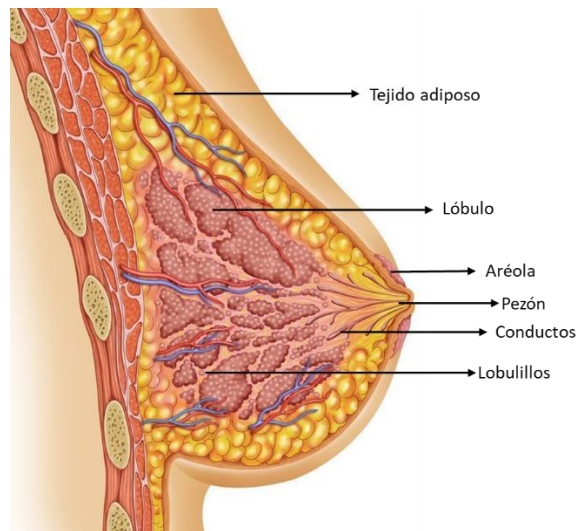


Figura 1. Anatomía de la glándula mamaria. Glándula mamaria se compone de tejido adiposo, lóbulo, areola, pezón, conductos y lobulillos.

2.1.1 Epidemiología

La incidencia de cáncer de mama ha aumentado y es considerada la principal causa de mortalidad en mujeres (Angulo et al., 2013; Banerji et al., 2012; Mahmoudi et al., 2015).

De acuerdo a los datos proporcionados por la Organización Mundial de Salud (OMS) representa el 16 % de todos los cánceres femeninos con mayor prevalencia en países desarrollados, y una tasa de supervivencia que va del 80% en países desarrollados y hasta el 40 % en países de bajos ingresos. Sin embargo, estos datos varían mucho en todo el mundo, debido a la falta de programas de detección oportuna (Salud, 2021).

Datos de The Global Cancer Observatory (GCO) reportaron en el 2018, 2.1 millones de incidencia de cáncer de mama lo que representa el 11.2 de la población con este padecimiento y 0.6 millones de muertes (6.6%). Por su parte, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) reporto que en América Latina y el Caribe, este cáncer como el más común entre las mujeres y es el segundo con mayor mortalidad, por lo cual se prevé que este aumente hasta 34% (Organización Mundial de la Salud, 2018; Organización Panamericana de la Salud, 2018).

En México, a partir del año 2006, este cáncer se convirtió en la primera causa de muerte en las mujeres mexicanas. Según datos del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) y de la Sociedad Mexicana de Oncología (SOMEON), al año se registran alrededor de 24 mil casos nuevos, con una mortalidad de 6,500 decesos, y enfatizan que la edad promedio para la presencia de cáncer va de los 50 a los 59 años de edad (Intituto Nacional de Estadística y Geografía, 2018).

2.1.2 Clasificación, signos y síntomas

Existen diversas clasificaciones del cáncer de mama las cuales se basan en la exploración física, las características de tumor, la presencia de lesiones ganglionares y la metástasis. Según la invasión en la estructura de la glándula mamaria, este se divide en carcinoma ductal y carcinoma lobular (Angulo et al.,

2013). De acuerdo a su grado de invasión y según la OMS, este puede ser No invasivo o *in situ*, o bien, Invasivo o/y Metastásico. El cáncer de mama de tipo no invasivo o *in situ* es aquel que no ha logrado invadir más allá de los lóbulos o conductos donde se originó y se divide en (Feng et al., 2018):

- **Carcinoma ductal *in situ* (DCIS):** se desarrolla dentro de los conductos mamarios, es considerado el tipo más común de los carcinomas *in situ* y representa el 83% aproximadamente de los casos diagnosticados. Sin embargo, este puede o no progresar y volverse invasivo (Akram et al., 2017; ElSharkawy, 2014).
- **Carcinoma lobular *in situ* (LCIS):** se desarrolla en las glándulas productoras de leche pero no es capaz de extenderse más allá de la pared de los lóbulos, es considerado como un signo de riesgo moderado sucesivo del cáncer invasivo y representa el 12% de los cánceres *in situ* (Akram et al., 2017; ElSharkawy, 2014; Espinosa Ramírez, 2017).

El cáncer de mama de tipo invasivo es capaz de invadir más allá de la membrana basal y se introduce en el estroma mamario llegando a invadir los vasos sanguíneos y ganglios linfáticos. Según el tipo de tejido y células involucradas se dividen en (Akram et al., 2017; Espinosa Ramírez, 2017; Feng et al., 2018):

- **Carcinoma Ductal Invasivo (IDC):** Se desarrolla dentro de los conductos mamarios y se extiende hasta la pared del conducto teniendo la capacidad de propagarse fuera de estos.
- **Carcinoma lobular Invasivo (ILC):** Se desarrolla en las glándulas mamarias o lóbulos teniendo la capacidad de propagarse fuera de ellos y es el más común en mujeres mayores.

El carcinoma metastásico es sucesivo del cáncer invasivo ya que tiene la capacidad de extenderse a diferentes órganos del cuerpo a través del sistema inmune o la circulación sistémica por segregación y se expande de manera irregular atacando órganos como el cerebro, huesos, pulmones y el hígado (Akram et al., 2017; Espinosa Ramírez, 2017; Feng et al., 2018; Huicochea Castellanos, 2009)

Existe otra clasificación molecular a través de la inmunohistoquímica, la cual permite detectar proteínas en las células y clasificar el cáncer de mama de acuerdo a la expresión génica del receptor de estrógenos (RE), receptor de progesterona (RP) y receptores HER2 (Tabla 1) (Banerji et al., 2012). Mediante la detección de estos, es posible determinar la elección de la terapia adecuada, mejorando la respuesta al tratamiento y la recuperación del paciente (Espinosa Ramírez, 2017; Santillan & Mendieta, 2013).

El cáncer de mama del subtipo luminal expresa los receptores RE (+) y PR (+) favoreciendo el crecimiento tumoral, el subtipo A es el más frecuente mientras que el subtipo B es de mayor grado y presenta inhibición de aromatasa. El subtipo basal o también denominado triple negativo es asociado a mutaciones con BRCA1 y es acompañado de tumores más agresivos (Zepeda et al., 2008).

Tabla 1. Subtipos de cáncer de mama de acuerdo con la expresión de sus receptores.

Subtipo de cáncer	Receptor
Luminal A	RE + PR + HER2 -
Luminal B	RE + PR + HER2 +
Basal	RE – PR – HER2 –
Her-2	RE – PR – HER2 +

También, de acuerdo con su estadio clínico, la clasificación se basa en el sistema TNM, donde T hace referencia a la extensión del tumor, N al grado de diseminación

de los ganglios linfáticos y M la presencia de metástasis distante y un número que indica el tamaño o extensión del tumor y el grado de diseminación. En la Tabla 2 se muestra la estadificación clínica por pauta de la American Joint Committee on Cáncer (AJCC) (Shah, 2014).

Tabla 2. Estadificación clínica de cáncer de mama

Estadificación	TNM		
0	T1s	N0	M0
IA	T1	N0	M0
IB	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
IIA	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
IIIA	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
IIIB	T4	N0	M0
	T4	N1	M0
	T4	N2	M0
IIIC	Cualquiera T	N3	M0
IV	Cualquiera T	Cualquiera N	M1

2.1.3. Diagnóstico y tratamientos

Algunos de los síntomas y signos de sospecha de cáncer de mama son: la presencia de masas o protuberancias palpables de consistencia dura, hinchazón e irritación de la piel, dolor en el seno, ulceraciones o descamación, secreciones del pezón, entre otros. La detección oportuna y temprana de cáncer de mama ayudara a

mejorar el pronóstico del mismo, a través de las siguientes acciones (Aibar et al., 2011; IMSS, 2004, 2017; Shah, 2014):

- Autoexamen y examen clínico: la autoexploración física de la mama permite detectar masas palpables con una sensibilidad del 26 al 41%. Mientras que el examen clínico se recomienda cada 1 a 3 años a partir de los 20 años.
- Mamografía: Imagen de las mamas por rayos X que consiste en 2 imágenes, una cefalocaudal y otra lateral oblicua a través de un mastógrafo. Es uno de los métodos mayormente utilizados para detectar masas no palpables y de diagnóstico temprano. Las imágenes se interpretan a través de un sistema denominado BI-RADS (Breast Imaging Reporting and Data System) tal como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3. Interpretación de imágenes resultantes de la mamografía a través del sistema BI-RADS (Breast Imaging Reporting and Data System)

BI-RADS	Interpretación
0	Hallazgo que necesita una evaluación adicional de imagen
1	Negativa: mamas asimétricas, sin nódulos, ni sospechosas de hallazgos
2	Hallazgos benignos
3	Hallazgos probablemente benignos: lesiones de mama con una probabilidad de malignidad bajo (<2%).
4	Anomalía sospechosa: con un valor predictivo positivo para cáncer entre 29-34% hasta 70%
5	Altamente sugestivo de malignidad: lesiones casi certeras de carcinoma mamario con un 95 % de probabilidad de malignidad
6	Biopsia conocida y malignidad confirmada histológicamente: debe realizarse antes de iniciarse un tratamiento definitivo

- Imagen por resonancia magnética: se usa para visualizar lesiones con mayor precisión o en ocasiones detectar lesiones adicionales por su alta sensibilidad. Su uso se recomienda como técnica complementaria cuando existe una limitación por aumento de las mamas.

- Ultrasonido: es un método por imagen que permite diferenciar la presencia de tumores quísticos o sólidos, sin utilizar radiación y es considerado de detección complementaria.
- Biopsia: es la prueba en la cual se extirpa tejido o se extrae líquido de la mama para ser estudiado. Existen diferentes tipos de biopsias de los senos, algunos se realizan con una aguja fina, aguja de corte, marcaje por estereotaxia con aguja/arpo, cada tipo se emplea de acuerdo con el tamaño, localización, número de tumores o algún problema de salud.

Actualmente, existen diferentes opciones de tratamiento que varía según el estado, diagnóstico y presencia de los receptores de RE, PR y Her-2, entre los cuales destaca (López, 2018; Martín et al., 2015; Cárdenas et al., 2017):

- a) Tratamiento quirúrgico: consiste en la extirpación de tejido canceroso y se puede realizar a través de una mastectomía, donde se extirpa toda la mama, o a través de una conservación de la misma, donde se trata de extraer el tumor y mantener la mayor parte de esta.
- b) Radioterapia: consiste en la destrucción de las células cancerosas a través de radiación ionizante, puede ser de manera externa a través de un equipo o de manera interna también conocido como braquiterapia, donde la sustancia es colocada cerca o dentro del tumor. Estos tratamiento son utilizado después de tratamiento quirúrgicos
- c) Terapia sistémica: existen varios tipos como
 - Quimioterapia: es la administración de medicamentos secuenciales por vía intravenosa u oral, con la intención de eliminar las células cancerosas y es utilizada como completo de los tratamientos anteriores mencionados.
 - Terapia endocrina: es utilizada en cánceres que tiene la capacidad de responder a cambios hormonales, con el fin de contrarrestar el efecto sobre el crecimiento. Su administración puede ser oral o intramuscular y algunos de ellos son los moduladores selectivos de los receptores de estrógeno (Tamoxifeno), antagonistas de los receptores de estrógenos y/o los inhibidores de aromatasa.

- Terapia dirigida: son medicamentos que tiene la función de bloquear las vías de señalización específica en las células cancerosas evitando la estimulación de su crecimiento.

2.1.4 Factores de riesgo

Se han reportado diversos factores de riesgo para el desarrollo de CM, entre los cuales destaca (Herranz Martí, 2001; Madrigal & Mora, 2018; Shah, 2014):

- A) Edad: la probabilidad de desarrollar CM aumenta conforme avanza la edad, es mayor el riesgo en mujeres con 60 años en comparación con mujeres menores a 30 años. Las estadísticas mencionan que lo padecen 1 de cada 202 mujeres de entre 0 y 39 años de edad, 1 de cada 26 mujeres entre 40 y 55 años y 1 de cada 28 mujeres entre 60 y 69 años.
- B) Historial familiar o antecedes familiares: La presencia de antecedes familiares con cáncer de mama de grado 1 aumenta la probabilidad de desarrollar cáncer de mama a edad temprana y aun mayor cuando existe la presencia de alteraciones genéticas con herencia autosómica dominante. Se estima que del 20 al 25% de los pacientes diagnosticados tienen este antecedente.
- C) Predisposición genética: este es uno de los factores de riesgo de mayor relevancia ya que se ha reportado una incidencia del 40 - 85% del desarrollo de CM en presencia de alelos de alto riesgo como es el caso de BRCA1, BRCA2 y TP53.
- D) Edad temprana de la menarquia: Se ha reportado que la presencia de menarquia en mujeres menores a los 13 años aumenta el riesgo padecer de CM hasta 1.8 veces.
- E) Embarazos: el riesgo de padecer CM aumenta en mujeres que no tiene hijos y de igual forma aquellos primeros embarazos a edad avanzada. El riesgo puede reducirse si el intervalo de tiempo entre la menarquia y el primer embarazo es corto, debido al tiempo de exposición de la mama a los estrógenos y la diferenciación glandular que ocurre durante el embarazo.

- F) Lactancia: el riesgo al desarrollo de CM se relaciona debido a la presencia de altos niveles hormonales sexuales endógenos.
- G) Consumo de alcohol: Se ha reportado un alto riesgo de CM cuando hay consumo excesivo de alcohol.
- H) Radiación: la relación con CM es debido a la exposición en la pared torácica por radiación.
- I) Uso de terapia hormonal: el uso de anticonceptivos por periodos largos de tiempo producen un riesgo a desarrollar cáncer de mama.
- J) Menopausia: el retraso de la menopausia después de los 55 años de edad forma parte de los riesgos del desarrollo de cáncer de mama. También el uso de reemplazo hormonal a base de estrógeno y progesterona en la postmenopausia aumenta el riesgo, retrasa la detección y el diagnóstico temprano.
- K) Obesidad: es factor predisponente de desarrollo de diversos tipos de cáncer como CM. Cuando las mujeres se encuentran en el estadio postmenopáusico y con obesidad o sobrepeso el riesgo aumenta posiblemente debido a la presencia de altos niveles de estrógeno circulante, al incremento de la conversión de andrógenos en estrógeno por el tejido adiposo y a una alta proporción de estrógeno biodisponible.

2.2. Relación cáncer de mama y obesidad

De acuerdo con la *“NORMA Oficial Mexicana NOM-008-SSA3-2010, Para el tratamiento integral del sobrepeso y la obesidad”* la obesidad es aquella enfermedad caracterizada por la acumulación excesiva de tejido adiposo en el organismo y es definida por un aumento en del Índice de Masa Corporal (IMC) superior a 30 kg/m², ya que de acuerdo a la OMS este factor indica la relación entre el peso y talla de un individuo (D’Angelo et al., 2018; Fátima et al., 2016; Riaz et al., 2013; Secretaria de Salud, 2017; Thaker, 2017).

Se acuerdo a la OCDE (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos) esta enfermedad se ha expandido, ya que 1 de cada 2 adultos tiene

sobrepeso, y 1 de cada 6 obesidad. México es el segundo país que presenta índices más altos, de acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición del Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI-ENSANUT), en el 2018 el porcentaje de adultos con sobrepeso y obesidad fue del 75.2 % (39.1 % sobrepeso y 36.1 % obesidad) (Instituto Nacional de Estadística y Geografía; Instituto Nacional de Salud Pública; Secretaría de Salud., 2018; Organization for Economic Co-operation and Development, 2010).

La obesidad es considerada un factor de riesgo para el desarrollo y el diagnóstico de diversas enfermedades de tipo metabólicas y cardiovasculares y en el diagnóstico y desarrollo de distintos tipos de cáncer, entre los cuales destaca el cáncer de mama (González Jiménez, 2011; Liu & Liu, 2011; Martos et al., 2017).

La acumulación excesiva de tejido adiposo que se compone de adipocitos, los cuales son responsables de la homeostasis energética, son capaces de secretar citoquinas, factores de crecimiento y adipocinas (IL-6, TNF- α , MCP-1, aromatasa, leptina y adiponectina), las cuales se expresan en el tejido mamario y son un factor de pronóstico negativo para el progreso del cáncer de mama, ya que pierden la función metabólica y el control sobre la liberación de hormonas, metabolitos líquidos y ácidos grasos; brindando los componentes esenciales y la energía para la proliferación, migración e invasión de las células tumorales (Figura 2) (González Jiménez, 2011; Liu & Liu, 2011; Martos et al., 2017; Nickel et al., 2018; Nyante et al., 2011).

Las citoquinas, factores de crecimiento y adipocinas ejercen su acción en el sistema nervioso central, en los músculos, en el hígado y los huesos; favoreciendo la aparición de la metástasis (García et al., 2014).

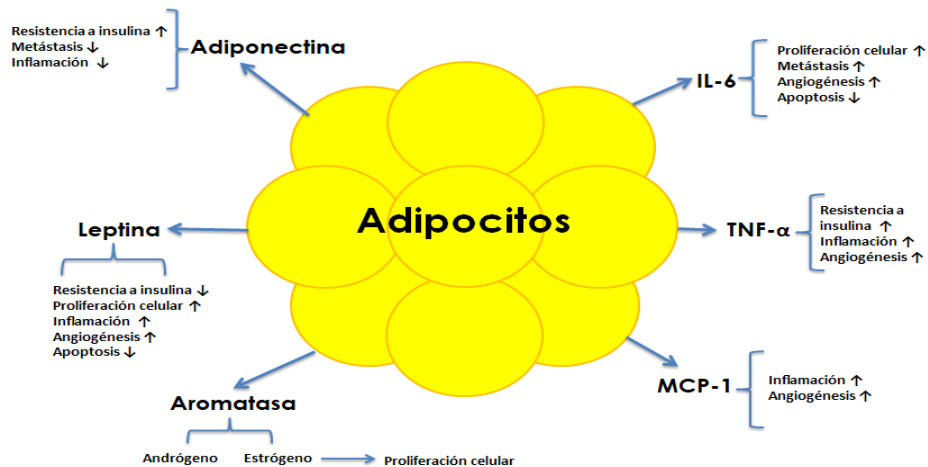


Figura 2. Participación de los adipocitos en los diversos mecanismos carcinogénicos. (Editada de <https://www.cancerquest.org/cancer-biology/causes-cancer>).

Se ha reportado una asociación de cáncer de mama en mujeres postmenopáusicas obesas de hasta un 40%, debido a que el tejido adiposo se convierte en la principal fuente de aromatasa durante esta etapa y al alto nivel de estrógeno circulante, promoviendo la proliferación celular y el crecimiento tumoral al unirse a los receptores de las células, disminuyendo así la supervivencia (Bowers & deGraffenried, 2015; Crake, 2015; Valle et al., 2011).

Diversos investigadores han intentado explicar la asociación del CM y la obesidad a través de tres fundamentos donde se coloca a los estrógenos como la primer fuente de asociación, la segunda causa podría ser el síndrome metabólico que da como resultado el aumento de insulina circulante y de factores de crecimiento que actúan como mitógenos, y la última, es aquella donde se coloca a los adipocitos como el centro de asociación, debido a que estos almacenan la energía y son células endocrinas dinámicas que tienen la capacidad de secretar diversas citosinas, polipéptidos y moléculas similares a hormonas (Lorincz & Sukumar, 2006).

Los adipocitos constituyen la mayor parte de la mama humana y las células epiteliales representan solo aproximadamente el 10% del volumen de ella. Las

diversas moléculas producidas después de ser liberadas se unirán a sus receptores, sin embargo, existen otras moléculas tal es el caso de la insulina y el IGF-, quien también participan en los procesos carcinogénicos los cuales se unen a los receptores y desencadenan las vías de señalización JAK2, STAT3, ERKI, ART estimulando la proliferación y apoptosis (Mahmoudi et al., 2015; Valle et al., 2011).

2.3 Genes y polimorfismos genéticos asociado a cáncer de mama y obesidad

Se han reportado diversos genes que se encuentran involucrados en esta asociación, los cuales desempeñan un papel fundamental en diversos procesos entre los cuales destaca *LEPR*, *ADIPOR1*, *LEP*, *PON*, *FTO*, *TNF- α* , *IGF*, *PGR*, *ADIPOR2*, *CYP19*, entre otros (Crake, 2015; Karim et al., 2016; McCarthy, 2010; Nickel et al., 2018; Sánchez R, Ibáñez, & Klaassen, 2014; Wang et al., 2009). Sin embargo, la posible presencia de SNP's en estos genes pueden ser la causa de asociación de ambas enfermedades (Fangyi, 2013; Liu & Liu, 2011; Nyante et al., 2011).

2.3.1 LEP

El gen *OB* codifica para la glucoproteína con función de hormona denominada leptina (*LEP*), la cual se ubica en el cromosoma 7q31, posee un peso molecular de 16 kDa y pertenece a la familia de las citoquinas de 4 hélices (Mahmoudi et al., 2015; Julio César Sánchez, 2005; Zhang et al., 2005).

Esta hormona es sintetizada y secretada en el tejido adiposo blanco, regulando el equilibrio energético, la ingesta de alimentos y la temperatura corporal (Fangyi, 2013; Fátima et al., 2016). La deficiencia y resistencia de *LEP* es capaz de provocar obesidad, diabetes, alimentación incontrolada, aumento de IMC, e influye en la respuesta inmune (Crake, 2015; Sánchez, 2005; Valle et al., 2011; Zhang et al., 2005).

Esta hormona es considerada un marcador clave en el cáncer de mama ya que el aumento de su expresión en las glándulas mamarias estimula la división celular por la expresión de aromatasa, promoviendo la tumorigénesis a través de la

proliferación, angiogénesis, apoptosis y la regulación del ciclo celular (Karim et al., 2016; Mahmoudi et al., 2015).

Se ha reportado la presencia de diversos SNP's en este gen, entre los cuales se encuentra rs7799039 o también conocido como *LEP* (-2548 G>A) el cual realiza un reemplazamiento de A a G en el nucleótido -2548. La presencia de este polimorfismo se asocia a marcadores metabólicos relacionados a obesidad, aumento de IMC e hiperleptinemia, afectando la secreción y expresión de la *LEP* (Fangyi, 2013; Fátima et al., 2016; Geriki et al., 2019; Liu & Liu, 2011; Mahmoudi et al., 2015; Nyante et al., 2011).

2.3.2 *LEPR*

El receptor de leptina (*LEPR*) es una proteína de 1,165 aminoácidos agrupados en varios dominios, pertenece a familia de gp130 de los receptores de citoquinas, ubicado en el cromosoma 1p31.3 con 24 exones (Daghestani et al., 2019; Fangyi, 2013; Fátima et al., 2016).

Se han identificado diversas isorformas de este receptor, las cuales actúan de diferente manera cuando se unen a la leptina, entre ellas destacan (Sánchez, 2005; Zhang et al., 2005):

- *ObRb* o Receptor Largo: que es responsable de traducir las señales en el hipotálamo.
- *ObRs*: que no presenta señalización y su función es la degradación de la leptina.

Cuando el receptor se une a la leptina este se activa en diferentes tejidos participando en la regulación del metabolismo de las grasas tras su activación, en la relación con el tejido energético y peso corporal. Es el causante de la disminución de apetito por impacto de la hormona toroides y suprarrenales (Karim et al., 2016; Mahmoudi et al., 2015).

Se ha reportado que una mutación o variación en este gen puede afectar su funcionalidad, evitando la unión con la LEP o que al unirse no pueda ésta ser activa. Las consecuencias son traducidas en hambre excesiva, aumento de peso, hipogonadismo e hiperfagia (Daghestani et al., 2019).

Entre los SNP's reportados para este receptor se encuentra el rs1137101 o *LEPR* (Gln223Arg) y rs1137100 o *LEPR* (Lys109Arg) (Fangyi, 2013; Fátima et al., 2016; Geriki et al., 2019; Liu & Liu, 2011; Mahmoudi et al., 2015; Nyante et al., 2011). El SNP's *LEPR* (Gln223Arg) realiza un sustitución de una A por G en el nucleótido 668 del exón 6 del codón de inicio, por lo que el codón CAG cambia a CGG, reemplazando glutamina por arginina en el aminoácido 223; afectado la función del receptor y la capacidad de unión a la *LEP* (Daghestani et al., 2019; Mahmoudi et al., 2015).

2.3.3 ADIPOQ

La adiponectina (*ADIPOQ*) se ubica en el cromosoma 3 y se expresa en el tejido adiposo codificando para una proteína con similitud a los colágenos, la cual circula en el plasma y está involucrada con los procesos de obesidad, su nivel bajo circulante se relaciona con el cáncer de mama. Entre los SNP's reportados se encuentra el rs2241766 o *ADIPOQ* (+276 G/T) que se traduce en la sustitución de G a T en el intrón 2 del nucleótido +276 (Geriki et al., 2019; Nyante et al., 2011).

2.3.4 ADIPOR1

El gen receptor de la adiponectina de tipo 1 (*AdipoR1*), ubicado en el cromosoma 1, denominado receptor transmembranal, se expresa de forma ubicua y codifica para la proteína que actúa como receptor de la adiponectina. La unión con la adiponectina da como resultado la activación de una vía de señalización de la quinasa activada por *AMP* que afecta los niveles de oxidación de ácidos grasos y la sensibilidad a la insulina (Martinez et al., 2019; Rasmussen et al., 2006).

2.3.5 CYP19

El gen CYP19 codificante para la enzima aromatasa pertenece a la superfamilia de enzimas del citocromo P450 y se localiza en el retículo endoplásmico, catalizando los últimos pasos de la biosíntesis de estrógenos e inhibidores de la aromatasa; puede afectar la distribución y regulación de la grasa corporal al modular la proporción de andrógenos a estrógenos en el tejido adiposo y se ha asociado con fenotipos relacionados con la obesidad en las mujeres postmenopáusicas (Chen et al., 2015; Gennari et al., 2004).

2 JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

El cáncer de mama se ha posicionado como la principal causa de muerte en mujeres mexicanas. En los últimos años, las investigaciones se han centrado en conocer los factores de riesgo que conducen al desarrollo de esta patología entre los cuales destaca la obesidad, ya que no solo favorece el desarrollo de enfermedades de tipo

metabólicas y cardiovasculares sino también en el desarrollo de cáncer. Se sabe también, que el riesgo de padecer esta patología aumenta aún más cuando las mujeres se encuentran en el estadio posmenopáusico.

Las diferentes indagaciones mencionan que esta asociación se puede deber a la presencia de genes relacionados en ambas patologías y a su vez en la búsqueda de diferentes SNP's involucrados en ambos procesos. Sin embargo, estos pueden variar según la población de estudio, de ahí la importancia de conocer si existe una asociación de los polimorfismos de *LEP* (-2548 G>A), *LEPR* (-Gln233Arg) y *ADIPOQ* (+276 G/T) en mujeres postmenopáusicas, obesas y en mujeres sanas mexiquenses lo que nos ayudará a comprender la etiología de la enfermedad y determinar su utilidad como biomarcador de riesgo del cáncer de mama.

4 HIPÓTESIS

La expresión de los polimorfismos de *LEP* (-2548 G>A), *LEPR* (-Gln233Arg) y *ADIPOQ* (+276 G/T) en mujeres mexiquenses postmenopáusicas se asocia a la obesidad y cáncer de mama, lo que permitirá su utilidad como biomarcador de riesgo.

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

Evaluar la asociación de los polimorfismos de *LEP* (-2548 G>A), *LEPR* (-Gln233Arg) y *ADIPOQ* (+276 G/T) en mujeres postmenopáusicas obesas como posible biomarcador de riesgo.

5.2 Objetivo Especifico

- Identificar los factores de riesgo para el desarrollo del cáncer de mama en mujeres postmenopáusicas obesas mexiquenses.
- Identificar la asociación de los genes receptores de leptina (*LEPR*) y adiponectina (*AdipoR1*) con el aumento del índice de masa corporal y puedan ser usados como factores predisponentes de obesidad y sobrepeso en mujeres postmenopáusicas.
- Investigar la asociación de los polimorfismos de *LEP* (-2548 G>A), *LEPR* (-Gln233Arg) y *ADIPOQ* (+276 G/T) en mujeres postmenopáusicas sanas y con lesiones malignas de cáncer de mama.

6 MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Diseño de estudio

Estudio observacional, analítico, transversal y prospectivo.

6.2 Definición de la población

Pacientes con sospecha y confirmadas con cáncer de mama que fueron atendidas en la Unidad Médica Especializada para la Detección y Diagnóstico de Cáncer de Mama Toluca (UNEME – DEDICAM TOLUCA).

6.2.1 Criterios de inclusión

Se consideraron aquellas pacientes:

- Mayores a 55 años.
- Con lesiones malignas (diagnosticadas con cáncer de mama).
- Sin lesiones malignas (candidatas a biopsia).
- Estadio postmenopáusico.

6.2.2 Criterios de exclusión

Se excluyeron a las pacientes que:

- Fueron diagnosticadas con alguna enfermedad infecto-contagiosa, metabólica o aquella que implicara una discrasia.
- Aquellas que ingirieron algún fármaco entre 24 a 48 horas previas a la toma de muestra.

6.2.3 Criterios de eliminación

Se eliminaron del estudio:

- Muestras sanguíneas no procesables, insuficientes o que no cumplieron con los requisitos solicitados.
- Pacientes que decidieron salir del estudio a petición y voluntariamente.

6.2.4 Tamaño de muestra

El tamaño de muestra fue calculado a partir de la siguiente ecuación:

$$n = \frac{N * Z_{\alpha}^2 * p * q}{e^2 * (N - 1) + Z_{\alpha}^2 * p * q}$$

Donde:

n = tamaño de muestra buscado

N = tamaño de población (453 casos)

Z = Parámetro estadístico que depende del intervalo de confianza (95% → 1.96)

p = Probabilidad que ocurra el evento (70%)

q = Probabilidad que no ocurra (30%)

e = Error de estimación máximo aceptado (10%)

Obteniendo un resultado aproximado de 69 pacientes.

6.4 Técnicas, instrumentos y procedimientos de recolección de la información

Para el análisis de la expresión de los receptores de leptina (LEPR) y adiponectina (AdipoR1) se partió de la extracción de sangre periférica en tubos con EDTA, según la clasificación de tubos de Vacutainer. Posteriormente se realizó una lisis de eritrocitos y la extracción de RNA a través del método de TRIzol y se cuantificó a través de lecturas espectrofotométricas a una absorbancia de 260/280 nm. Consecutivamente, se realizó la síntesis a DNA a través de la reacción PCR. Las secuencias para los cebadores fueron, para LEPR (ObRb): Fw: 5'-GATAGAGGCCAGGCATTTTTTA-3' y Rv:5'-ACACCACTCTCTCTTTTTGATTGA-3', para AdipoR1: Fw:5'-AATTCCTGAGCGCTTCTTTCCT-3' y Rv:5'-CATAGAAGTGGACAAAGGCTGC-3' y como gen constitutivo 18S: Fw:5'-GTCTGTGATGCCCTTAGA TG-3' y Rv: 5'-AGCTTATGACCCGCACTTAC-3' (Linares et al., 2019; Mociño et al., 2017). Finalmente el producto de la PCR, se reveló por medio de una electroforesis en gel de agarosa al 2% y se visualizó a través del fotodocumentador.

Para el análisis de SNP'S se partió de la extracción de sangre periférica y se realizó la extracción de ADNg mediante el método de DNAzol, partiendo de una lisis con detergentes, permitiendo la precipitación del ADN, esto de acuerdo con las indicaciones del fabricante. La concentración de ADN se sometió a lecturas espectrofotométricas en longitudes de onda de 260 nm y 280 nm. La detección de SNP's se realizó por la reacción de la cadena polimerasa (PCR) seguida de longitud

de fragmentos de restricción (RFLP). Los oligonucleótidos, las enzimas de restricción y los productos de digestión son los siguientes:

SNP's	Oligonucleótido	Enzima	Productos	Referencia
LEP rs7799039 -2548 G > A	F 5' AACTTTCTCTAAAGGGCCAGGTA 3' R 5' GTTGTCTTCCCTTGTCCCTAAA 3'	HhaI	Homocigoto G/A 574 pb, 359 pb, 215 pb; Homocigoto G/G 359 pb, 215 pb; Homocigoto A/A 574 pb	Geriki, et. al., 2019; Garcés et. al., 2016; Reza et. al., 2015.
LEPR rs1137101 - Gln223Arg	F ACCCTTTAAGCTGGGTGTCCCAAATAG 3' R AGCTAGCAAATATTTTTGTAAGCAATT 3'	MspI	Homocigoto Gln/Arg 416 pb, 291 pb, 124 pb; Homocigoto Arg/Arg 291 pb, 214 pb; y Homocigoto Gln/Gln 416 pb	Geriki, et. al., 2019; Garcés et. al., 2016; Reza et. al., 2015.
ADIPOQ rs1501299 +276G/T	F 5' TAGGTCCCAACTGGGTGTGT R 5' AGATGCAGCAAAGCCAAAGT 3'	BsmI	Homocigoto G/T 500 pb, 350 pb, 150 pb; Homocigoto G/G 350 pb, 150 pb; y Homocigoto T/T 500 pb	Geriki, et. al., 2019.

En la mezcla de reacción de PCR, para cada SNP's, se tomó en cuenta las siguientes condiciones: la mezcla de reacción de 25 µL contenía 1x de la mezcla Master Mix, oligonucleótidos 0.5 mM, ADN de 5 µL, ADNc, y agua libre de ARNasa /ADNasa (Lyng, Lænkholm, Pallisgaard, & Ditzel, 2008). Cada muestra se desnaturalizó inicialmente a 94° C durante 10 min, posteriormente se sometió a 40 ciclos de lo siguiente: Desnaturalización a 94° C durante 1 minuto y extensión a 58° C por 1 minuto. Cada muestra se expuso a una extensión final a 72° C durante 1 minuto y a 72° C por 7 minutos, y se mantuvo a 4° C (Hosney et al., 2017; Mociño et al., 2017). Los productos del PCR amplificados se sometieron a la digestión enzimática con las enzimas de restricción correspondientes (*HhaI*, *MspI*, *SmaI*) durante 16 horas aproximadamente a 37° C durante 45 minutos. Finalmente los fragmentos resultantes se visualizaron por electroforesis en gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de Etidio (Pérez de Castro & Picó Sirvent, 2014; Williams, 1989).

6.5 Análisis e interpretación

Una vez procesadas las imágenes y el almacenamiento de los datos, finalmente se realizó el análisis estadístico a través de una prueba de ANOVA para las variables cuantitativas y cualitativas; un análisis de la frecuencia alélica y diferencia usando la prueba de chi cuadrado; y la asociación de la expresión de los genes receptores y el IMC así como de las variables de estudio en relación con el cáncer de mama mediante un análisis de regresión (Fátima et al., 2016; Nickel et al., 2018).

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete estadístico SPSS 16.0. y hojas de cálculo de Microsoft Excel (Microsoft, Redmond, WA EE. UU.). Un valor de $p < 0.05$ se consideró estadísticamente significativo.

6.6 Recursos

Los recursos para la recolección de la muestra así como la determinación de la expresión de los genes y SNP's se realizaron a cargo de la Universidad Autónoma del Estado de México, el Hospital del Niño y la Unidad Médica Especializada para la Detección y Diagnóstico de Cáncer de Mama Toluca (UNEME – DEDICAM TOLUCA).

6.7 Aspectos éticos de bioseguridad

La presente investigación se sometió a evaluación por parte del comité de Ética de Investigación de los Hospitales participante, siguiendo los principios descritos en la Declaración de Helsinki. Una vez aprobado, se procedió a realizar la invitación a las pacientes. Las mujeres aceptadas firmaron la carta de consentimiento informado y se completaron el cuestionario referente a la recolección de datos como se muestra en los anexos.

7 RESULTADOS

Chandana Roja <onbehalf@manuscriptcentral.com>

Mar 21/09/2021 11:46



Para: jonnathangsb@yahoo.com.mx

CC: Jessica Berenice Lopez Gonzalez; jonnathangsb@yahoo.com.mx; lsanchezhe; sandoval.mx; enrimorafm@yahoo.com.mx

21-Sep-2021

Dear Dr. Santillán Benítez:

Your manuscript entitled "ObRb, AdipoR1, and CYP19 gene expression show significant association with obesity and overweight in healthy women." by López González, Jessica Berenice; Santillán Benítez, Jonnathan Guadalupe; Sánchez Hernández, Laura; Sandoval Cabrera, Antonio ; Morales Avila, Enrique, has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in Obesity Science & Practice.

Co-authors: Please contact the Editorial Office as soon as possible if you disagree with being listed as a co-author for this manuscript.

Your manuscript ID is OSP4-2021-09-0151.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to ScholarOne Manuscripts at <https://mc.manuscriptcentral.com/ospjournal> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <https://mc.manuscriptcentral.com/ospjournal>.

Thank you for submitting your manuscript to Obesity Science & Practice.

Sincerely,

Obesity Science & Practice Editorial Office

Title:

ObRb, AdipoR1, and CYP19 gene expression show significant association with obesity and overweight in healthy women.

Authors:

Jessica Berenice López González¹, Antonio Sandoval-Cabrera³, Laura Sánchez Hernández^{2,4}, Jonnathan Guadalupe Santillán Benítez¹, Enrique Morales Avila¹

Post address/ Authors' work institution:

¹ The Autonomous University of the State of Mexico (UAEMex) Faculty of Chemistry. Department of Pharmacy. Zipcode: 50120 Toluca, México.

² The Autonomous University of the State of Mexico (UAEMex) Faculty of Sciences. Department of Biotechnology. Zipcode: 50200 Toluca, México.

³ High Specialty Laboratory in Hemato-Oncology, Hospital for the Child, Medical Institute of the State of Mexico. Zipcode: 50120, Toluca, México. Toluca México

⁴ Interdisciplinary Professional Unit of Biotechnology of the National Polytechnic Institute, Department of Bioprocesses. Av. Acueducto, La Laguna Ticomán, Gustavo A. Madero CDMX. Zipcode: 07340, México.

Corresponding autor:

Jonnathan Guadalupe Santillán Benítez: jonnathangsb@yahoo.com.mx

Authors' e-mail addresses:

Jessica Berenice López González: jlopezg026@alumno.uaemex.mx

Antonio Sandoval-Cabrera: sandoval.mx@gmail.com

Laura Sánchez Hernández: lsanchezhe@ipn.mx

Enrique Morales Ávila: enrimorafm@yahoo.com.mx

Abstract:

Obesity and overweight are diseases characterized by excessive accumulation of adipose tissue in the body and are defined by an increase in Body Mass Index (BMI) with values greater than 25 kg/m². Multiple causes of these increases in BMI have been reported. Some have been attributed to the expression of several genes involved in the leptin and adiponectin pathway.

In this research, we focused on evaluating whether the expression of ObRb, AdipoR1, and CYP19 genes have any association with the increase in BMI in the female population of Mexico City over 55 years of age. For this, we worked with a group of 45 women volunteers without the diagnosis of any confirmed pathology.

The study population was classified into three groups (average weight, overweight and obese) according to their BMI and was characterized according to their clinical data of blood cytometry and blood chemistry. At the same time, RT-PCR determined obRb, AdipoR1, and CYP19 gene expression.

The results obtained showed a moderate correlation ($r=0.648$, $p=0.043$) of ObRb gene expression in women with obesity and a moderate negative correlation ($r= -0.389$, $p=0.034$) AdipoR1 gene in women with overweight or obesity.

Based on BMI data, more than 70 % of the study population was overweight and obese. Also, it was found that 64 % of the study population exceeded 150 mg/dL of triglycerides which is the normal healthy range.

Keywords: ObRb, AdipoR1, CYP19, body mass index, obesity, overweight.

INTRODUCTION

Obesity and overweight have spread rapidly throughout the world due to different dietary changes and the lack of physical activity and have become a public health crisis ¹⁻². In Mexico, and according to the ENSANUT-INEGI (National Health and Nutrition Survey and National Institute of Statistics and Geography) in 2018, the percentage of adults with obesity was 36.1 % and overweight 39.1 %, respectively,

placing Mexico as the second country with the second-highest prevalence rate in obesity and overweight ³⁻⁴.

Obesity and overweight are defined as a disease characterized by the excessive accumulation of adipose tissue in the body, presenting itself as a variation in the Body Mass Index (BMI) ⁵⁻⁶. The BMI provides the most useful measure to identify a state of obesity or overweight, since it indicates the relationship between weight and height of an individual, a person is considered with obesity when his BMI is equal or higher than 30 kg/m² and overweight when his BMI is equal or higher than 25 kg/m² ⁷⁻⁸.

Obesity and overweight are related to several adverse causes, including developing metabolic and cardiovascular diseases and diagnosing and developing various types of cancer ⁹⁻¹¹. Several environmental and genetic factors related to lifestyle influence the development of this pathology^{12- 15}.

Several studies have reported that 50-70 % of BMI variations are attributable to genetic differences specific to everyone¹⁶. Currently, more than 127 genes associated with obesity have been reported, among which the long leptin receptor gene (ObRb) and the CYP19 gene coding for the aromatase enzyme stand out¹⁷⁻¹⁹.

The long leptin receptor gene (ObRb) belongs to the cytokine family and regulates fat metabolism. So far, six isoforms of this receptor have been reported, being ObRb the active form, which is associated with the JAK2-STAT3 system and with other intracellular signaling cascades. It has been reported that a mutation or variation can affect its functionality, preventing it from binding to leptin or that upon binding, it cannot be activated, resulting in excessive hunger and weight gain ²⁰⁻²⁶.

The adiponectin type 1 receptor gene (AdipoR1) is a ubiquitously expressed transmembrane receptor with a high affinity for globular adiponectin, abundantly expressed in skeletal muscle. It is binding to adiponectin activates adenosine monophosphate-dependent protein kinase (AMPK), PPAR- γ , and mitogen-activated protein kinase (MAPK). Adiponectin increases insulin sensitivity through different

signaling pathways, reduces hepatic glucose synthesis, and promotes fatty acid oxidation ²⁷⁻²⁹.

On the other hand, the CYP19 gene coding for the aromatase enzyme is involved in the biosynthesis of estrogens, and aromatase inhibitors may affect the distribution and regulation of body fat by modulating the ratio of androgens to estrogens in adipose tissue and has been associated with obesity-related phenotypes in postmenopausal women ³⁰⁻³¹.

Therefore, the present study aimed to determine whether the expression of the genes long leptin receptor (ObRb), adiponectin receptor type 1 (AdipoR1), and the gene coding for the enzyme aromatase (CYP19) were associated with BMI in Mexican women and could be used as predisposing factors for obesity and overweight.

MATERIALS AND METHODS

A total of 45 healthy female volunteers, older than 55 years of age without a confirmed diagnosis of any pathology and with the prior signature of informed consent, were recruited. Data collection was performed following the research ethics guidelines of the participating hospital and the WMA Declaration of Helsinki 2013 ³².

BMI (Body Mass Index).

The determination of BMI was established through the weight-to-height ratio using the formula:

$$\text{BMI} = \frac{\text{Weight (kg)}}{\text{Height ratio (m}^2\text{)}}$$

To classify the study population, the criteria recommended by the WHO were used: average weight (BMI < 25 kg/m²), overweight (BMI ≥ 25 kg/m²), and obesity (BMI ≥ 30 kg/m²) ^{7, 8}.

Clinical information of biometric parameters

The participant's blood chemistry and the biometric parameters were performed to evaluate the levels of glucose, urea, creatinine, uric acid, total cholesterol, and triglycerides using spectrophotometry on the Beckman colter ADR7000 platform. Through blood cytometry, the number of leukocytes, neutrophils, lymphocytes, basophils, monocytes, eosinophils, erythrocytes, Hgb (Hemoglobin), Hto (Hematocrit), MCV (Mean Corpuscular Volume), MCH (Mean Corpuscular Hemoglobin) was evaluated, MCHC (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration), RDW (Red Cell Distribution Width), HDI (Red Cell Dispersion Index), PWV (Platelet Volume) using ACTDiff Beckman colter automated analyzer. Everything was performed at the participating hospital following their internal procedures.

Total RNA extraction

5 mL for biometry and 10 mL for blood chemistry were extracted from peripheral blood in BD Vacutainer® tubes. For total RNA extraction, erythrocyte lysis was first performed using QIAamp RNA Blood Mini Producer kit (Quiagen, Cat. No. ID: 52304) according to the manufacturer's conditions. The total RNA obtained was quantified using the IMPLEN® NanoPhotometer P300 NP80 at 260/280 nm absorbance.

Reverse Transcription and Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

According to the manufacturer, 500 ng of total RNA was used for cDNA synthesis, Revert Aid First Strand cDNA Synthesis kit (Thermo Scientific K1622, Cat. No.ID:10387979) instructions, using the GeneAmp* PCR System 9700 thermal cycler. For endpoint PCR amplification, the MasterMix 2X kit (Promega, Cat. No. ID: M750) was used according to the manufacturer's instructions. For primers, the sequences were used for ObRb: Fw: 5'-GATAGAGAGGCCAGGCATTTTTTA-3' and Rv:5'-ACACCACTCTCTCTCTCTCTCTTTTTTTGATTGA-3', for AdipoR1:

Fw:5'-AATTCCTGAGCGCTTCTTCTTTCT-3' and Rv: 5'-CATAGAAGAAGTGGACAAAGGCTGC-3', for CYP19: Fw:5'-CAAGGTTATTTTTTGGAT GCATGG-3' and Rv:5'-AATCCTTGACAGACTTCTCAT-3', as constitutive gene 18S was used: Fw:5'-GTCTGTGATGATGCCCTTAGA TG-3' and Rv: 5'-AGCTTATGACCCGCACTTAC-3'³³⁻³⁴. They were taken to incubation on the GeneAmp* PCR System 9700 thermal cycler with the following protocol: denaturation at 94 °C /1 min, hybridization at 60 °C /1 min, and extension at 72 °C /1 min for 35 cycles.

Electrophoresis

Products obtained from endpoint PCR were loaded onto a 2.0 % agarose gel (Sigma, Cat. No. ID: 1001134274), and electrophoresis (C. B. S. Scientific, MGU-203T-B) was run at 90 Volts for 40 min. This using 1X TAE run buffer (40mM Tris-Base (Sigma, Cat. ID No. ID 10708976001), 40mM Acetic Acid (Sigma, Cat. ID No. ID A6283), 1mM EDTA (Sigma, Cat. ID No. ID E7889)) with 0.01 % ethidium bromide (Sigma, Cat. ID No. ID: 1239458) as an intercalating agent to visualize the obtained amplicon bands. They were developed under UV light with the aid of the Photodocumentator (UV Transilluminator ANT Technology CUV 40A). Subsequently, the optical intensity of the obtained bands was quantified by densitometry and normalized to arbitrary units corresponding to the positive control of the constitutive 18S gene. Image J 1.52a software (Wayne Rasband) was used for image processing.

Statistical analysis

BMI data were analyzed using descriptive statistics for general qualitative and quantitative variables, using IBM SPSS Statistic 25 2017 statistical software. The correlation analysis of BMI expression concerning each ObRb, AdipoR1, and CYP19 gene was analyzed through Pearson's correlation test for those with a normal distribution and Spearman for non-normal distribution data using IBM SPSS Statistic

25 2017 statistical software, considered a p -value of 0.05. GraphPad Prism 7 statistical software was used to generate the graphs.

RESULTS

Determination of obesity and overweight according to BMI.

A population of $n= 45$ volunteers were observed with an average age of 60.7 ± 6.8 years and an average BMI of $27.9 \pm 4.1 \text{ kg/m}^2$. They were classified according to BMI into three groups: a) Volunteers with average weight or normal weight, b) Volunteers with overweight, and c) Volunteers with obesity. We observed that 71.1 % of the population presented a BMI higher than 25 kg/m^2 (22.2 % with obesity and 48.9 % with overweight), while the remaining 28.9 % were within the normal BMI.

Hematological and biochemical characteristics.

According to Table 1, the data obtained from the blood biometry for the three groups average weight, overweight and obese, no significant differences were found. For the blood chemistry results, no significant differences were found between groups. However, it was observed that 64 % of the participating volunteers showed an increase of more than 150 mg/dL in triglycerides.

Overexpression of ObRb and AdipoR1 genes in overweight and obesity

Endpoint RT-PCR detected ObRb, AdipoR1, and CY19 genes. Fragments of each of them can be seen in Figure 1, which allowed us to detect differences in the genes' expression among the participating volunteers.

The optical intensity of the obtained bands normalized to arbitrary units concerning the positive control of the constitutive 18S gene was quantified (Figure 2).

Table 2 shows the evaluation of the correlation of ObRb, AdipoR1, and CY19 gene expression for BMI, considering the classification of the 3 study groups (average weight, overweight and obese).

Significant differences were obtained for the ObRb gene with BMI higher than 30 kg/m² ($p=0.043$) and for the AdipoR1 gene with BMI higher than 25 kg/m² ($p=0.034$), suggesting an association of the expression of these genes with increased BMI (Figure 2 and 3). We found no significant differences in control for the gene coding for the aromatase enzyme (CYP19).

DISCUSSION

Our study obtained from the analysis concerning BMI showed a prevalence of up to 71.1 % of obesity (22.2 %) and overweight (48.9 %). Similarly, in the 2018 Health and Nutrition Survey (ENSANUT), a prevalence in women worldwide in Mexico was estimated at 78.1 % when BMI was higher than 25 kg/m² ³.

However, several studies have suggested using BMI as an anthropometric indicator to determine obesity and metabolic risk factors. Furthermore, they should also consider waist circumference values since it is necessary to distinguish between body fat and fat-free mass ³⁵⁻³⁷.

In this sense, the guidelines on Prevention, Diagnosis, and Treatment of Overweight and Obesity suggest the performance of clinical studies during the evaluation of patients with overweight and obesity, including blood biometry and other parameters ³⁸. It is important to emphasize that the evaluation of these clinical studies also allows the early recognition of some metabolic or cardiovascular diseases as recommended by the *Canadian Clinical Practice Guidelines on the Management and Prevention of Obesity in Adults and Children 2006* ³⁹. Notably, we did not observe significant differences between the study groups.

Additionally, during the determination of some parameters, as in the case of triglycerides, 64 % of the studied population obtained an increase higher than 150 mg/dL, which is a normal range considered as healthy, which could indicate a possible association of increased BMI with high triglyceride levels as shown by Calleja and Sanchez (2012) ⁴⁰. It is essential to consider that the age of this study group was above 55 years of age, and it is suggested that they were close to the postmenopausal stage. Likewise, Escobedo *et al.* (2014) noticed that the older the

age, the higher the prevalence of presenting increased triglycerides, and that the presence of the postmenopausal stage could be directly related to BMI ^{26, 41-44}.

On the other hand, one of the causes of BMI variations is due to genetic differences, in this sense Tuomo Rankinen *et al.* (2005) presented the map of genes related to human with obesity, reporting an association between DNA sequence variation in specific genes such as ObRb, AdipoR1, and CYP19 and phenotypes. However, these differ between populations ¹⁸.

Our analysis of the long leptin receptor expression known as ObRb showed a moderate correlation of expression in women with obesity ($r=0.648$, $p=0.043$). Several authors have studied the expression of this gene in various populations and have reported that it plays a fundamental role in the pathophysiology of obesity by favoring an increase in % body weight ^{45, 46}.

In the same way, we found a moderate negative correlation of the AdipoR1 gene with overweight or obesity ($r= -0.389$, $p=0.034$), coinciding with the finding of Rasmussen *et al.* (2012), where it decreased in the presence of obesity but increased in the presence of overweight ²⁹.

Indeed, we could not determine an association with the CYP19 gene, possibly due to some variations between individuals. However, we suggest studying the presence of genetic polymorphisms that provide more information about the association of this gene with BMI ³¹.

CONCLUSIONS

The present study demonstrated that.

1. There is a moderate correlation of ObRb gene expression for patients with BMI greater than 30 Kg/m² ($r=0.648$, $p=0.043$) and moderate negative correlation with the AdipoR1 gene for patients with BMI greater than 25 Kg/m² ($r= -0.389$, $p=0.034$)

in Mexican women from the State of Mexico and older than 55 years of age who are healthy. However, it is essential to ensure the data replication and extrapolate it to the entire Mexican female population, having more variables that can influence the diagnosis of this pathology and can be used as predisposing factors.

2. The increase of more than 150 mg/dL of triglycerides in our study population alludes to increased lipoproteins and, therefore, the possible presence of dyslipidemia associated with obesity is possibly caused by physical inactivity inadequate nutrition. However, it is essential to corroborate the behavior of this parameter and others such as cholesterol in different populations to confirm the diagnosis.

3. We suggest the importance of studying genetic polymorphisms or SNPs in the genes involved with variations in BMI and determining the circulating blood levels of certain adipokines such as leptin and adiponectin provide more information about the association with this pathology and the different phenotypes.

4. We also suggest the importance of promoting physical activity and providing help on balanced diets to maintain a BMI below 25 kg/m², thus mitigating the risk of developing obesity and developing metabolic and cardiovascular diseases.

Conflict of interests: There is no conflict of interest.

Acknowledgments: We gratefully acknowledge financial support from SEIA UAEM 6247/2020.

TABLES

Table 1. Hematologic and biochemical characteristics of the study population.

	Normal weight (n= 13)	Overweight (n= 22)	Obese (n=10)	p
Age (years)	60.84 ± 7.78	60.50 ± 7.80	60.4 ± 5.23	0.986
Weight (Kg)	58.00 (55.5-61.00)	64.85 (60.87-64.85)	76.50 (69.25-89.00)	0.000
Height (m)	1.56 ± 0.05	1.52 ± 0.06	1.52 ± 0.06	0.227
Leukocytes (10e³/μL)	6.18 ± 1.57	6.02 ± 1.58	6.83 ± 0.89	0.349
Neutrophils (%)	59.50 (55.75-65.60)	54.10 (46.45-61.25)	54.40 (52.27-58.35)	0.225
Lymphocytes (%)	28.13 ± 6.20	32.99 ± 10.69	32.61 ± 7.99	0.290
Monocytes (%)	5.32 ± 1.52	5.17 ± 1.34	5.49 ± 1.53	0.840
Eosinophils (%)	1.90 (1.45-3.80)	2.35 (1.57-3.95)	3.45 (2.87-4.45)	0.829
Basophils (%)	1.0 (0.62-1.87)	0.8 (0.75-1.75)	0.9 (0.67-1.52)	0.783
Erythrocytes (10e³/μL)	4.84 ± 0.26	4.79 ± 0.33	4.83 ± 0.28	0.878
Hgb (g/dL)	14.8 (41.1-14.8)	14.8 (14.27-15.67)	14.8 (13.77-15.67)	0.633
Hto (%)	47.08 ± 2.67	47.50 ± 3.60	45.61 ± 4.32	0.377
MCV (fL)	96.6 (93.5-102.0)	99.25 (95.32-103.37)	95.36 (84.57-97.67)	0.031
HCM (pg)	30.0 (29.9-31.45)	31.0 (30.30-32.70)	30.60 (9.47-31.45)	0.333
MCHC (g/dL)	37.70 (30.05-32.70)	31.90 (30.27-33.05)	32.10 (30.92-33.44)	0.933
RDW (%)	13.0 (12.85-13.60)	13.10 (12.6 -13.65)	13.65 (12.97-14.32)	0.223
HDI (g/dL)	2.53 (2.34-2.75)	2.54 (2.42-2.77)	2.56 (2.37-2.73)	0.766
Platelets (10e³/μL)	261.23 ± 62.68	236.31 ± 47.61	258.90 ± 60.56	0.355
VMP (fL)	11.18 ± 1.19	11.51 ± 1.80	11.11 ± 1.96	0.766
Glucose (mg/dL)	95.4 (85.6-106.6)	99.7 (87.8-114.9)	95.90 (87.2-96.3)	0.565
BUN (mg/dL)	13.0 (12.0-18.0)	28.8 (23.5-31.7)	18.0 (13.0-22.5)	0.078
Urea (mg/dL)	28.1 (26.3-38.8)	13.0 (11.0-15.0)	37.6 (27.4-48.05)	0.098
Creatinine (mg/dL)	0.79 ± 0.09	0.79 ± 0.11	0.89 ± 0.12	0.498
Uric acid (mg/dL)	4.78 ± 0.81	5.39 ± 0.79	5.70 ± 0.61	0.345
Cholesterol (mg/dL)	182.22 ± 19.44	196.08 ± 20.54	196.26 ± 14.43	0.547
Triglycerides (mg/dL)	170.9 (132.4-259.2)	158.2 (132.4-272.1)	205.8 (138.4-283.3)	0.976

Abbreviations: BMI (Body Mass Index), Hgb (Hemoglobin), Hto (Hematocrit), MCV (Mean Corpuscular Volume), MCH (Mean Corpuscular Hemoglobin), MCHC (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration), RDW (Red Cell Distribution Width), HDI (Red Cell Dispersion Index), PWV (Platelet Volume). * Data out of range of the upper limit allowed.

Table 2. Correlation of ObRb, AdipoR1, and CYP19 gene expression coding for aromatase enzyme.

Gen/IMC	< 25 Kg/m ²		> 25 Kg/m ²		> 30 Kg/m ²	
	r	P	r	p	r	p
ObRb	0.217	0.576	0.165	0.382	0.648*	0.043
AdipoR1	0.444	0.231	-0.389**	0.034	-0.464	0.177
CYP19	0.343	0.366	0.168	0.376	-0.115	0.751

* Moderate correlation

** Negative moderate correlation

Notes: BMI less than 25 Kg/m² (average weight), greater than 25 Kg/m² (overweight), and greater than 30 Kg/m² (obesity), respectively.

FIGURES

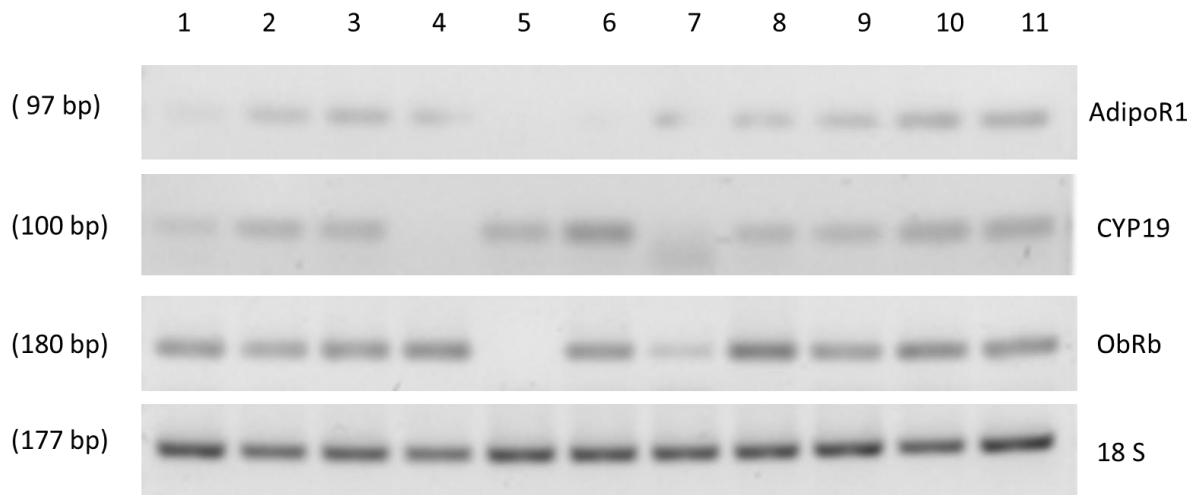


Figure 1. ObRb, AdipoR1, and CYP19 expression levels in postmenopausal women.

Notes: The image of ObRb, AdipoR1, and CYP19 expression levels shows the bands obtained from the RT-PCR reaction, including the 18S positive control.

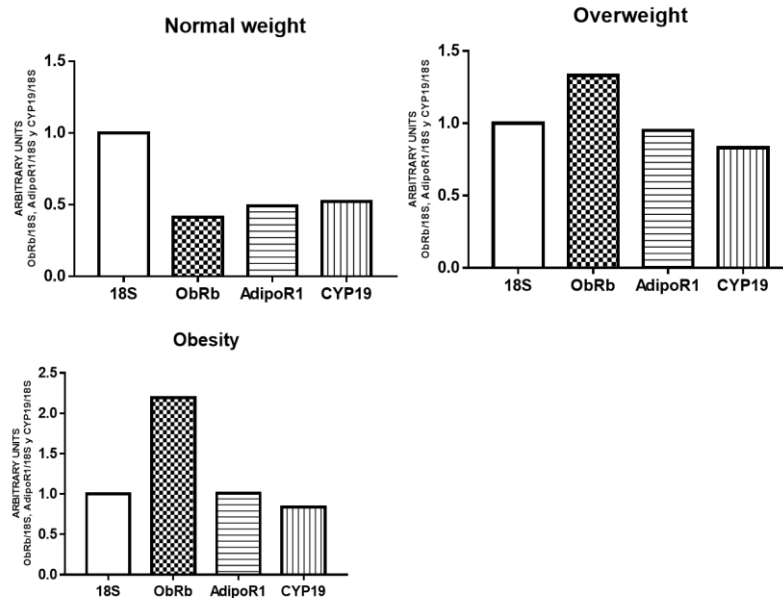


Figure 2. Effect of overweight and obesity on ObRb overexpression.

Notes: Representative image of the effect of overweight and obesity on ObRb and AdipoR1 overexpression. The optical intensity of the bands obtained by RT-PCR was quantified and normalized to arbitrary units concerning the positive control of the constitutive 18S gene.

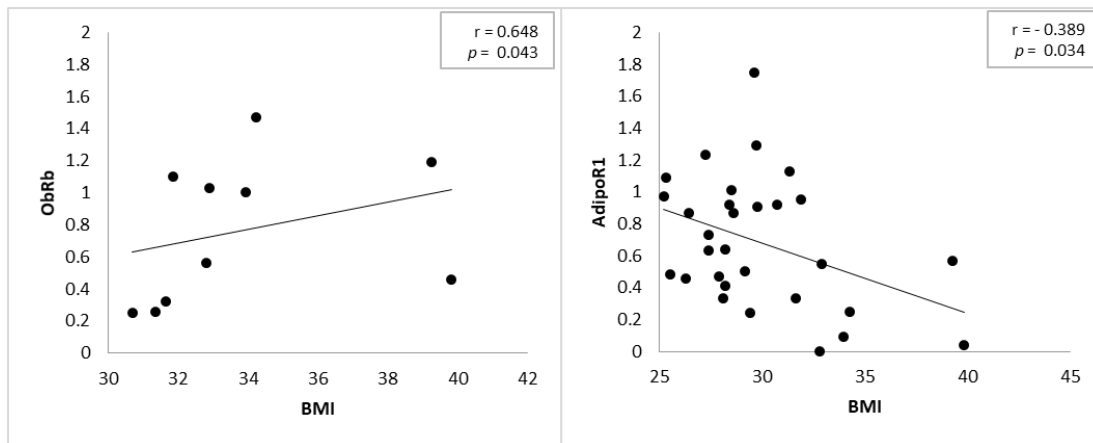


Figure 3. Correlation of ObRb, AdipoR1 gene expression for BMI.

Notes: Scatter plot of the correlation of ObRb gene expression with BMI greater than 30 kg/m² on the right ($r=0.648$, $p=0.043$) and for AdipoR1 gene with BMI greater than 25 kg/m² ($r= -0.389$, $p=0.034$) on the left.

8 CONCLUSIONES

La importancia de conocer la asociación del cáncer de mama con la obesidad toma aún más importancia, ya que a través de ella es posible comprender el origen y su utilidad como biomarcador de riesgo para posteriormente diseñar tratamientos dirigidos a que mejoren la calidad de vida de las pacientes y disminuya así la incidencia y mortalidad.

También es de suma importancia crear hábitos donde se promueva la actividad física y proporcionar asesoría sobre la creación de dietas balanceadas con la finalidad de mitigar el riesgo a desarrollar obesidad y enfermedades metabólicas, cardiovasculares y el desarrollo de cáncer de mama.

9 PERSPECTIVAS

- Caracterización del grupo de pacientes con lesiones malignas de cáncer de mama
- Asociación de los polimorfismos de LEP (-2548 G>A), LEPR (-Gln233Arg) y ADIPOQ (+276 G/T) en mujeres postmenopáusicas sanas y con lesiones malignas de cáncer de mama y su asociación.

10 REFERENCIAS

- Aibar, L., Santalla, A., López-Criado, M. S., González-Pérez, I., Calderón, M. A., Gallo, J. L., & -Parra, J. F. (2011). Clasificación radiológica y manejo de las lesiones mamarias. *Clinica e Investigacion en Ginecologia y Obstetricia*, 38(4), 141–149. <https://doi.org/10.1016/j.gine.2010.10.016>
- Akram, M., Iqbal, M., Daniyal, M., & Khan, A. U. (2017). Awareness and current knowledge of breast cancer. *Biological Research*, 50(1), 1–23. <https://doi.org/10.1186/s40659-017-0140-9>
- Angulo, M. M., Yustos, M. A., León, M. L. V., & De Mon Soto, M. Á. (2013). Cáncer de mama. *Medicine (Spain)*, 11(27), 1629–1640. [https://doi.org/10.1016/S0304-5412\(13\)70517-1](https://doi.org/10.1016/S0304-5412(13)70517-1)
- Banerji, S., Cibulskis, K., Rangel-Escareno, C., Brown, K. K., Carter, S. L., Frederick, A. M., ... Meyerson, M. (2012). Sequence analysis of mutations and translocations across breast cancer subtypes. *Nature*, 486(7403), 405–409. <https://doi.org/10.1038/nature11154>
- Bowers, L. W., & deGraffenried, L. A. (2015). Targeting the COX-2 Pathway to Improve Therapeutic Response in the Obese Breast Cancer Patient Population. *Current Pharmacology Reports*, 1(5), 336–345. <https://doi.org/10.1007/s40495-015-0041-y>
- Chen, J., Shen, S., Tan, Y., Xia, D., Xia, Y., Cao, Y., ... Wang, Y. (2015). The correlation of aromatase activity and obesity in women with or without polycystic ovary syndrome. *Journal of Ovarian Research*, 8(1), 4–9. <https://doi.org/10.1186/s13048-015-0139-1>
- Crake, R. L. I. (2015). *Exploring Molecular Links between Obesity and Breast Cancer*. Recuperado de <https://ourarchive.otago.ac.nz/handle/10523/6057>
- D'Angelo, C. S., Varela, M. C., De Castro, C. I. E., Otto, P. A., Perez, A. B. A., Lourenço, C. M., ... Koiffmann, C. P. (2018). Chromosomal microarray analysis in the genetic evaluation of 279 patients with syndromic obesity. *Molecular*

Cytogenetics, 11(1), 1–18. <https://doi.org/10.1186/s13039-018-0363-7>

Daghestani, M., Purohit, R., Daghestani, M., Daghistani, M., & Warsy, A. (2019). Molecular dynamic (MD) studies on Gln233Arg (rs1137101) polymorphism of leptin receptor gene and associated variations in the anthropometric and metabolic profiles of Saudi women. *PLoS ONE*, 14(2), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211381>

ElSharkawy, A. M. (2014). *Principles and Practice of Cancer Prevention and Control: Breast Cancer*. 1–12. Recuperado de www.esciencecentral.org/ebooks

Espinosa Ramírez, M. (2017). Revista Medica Sinergia Cancer De Mama. *Revista Sinergia Médica*, 2, 8–12. Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/sinergia/rms-2017/rms171b.pdf>

Fangyi, G. (2013). Leptin and leptin receptor genes in relation to premenopausal breast cancer incidence and grade in Caucasian women. *Breast Cancer Res Treat.*, 23(1), 1–7. <https://doi.org/10.1038/jid.2014.371>

Fátima, M., Sanabria, S. De, Del, P. G. A., Leptina, G. E. N. D. E., Gen, Y. G. D. E. L., Leptina, R. D. E., ... Cardiometabolico, R. (2016). Polimorfismos G2548a Del Gen De Leptina Y Gln223Arg. *Archivos venezolanos de puericultura y pediatría*, 79(1), 54–61.

Feng, Y., Spezia, M., Huang, S., Yuan, C., Zeng, Z., Zhang, L., ... Ren, G. (2018). Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis. *Genes and Diseases*, 5(2), 77–106. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2018.05.001>

Fernandez, J. G., & Ovares, C. E. U. (2012). LA GLÁNDULA MAMARIA, EMBRIOLOGÍA, HISTOLOGÍA, ANATOMÍA Y UNA DE SUS PRINCIPALES PATOLOGÍAS, EL CÁNCER DE MAMA. *Revista Medica de Costa Rica y Centroamerica LXIX*, 2(602), 317–320.

García Torres, D., Castellanos González, M. F., Cedeño Morales, R., Benet

- Rodríguez, M., & Ramírez Arteaga, I. (2014). Tejido adiposo como glándula endocrina . Implicaciones adipose tissue as endocrine gland. *Finlay*, 1(2), 131–136.
- Gennari, L., Masi, L., Merlotti, D., Picariello, L., Falchetti, A., Tanini, A., ... Brandi, M. L. (2004). A polymorphic CYP19 TTTA repeat influences aromatase activity and estrogen levels in elderly men: Effects on bone metabolism. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89(6), 2803–2810. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-031342>
- Geriki, S., Bitla, A. R., SrinivasaRao, P. V. L. N., Hulikal, N., Yootla, M., Sachan, A., ... Kumari, A. P. (2019). Association of single nucleotide polymorphisms of adiponectin and leptin genes with breast cancer. *Molecular Biology Reports*, 46(6), 6287–6297. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-05070-5>
- González Jiménez, E. (2011). Genes y obesidad: Una relación de causa-consecuencia. *Endocrinología y Nutricion*, 58(9), 492–496. <https://doi.org/10.1016/j.endonu.2011.06.004>
- Herranz Martí, M. (2001). El riesgo de cáncer de mama. Conceptos prácticos. *Medicina Integral*, 38(11), 424–436. Recuperado de <http://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-el-riesgo-cancer-mama-conceptos-13024489>
- Hosney, M., Sabet, S., El-Shinawi, M., Gaafar, K. M., & Mohamed, M. M. (2017). Leptin is overexpressed in the tumor microenvironment of obese patients with estrogen receptor positive breast cancer. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 13(5), 2235–2246. <https://doi.org/10.3892/etm.2017.4291>
- Huicochea Castellanos, S. (2009). Cáncer de mama. *Anales de Radiología México*, 1, 117–126. Recuperado de <http://www.medigraphic.com/pdfs/anaradmex/arm-2009/arm091j.pdf>
- IMSS. (2004). *Guía de practica clinica “Diagnóstico y Tratamiento del Cáncer de Mama”*. 4, 1–40. Recuperado de <http://www.cenetec.salud.gob.mx/interior/gpc.html>

- IMSS. (2017). *Guía de práctica clínica "Prevención, Tamizaje y Referencia Oportuna de Casos Sospechosos de Cáncer de Mama"*. 22.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía; Instituto Nacional de Salud Pública; Secretaría de Salud. (2018). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018 Estado de Mexico. En *Ensanut* (Vol. 1).
- Intituto Nacional de Estadística y Geografía. (2018). *Estadísticas a Propósito del Día Mundial Contra el Cáncer*. 1–13.
- Karim, S., Merdad, A., Schulten, H. J., Jayapal, M., Dallol, A., Buhmeida, A., ... Al-Qahtani, M. H. (2016). Low expression of leptin and its association with breast cancer: A transcriptomic study. *Oncology Reports*, 36(1), 43–48. <https://doi.org/10.3892/or.2016.4806>
- L, T. D. D., Ibarra, C., & Velasquillo, C. (2013). Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Investigacion en discapacidad*, 2, 70–78.
- Linares, R. L., Benítez, J. G. S., Reynoso, M. O., Romero, C. G., & Sandoval-Cabrera, A. (2019). Modulation of the leptin receptors expression in breast cancer cell lines exposed to leptin and tamoxifen. *Scientific Reports*, 9(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55674-x>
- Liu, C., & Liu, L. (2011). Polymorphisms in three obesity-related genes (LEP, LEPR, and PON1) and breast cancer risk: a meta-analysis. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 32(6), 1233–1240. <https://doi.org/10.1007/s13277-011-0227-9>
- López, D. G. A. (2018). ¿Qué es el cáncer de mama? *Articulos*, 76.
- Lorincz, A. M., & Sukumar, S. (2006). Molecular links between obesity and breast cancer. *Endocrine-Related Cancer*, 13(2), 279–292. <https://doi.org/10.1677/erc.1.00729>
- Lyng, M. B., Lænkholm, A. V., Pallisgaard, N., & Ditzel, H. J. (2008). Identification of genes for normalization of real-time RT-PCR data in breast carcinomas. *BMC*

Cancer, 8, 1–11. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-8-20>

Madrigal Ureña, A., & Mora Rosenkranz, B. (2018). Generalidades de cáncer de mama para médico general. *Medicina Legal de Costa Rica*, 35(1), 44–51.

Mahmoudi, R., Noori Alavicheh, B., Nazer Mozaffari, M. A., Fararouei, M., & Nikseresht, M. (2015). Polymorphisms of Leptin (-2548 G/A) and Leptin Receptor (Q223R) Genes in Iranian Women with Breast Cancer. *International Journal of Genomics*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/132720>

Malvia, S., Bagadi, S. A. R., Pradhan, D., Chintamani, C., Bhatnagar, A., Arora, D., ... Saxena, S. (2019). Study of Gene Expression Profiles of Breast Cancers in Indian Women. *Scientific Reports*, 9(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46261-1>

Martín, M., Herrero, A., & Echavarría, I. (2015). El cáncer de mama. *Arbor*, 191(773). <https://doi.org/10.3989/arbor.2015.773n3004>

Martinez-Hernandez, J. E., Suárez-Cuenca, J. A., Martínez-Meraz, M., López-Rivera, I. M., De Vaca, R. P. C., Mondragón-Terán, P., & Alcaraz-Estrada, S. L. (2019). Role of adiponectine on obesity and diabetes type 2. *Medicina Interna de Mexico*, 35(3), 389–396. <https://doi.org/10.24245/mim.v35i3.2448>

Martos-Moreno, G. Á., & , Serra-Juhé Clara, Pérez-Jurado Luis A., A. J. (2017). Aspectos genéticos de la obesidad. *Rev Esp Endocrinol Pediatr*, 8(IMC), 21–32.

McCarthy, M. I. (2010). Genomics, Type 2 Diabetes, and Obesity. *New England Journal of Medicine*, 363(24), 2339–2350. <https://doi.org/10.1056/nejmra0906948>

Mociño-Rodríguez, M. D., Santillán-Benítez, J. G., Dozal-Domínguez, D. S., Hernández-Navarro, M. D., Flores-Merino, M. V., Sandoval-Cabrera, A., & García Vázquez, F. J. (2017). Expression of AdipoR1 and AdipoR2 Receptors as Leptin-Breast Cancer Regulation Mechanisms. *Disease Markers*, 2017, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2017/4862016>

- Nickel, A., Blücher, C., Kadri, O. Al, Schwagarus, N., Müller, S., Schaab, M., ... Stadler, S. C. (2018). Adipocytes induce distinct gene expression profiles in mammary tumor cells and enhance inflammatory signaling in invasive breast cancer cells. *Scientific Reports*, 8(1), 9482. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-27210-w>
- Nyante, S. J., Gammon, M. D., Kaufman, J. S., Bensen, J. T., Lin, D. Y., Barnholtz-Sloan, J. S., ... Millikan, R. C. (2011). Common genetic variation in adiponectin, leptin, and leptin receptor and association with breast cancer subtypes. *Breast Cancer Research and Treatment*, 129(2), 593–606. <https://doi.org/10.1007/s10549-011-1517-z>
- Organización Mundial de la Salud. (2018). Global Cancer Observatory.
- Organizacion Panamericana de la Salud. (2018). Cáncer de mama.
- Organization for Economic Co-operation and Development. (2010). La obesidad y la economía preventiva.
- Pérez de Castro, A. M., & Picó Sirvent, M. B. (2014). Marcadores basados en restricción e hibridación : RFLPs (Restriction Fragment Length Polymorphisms). *Universidad Politécnica de Valencia*, (Julio), 1–8. Recuperado de https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/38353/articulo_docente_RFLPs.pdf?sequence=1
- Rasmussen, M. S., Lihn, A. S., Pedersen, S. B., Bruun, J. M., Rasmussen, M., & Richelsen, B. (2006). Adiponectin receptors in human adipose tissue: Effects of obesity, weight loss, and fat depots. *Obesity*, 14(1), 28–35. <https://doi.org/10.1038/oby.2006.5>
- Riaz, M., van Jaarsveld, M. T. M., Hollestelle, A., Prager-van der Smissen, W. J. C., Heine, A. A. J., Boersma, A. W. M., ... Martens, J. W. M. (2013). MiRNA expression profiling of 51 human breast cancer cell lines reveals subtype and driver mutation-specific miRNAs. *Breast Cancer Research*, 15(2). <https://doi.org/10.1186/bcr3415>

- Ristow, M., Müller-Wieland, D., Pfeiffer, A., Krone, W., & Kahn, C. R. (2002). Obesity Associated with a Mutation in a Genetic Regulator of Adipocyte Differentiation. *New England Journal of Medicine*, 339(14), 953–959. <https://doi.org/10.1056/nejm199810013391403>
- Salud, O. M. de la. (2021). Cáncer de mama.
- Sánchez, Jesús Cárdenas, Rocha, J. E. B., Piña, V. B., Sánchez, G. C., Erazo Valle-Solís, A. A., Balcázar, C. H. F., ... Queijeiro, M. A. V. (2017). Consenso Mexicano sobre diagnóstico y tratamiento del cancer mamario. *Gaceta Mexicana de Oncología*, 16, 7–78.
- Sánchez, Julio César. (2005). Perfil fisiológico de la Léptina. *Colombia Médica*, 36(1), 50–59.
- Sánchez R, C., Ibáñez, C., & Klaassen, J. (2014). Obesidad y cáncer: la tormenta perfecta. *Revista médica de Chile*, 142(2), 211–221. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872014000200010>
- Santill, J. G., & Mendieta, H. (2013). Expresión génica y receptores hormonales en cáncer mamario. “El camino hacia la búsqueda de terapias preventivas”. *Medicina e Investigación*, 1(1), 17–24.
- Scuteri, A., Sanna, S., Chen, W. M., Uda, M., Albai, G., Strait, J., ... Abecasis, G. R. (2007). Genome-wide association scan shows genetic variants in the FTO gene are associated with obesity-related traits. *PLoS Genetics*, 3(7), 1200–1210. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0030115>
- Secretaria de Salud. (2017). Norma Oficial Mexicana NOM-008-SSA3-2017, Para el tratamiento integral del sobrepeso y la obesidad.
- Shah, R. (2014). Pathogenesis, prevention, diagnosis and treatment of breast cancer. *World Journal of Clinical Oncology*, 5(3), 283. <https://doi.org/10.5306/wjco.v5.i3.283>
- Thaker, V. V. (2017). Genetic and Epigenetic Causes of Obesity. *Adolescent medicine: state of the art reviews*, 28(2), 379–405.

- Valle, A., Sastre-Serra, J., Pol, C., Miró, A. M., Oliver, J., & Roca, P. (2011). Proteomic analysis of MCF-7 breast cancer cell line exposed to leptin. *Analytical Cellular Pathology*, 34(3), 147–157. <https://doi.org/10.3233/ACP-2011-013>
- Wang, S., Sparks, L. M., Xie, H., Greenway, F. L., De Jonge, L., & Smith, S. R. (2009). Subtyping obesity with microarrays: Implications for the diagnosis and treatment of obesity. *International Journal of Obesity*, 33(4), 481–489. <https://doi.org/10.1038/ijo.2008.277>
- Williams, R. C. (1989). *Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)*. 184, 159–184.
- Zepeda-Castilla, E. J., Recinos-Money, E., Cuéllar-Hubbe, M., Robles-Vidal, C. D., & Maafs-Molina, E. (2008). Clasificación molecular del cáncer de mama. *Cirugia y Cirujanos*, 76(1), 87–93. <https://doi.org/10.4206/cuad.cir.2011.v25n1-10>
- Zhang, F., Chen, Y., Heiman, M., & DiMarchi, R. (2005). Leptin: Structure, Function and Biology. *Vitamins and Hormones*, 71(05), 345–372. [https://doi.org/10.1016/S0083-6729\(05\)71012-8](https://doi.org/10.1016/S0083-6729(05)71012-8)

11 ANEXOS

Chandana Roja <onbehalf@manuscriptcentral.com>

Mar 21/09/2021 11:46



Para: jonnathangsb@yahoo.com.mx

CC: Jessica Berenice Lopez Gonzalez; jonnathangsb@yahoo.com.mx; lsanchezhe; sandoval.mx; enrimorafm@yahoo.com.mx

21-Sep-2021

Dear Dr. Santillán Benítez:

Your manuscript entitled "ObRb, AdipoR1, and CYP19 gene expression show significant association with obesity and overweight in healthy women." by López González, Jessica Berenice; Santillán Benítez, Jonnathan Guadalupe; Sánchez Hernández, Laura; Sandoval Cabrera, Antonio; Morales Avila, Enrique, has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in Obesity Science & Practice.

Co-authors: Please contact the Editorial Office as soon as possible if you disagree with being listed as a co-author for this manuscript.

Your manuscript ID is OSP4-2021-09-0151.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to ScholarOne Manuscripts at <https://mc.manuscriptcentral.com/ospjournal> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <https://mc.manuscriptcentral.com/ospjournal>.

Thank you for submitting your manuscript to Obesity Science & Practice.

Sincerely,

Obesity Science & Practice Editorial Office



Toluca Estado de México, México 16 de Julio del 2020

Dr. Arturo Cesar López Salgado
Jefe de la Jurisdicción Sanitaria Toluca

PRESENTE

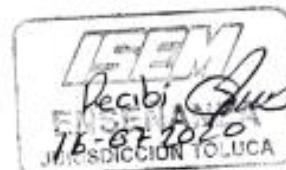
Con el envío de cordiales saludos, solicito amablemente su apoyo con la finalidad de poder desarrollar el proyecto de Maestría en Ciencias y Tecnología Farmacéutica que lleva por título "Asociación de polimorfismos de LEP (-2548 G>A), LEPR (-Gln233Arg) y ADIPOQ (+276 G/T) en mujeres postmenopáusicas obesas como biomarcador de riesgo para cáncer de mama" que esta desarrollado la alumna IBT. Jessica Berenice López González, bajo la coordinación de la Dra. Adriana Quijano Ortiz, en pacientes que son atendidas en la UNEME-DEDICAM, el cual es un protocolo regido por los estándares de Ética de Investigación de la Facultad de Química UAEMéx, en beneficio de las participantes quienes firmaran una carta de consentimiento informado la cual adjunto, pretendiendo a largo plazo la obtención de grado de la alumna y posible publicación en revistas indexada de los resultados obtenidos.

Quedo atento y agradezco de ante mano la atención que tenga a bien dar al presente

Dr. Jonnathan Guadalupe Santillán Benítez

PTC Facultad de Química, SNI I

jgsantillanb@uaemex.mx



C.c.p. Mtro. Rodolfo Flores Gutiérrez, Jefe de Enseñanza

Facultad de Química de la UAEM,
Paseo Colón Esq. Paseo Toluca,
Col. Residencial Colón. C.P. 50220.
Toluca, Estado de México
Tel. (722) 2575109 / 2573890
fquim@uaemex.mx





Carta de consentimiento informado

DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL USO DE MUESTRAS DE SANGRE CON FINES DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA

Es importante que lea detenidamente esta hoja de consentimiento informado, que entienda su contenido y el objeto de la misma y que, en su caso, haga todas las preguntas que crea preciso acerca de la misma.

Investigador Responsable: Dr. Jonnathan Guadalupe Santillán Benítez.

Sede donde se realizará el estudio: Universidad Autónoma del Estado de México.

OBJETIVO DEL ESTUDIO

Este documento tiene como objeto solicitar su autorización escrita para la donación gratuita de una muestra de sangre, con el fin de utilizarla en la investigación de identificación de polimorfismo de genes LEP, LEPR y ADIPOR1 relacionados con obesidad en mujeres postmenopáusicas que sirvan como biomarcador de riesgo para el desarrollo de cáncer de mama. El objetivo de este estudio es utilizar la muestra de su sangre para aislar DNA y buscar por técnicas de Biología Molecular polimorfismos asociados.

La finalidad de la donación es dotar a los investigadores de sangre para que puedan desarrollar avances en el terreno del conocimiento sobre la obesidad y cáncer de mama, para disponer en un futuro de mejores herramientas predictivas y terapéuticas.

PROCEDIMIENTO

La duración total esperada de la participación en el estudio es una sola visita para toma de su historia clínica y la toma de una muestra de sangre. Durante su visita se revisará su historial clínico para determinar si es candidato a participar en el estudio. Si usted acepta participar se le realizará una toma de sangre (8 ml de sangre por punción venosa, tubo morado y tubo para suero) para la investigación. Inmediatamente tras la extracción de la muestra se asignará un código alfanumérico que será el único identificador de la muestra; siempre y cuando cumpla con los parámetros requeridos: mujer sana, mayor de 55 años de edad, sin alguna enfermedad infecto-contagiosa o una enfermedad que implique una discrasia sanguínea o una enfermedad metabólica o haber ingerido algún fármaco entre 24 a 48 horas previas a la toma de muestra; y mujer diagnosticada con cáncer de mama a través de un mamograma de diagnóstico y detección y sean posibles candidatos a la realización de una biopsia. Todas las muestras serán salvaguardadas en un almacén refrigerado. Estas muestras podrán utilizarse en investigaciones futuras.

La donación de esta muestra es voluntaria por lo que, Usted puede revocar el consentimiento en cualquier momento. En caso de revocación, su muestra dejará de formar parte de la investigación, aunque los datos obtenidos hasta ese momento sí formarán parte del archivo.





Su decisión, sea cual fuere, no comportará penalización alguna, ni afectará en ningún modo a los cuidados médicos y a la asistencia que usted pueda necesitar en el futuro.

Toda información recabada y los resultados de los estudios serán manejados con estricta confidencialidad y solo para los fines ya descritos.

RIESGOS

La obtención de la muestra es en principio un procedimiento exento de riesgo, y sus posibles complicaciones son las mismas que las de cualquier extracción de sangre habitual incluyendo moretones.

BENEFICIOS

La donación tiene por disposición legal carácter altruista, por lo que Ud. no obtendrá ni ahora ni en el futuro ningún beneficio económico por la misma. No está previsto compensarle por los productos desarrollados a partir de esta investigación. Tampoco obtendrá ningún otro beneficio directo como resultado de su participación en este estudio.

CONFIDENCIALIDAD

Toda la información que se obtenga al analizar las muestras que nos ha donado, así como toda información clínica referente a usted, será considerada confidencial y tratada en consecuencia. Para garantizar el anonimato de su identidad (asegurar que la información de su muestra de sangre no se relaciona con su identidad), su muestra sólo irá identificada desde el momento mismo de la extracción con un código. La relación entre su código y su identidad quedará custodiada por una persona autorizada del equipo investigador, adoptándose medidas estrictas para que tal información no esté disponible más que para este personal autorizado, que en ningún caso podrá develar su identidad a terceros. Así, podemos asegurar que cualquier información que se obtenga a partir de sus muestras biológicas será confidencial.

Le agradecemos su desinteresada colaboración con el avance de la ciencia y la medicina.

Yo, _____ de _____ años de edad.
(Nombre y dos apellidos del paciente)

Manifiesto que he recibido la información que me ha sido proporcionada sobre el procedimiento anteriormente indicado y he podido formular las preguntas que he considerado oportunas. También comprendo que, en cualquier momento y sin necesidad de dar ninguna explicación, puedo revocar el Consentimiento que ahora presto. Por ello, manifiesto que me considero satisfecha con la información recibida.

Firma	Fecha

Este documento debe ser remitido a:
Dr. Jonnathan Guadalupe Santillán Benítez
Facultad de Química
Toluca, Edo. de México-México.

Facultad de Química de la UAEM,
Paseo Colón Esq. Paseo Tolloca,
Col. Residencial Colón. C.P. 50120.
Toluca, Estado de México
Tel. (722) 2175109 / 2173890
fqum@uamex.mx





CUESTIONARIO DE FACTORES DE RIESGO

Fecha: _____

Con el fin de complementar los resultados de la asociación de polimorfismos en genes de LEP, LEPR y ADIPOR1 en mujeres postmenopáusicas obesas como biomarcador de riesgo de cáncer de mama, contestar los siguientes cuestionamientos con la mayor veracidad posible, además de ello le informo que sus datos permanecerán en confidencialidad.

IDENTIFICACION DEL PACIENTE

NOMBRE: _____

DOMICILIO: _____ EDAD: _____ años

SEXO: M F LUGAR DE NACIMIENTO: _____

OCUPACION: _____ TELEFONO: _____

TALLA: _____ metros PESO: _____ Kg

En el siguiente apartado marque con una X la(s) respuestas.

ANTECEDENTES HEREDO-FAMILIARES

¿En su familia alguien ha padecido o padece...?

Sobre peso u obesidad

SI NO ESPECIFIQUE TIPO: _____

Cáncer

SI NO ESPECIFIQUE TIPO: _____

ANTECEDENTES PATOLÓGICOS

Si usted padece cáncer de mama....

Fecha de diagnóstico: _____

Tipo histológico: _____

Tratamiento recibido: _____

Estudio de ER o PR: _____





Cirugía: _____

Estadio clínico: _____

ANTECEDENTES PATOLOGICOS PERSONALES

¿Usted ha padecido o padece?

Aumento de colesterol

SI ___ NO ___ ESPECIFIQUE: _____

Aumento de triglicéridos

SI ___ NO ___ ESPECIFIQUE: _____

Problemas emocionales (Estrés, depresión, etc.)

SI ___ NO ___ ESPECIFIQUE: _____

ANTECEDENTES PREVIOS

Mamografía anual

SI ___ NO ___

FACTORES DE RIESGO

Tratamiento hormonal

SI ___ NO ___ ESPECIFIQUE TIPO Y TIEMPO: _____

Hijos

SI ___ NO ___ ESPECIFIQUE CUANTOS Y EDAD A LA QUE TUVO SU PRIMER HIJO:

Lactancia

SI ___ NO ___ especifique tiempo: _____

Fecha de la primera menstruación: _____

Edad de la menopausia (si aplica): _____





Consumo de alcohol, tabaco o drogas

SI ___ NO ___ ESPECIFIQUE TIPO: _____

PADECIMIENTO ACTUAL

¿Padece alguno de los siguientes signos?

Aumento de peso

SI ___ NO ___ ESPECIFIQUE TIPO: _____

Fatiga y dolor en articulaciones

SI ___ NO ___ ESPECIFIQUE TIPO: _____

Perdida de apetito

SI ___ NO ___ ESPECIFIQUE TIPO: _____

Embrazo

SI ___ NO ___ ESPECIFIQUE TIPO: _____

Perdida de sueño

SI ___ NO ___ ESPECIFIQUE TIPO: _____

Pérdida de control para orinar

SI ___ NO ___ ESPECIFIQUE TIPO: _____

Dificultad para respirar

SI ___ NO ___ ESPECIFIQUE TIPO: _____

Consumo de algún medicamento

SI ___ NO ___ ESPECIFIQUE TIPO: _____

Actividad física

Realiza algún tipo de ejercicio

SI ___ NO ___

Si la respuesta es Si

ESPECIFIQUE TIPO, FRECUENCIA, DURACION:





Alimentación

Consume pan o tortilla con frecuencia

SI NO ESPECIFIQUE FRECUENCIA: _____

Consume bebidas azucaradas

SI NO ESPECIFIQUE FRECUENCIA: _____

Consume frutas y verduras

SI NO ESPECIFIQUE FRECUENCIA: _____

Consumo de frituras y bebidas gaseosas

SI NO ESPECIFIQUE FRECUENCIA: _____

