



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**IDENTIFICACIÓN GÉNICA DE 18S, ObRb, AR, ADIPO R1 ASOCIADOS CON
EL IMC EN MUJERES MAYORES DE 55 AÑOS EN UN ESTUDIO
COMPARATIVO, COMO FACTORES PREDISPONENTES DE OBESIDAD”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE LICENCIADO QUÍMICO
FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA:

SOTO COLÍN IVÁN

DIRECTOR DE TESIS: DR. JONNATHAN SANTILLÁN BENÍTEZ

CODIRECTOR DE TESIS: DR. ENRIQUE MORALES ÁVILA



Toluca, Estado de México; Noviembre de 2022

IDENTIFICACIÓN GÉNICA DE 18S, ObRb, AR, ADIPO R1 ASOCIADOS CON EL
IMC EN MUJERES MAYORES DE 55 AÑOS EN UN ESTUDIO COMPARATIVO,
COMO FACTORES PREDISPOONENTES DE OBESIDAD*

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	¡Error! Marcador no definido.
ANTECEDENTES	13
INTRODUCCIÓN	17
1. MARCO TEÓRICO.....	19
1.1. OBESIDAD.....	20
1.2 LEPTINA DEL GEN OB	21
1.3 LEPTINA	22
1.4 RECEPTORES DE ADIPONECTINA.....	22
1.5 ADIPONECTINA	23
1.6 AROMATASA.....	24
1.7 REGULACIÓN FISIOLÓGICA DE LA AROMATASA EN CÁNCER DE MAMA	24
1.8 ÁCIDO RIBONUCLEICO RIBOSÓMICO (RNAr) 18S.....	25
1.9 CONTROLES POSITIVOS EN REACCIONES DE qRT-PCR.....	25
2. HIPÓTESIS.....	26
3. OBJETIVO GENERAL.....	26
4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	27
5. JUSTIFICACIÓN.....	27
6. MATERIALES Y MÉTODOS	29
6.1 DISEÑO DEL ESTUDIO.....	30
6.1.1 UNIVERSO DE TRABAJO.....	30
6.1.2 LUGAR DE ESTUDIO	30
6.1.3 TAMAÑO DE MUESTRA.....	30
6.1.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN	31
6.1.5 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	31
6.1.6 GRUPOS DE ESTUDIO	31
7. DESARROLLO METODOLÓGICO.....	32
7.1 DESARROLLO DE UN CUESTIONARIO	32
7.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	32
7.3 ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN.	33

7.4	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	33
7.5	SELECCIÓN DE PACIENTES	34
7.6	TOMA DE MUESTRA SANGUÍNEA	34
7.7	PROCESO DE CITOMETRÍA HEMÁTICA.....	35
7.8	ELABORACIÓN DE UNA SOLUCIÓN DE LISIS AL 10%	36
7.9	LISIS DE LOS ERITROCITOS.....	37
7.10	EXTRACCIÓN DE RNA POR MÉTODO DE TRIZOL	38
7.11	CUANTIFICACIÓN DEL RNA	39
7.12	ESTANDARIZACIÓN A 500NG DE RNA	41
7.13	SÍNTESIS DE CDNA.....	41
7.14	PCR PUNTO FINAL.....	42
7.15	ELECTROFORESIS.....	43
8.	RESULTADOS	45
7.1	CUESTIONARIOS.....	46
7.1.1	CUESTIONARIOS MUJERES CON IMC > 25.....	48
8.2	PESO (KG); TALLA (CM); IMC Y BH MUJERES CON IMC	51
8.2.1	BH SERIE BLANCA.....	52
8.2.2	SERIE ROJA Y PLAQUETAS.....	53
8.3	CUANTIFICACIÓN DE RNA	53
8.4	AMPLIFICACIÓN DE GENES 18S, OBRB, AROMATAS Y ADIPO R1	54
8.4.1	Gen 18s.....	54
8.4.2	Gen ObRb	55
8.4.3	Gen Aromatasa.....	56
8.4.4	Gen AdipoR1	56
	REFERENCIAS.....	68
	ANEXOS	72
1.	CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO	72
2.	TABLA DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	76
	ANEXO. 3	80

LISTA DE TABLAS

<i>Tabla 1. Operacionalización de Variables continuas.....</i>	<i>34</i>
<i>Tabla 2 Características físicas. Cálculo de la media geométrica y desviación estándar en cada uno de los parámetros físicos de las participantes dentro del grupo con IMC menor a 25 y mayor a 25.</i>	<i>52</i>
<i>Tabla 3. Análisis de la serie blanca sanguínea. Cálculo de la media geométrica y desviación estándar en cada uno de los parámetros leucocitarios en las participantes del grupo con IMC menor a 25 y con IMC mayor a 25.....</i>	<i>52</i>
<i>Tabla 4. Serie roja y plaquetas. Cálculo de la media geométrica y desviación estándar en cada uno de los parámetros eritrocitarios y plaquetas en cada uno de los grupos con IMC menor a 25 e IMC mayor a 25.</i>	<i>53</i>
<i>Tabla 5 Cuantificación de RNA. Resultados del promedio de los valores cuantificados de RNA de cada una de las participantes del estudio.</i>	<i>54</i>
<i>Tabla 6. Amplificación de genes. Concentrado con la amplificación de cada uno de los genes de acuerdo con las participantes</i>	<i>58</i>
<i>Tabla 7. Análisis estadístico de normalidad de las medidas antropogénicas y edad.</i>	<i>58</i>
<i>Tabla 8. Análisis de correlación de Pearson</i>	<i>59</i>

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE GRÁFICOS

<i>Gráfico 1. Antecedentes heredo familiares.</i>	<i>46</i>
<i>Gráfico 2. Antecedentes Patológicos Personales.....</i>	<i>46</i>
<i>Gráfico 3. Padecimiento actual.....</i>	<i>47</i>
<i>Gráfico 4. Actividad física.....</i>	<i>47</i>
<i>Gráfico 5. Alimentación.....</i>	<i>48</i>
<i>Gráfico 6. Antecedentes heredo familiares 2.</i>	<i>49</i>
<i>Gráfico 8. Padecimiento actual 2.....</i>	<i>49</i>
<i>Gráfico 9. Actividad física 2.....</i>	<i>50</i>

Gráfico 10. Alimentación 2.	50
Gráfico 11. Edad..	51
Gráfico 12. Peso.....	51
Gráfico 13. Talla.	51
Gráfico 14. IMC.	52
Gráfico 15. Normalidad IMC de mujeres con IMC mayor a 25. ¡Error! Marcador no definido.	
Gráfico 16. Normalidad Edad de mujeres con IMC mayor a 25 ... ¡Error! Marcador no definido.	
Gráfico 17. Normalidad Talla de mujeres con IMC mayor a 25 ¡Error! Marcador no definido.	
Gráfico 18. Normalidad Peso de mujeres con IMC mayor a 25 ¡Error! Marcador no definido.	
Gráfico 19. Normalidad IMC de mujeres con IMC menor a 25. ¡Error! Marcador no definido.	
Gráfico 20. Normalidad Talla de mujeres con IMC menor a 25 ¡Error! Marcador no definido.	
Gráfico 21. Normalidad Edad de mujeres con IMC menor a 25.... ¡Error! Marcador no definido.	

Gráfico 22. Normalidad Peso de mujeres con IMC menor a 25... **¡Error! Marcador no definido.**

Gráfico 23. Condición de las pacientes basado en IMC.....**¡Error! Marcador no definido.**

Gráfico 24. Expresión génica 2**¡Error! Marcador no definido.**

LISTA DE IMÁGENES

Imagen 1. Gen 18 s p1-p13. Resultado de amplificación del gen 18s de la participante 1 a la 13. ¡Error! Marcador no definido.

Imagen 2. Gen 18 s p14-p25. Resultado de amplificación del gen 18s de la participante 14 a la 25. 54

Imagen 3. Gen 18s p26-p36. Resultado de amplificación del gen 18s de la participante 25 a la 36. 55

Imagen 4. Gen 18s p39-p47. Resultado de amplificación del gen 18s de la participante 37 a la 47. 55

Imagen 5. Gen ObRb p1-p13. Resultado de amplificación del gen ObRb de la participante 1 a la 13. ¡Error! Marcador no definido.

Imagen 6. Gen ObRb p14-p25. Resultado de amplificación del gen ObRb de la participante 14 a la 25. 55

Imagen 7. Gen Obrb p26-p36. Resultado de amplificación del gen ObRb de la participante 26 a la 36. 55

Imagen 8. Gen ObRb p37-p47. Resultado de amplificación del gen ObRb de la participante 37 a la 47. 56

Imagen 9. Gen AR p1-13. Resultado de amplificación del gen AR de la participante 1 a la 13. 56

<i>Imagen 10. Gen AR p14-25. Resultado de amplificación del gen AR de la participante 14 a la 25.</i>	<i>56</i>
<i>Imagen 11. Gen AR p26-36. Resultado de amplificación del gen AR de la participante 26 a la 36.</i>	<i>56</i>
<i>Imagen 12. Gen AR p37-47. Resultado de amplificación del gen AR de la participante 37 a la 47.</i>	<i>56</i>
<i>Imagen 13. Gen Adipo R1 p1-13. Resultado de amplificación del gen AdipoR1 de la participante 1 a la 13.</i>	<i>56</i>
<i>Imagen 14. Gen Adipo R1 p14-25. Resultado de amplificación del gen AdipoR1 de la participante 14 a la 25.</i>	<i>57</i>
<i>Imagen 15. Gen Adipo R1 p26-36. Resultado de amplificación del gen AdipoR1 de la participante 26 a la 36.</i>	<i>57</i>
<i>Imagen 16. Gen Adipo R1 p37-47. Resultado de amplificación del gen AdipoR1 de la participante 37 a la 47.</i>	<i>57</i>

RESUMEN

ANTECEDENTES. El sobrepeso y la obesidad están asociados con un incremento moderado de la expresión génica de los receptores de leptina y adiponectina. Se han sugerido varios mecanismos para explicar la asociación entre la obesidad y los receptores de leptina, adiponectina y aromatasa

OBJETIVO. Analizar la expresión génica de Aromatasa, AdipoR1 y ObRb y 18s asociados, con el IMC en mujeres mayores de 55 años post menopáusicas, en una población mexicana, clasificadas en obesas y no obesas.

MATERIALES Y MÉTODOS. Estudio: Transversal comparativo de dos grupos. Se identificarán en sangre total periférica (tratada con EDTA) la identificación génica (mediante qRT-PCR) en mujeres mayores de 55 años post menopáusicas con sobrepeso, obesas y no obesas. Los resultados permitirán conocer una probable asociación entre el Índice de Masa Corporal (IMC) y la identificación génica, comparando ambos y proponer los genes de Leptina, Adiponectina y Aromatasa como biomarcadores de riesgo para desarrollo de obesidad.

RESULTADOS. Se determinó la normalidad de las variables antropométricas y

edad donde el IMC en el grupo de las mujeres con un IMC mayor a 25, así como en la variable de edad, peso y talla se tiene un gl (grado de libertad) de 36<50 por lo tanto se trabajó con la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, así mismo el valor Sig (p. valor) es de 0.004<0.05, 0.001<0.05, 0.004<0.05 y 0.689>0.05, respectivamente, por lo que nuestra hipótesis se trabajara con una distribución normal para las 3 primeras y talla no paramétrica.

Para el grupo de mujeres con IMC menor a 25 de igual manera se determinó la normalidad de las variables antes mencionadas donde para el IMC, talla, edad y peso, se tiene un gl (grado de libertad) de 11<50 por lo tanto se trabajó con la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, así mismo el valor Sig (p. valor) es de 0.101>0.05, 0.772>0.05, 0.304>0.05 y 0.997>0.05, respectivamente por lo que nuestra hipótesis se trabajó con una distribución normal IMC y edad, no paramétrica talla y peso.

Se realizó el estudio estadístico de correlación de Pearson obteniéndose como resultados. Para el grupo de las mujeres con IMC mayor a 25 para el gen OBRB la Correlación de Pearson (p) es de -0.030 denotando que hay una correlación baja inversa con un gl=0.873 por lo cual la relación no es significativamente representativa entre las variables, para el gen Aromatasa se obtuvo una p= 0.544 denotando que había una correlación directa alta con un gl=0.002 por lo cual la relación es significativamente representativa entre las variables y para el gen AdipoR1 se obtuvo un valor p= 0.324 denotando una correlación directa media con un gl=0.056 por lo cual la relación es significativamente representativa.

Para el grupo de mujeres con un IMC menor a 25 para el gen OBRB la Correlación de Pearson p=0.253 denoto que existe una correlación directa baja con un gl=0.404 por lo que la relación entre dichas variables no tiene una significancia representativa, para el gen Aromatasa de obtuvo una p=0.530 teniendo una correlación directa alta entre las variables con un gl=0.405 por lo que la relación no es de significación representativa y para el gen AdipoR1 se obtuvo una p=0.606 denotando una correlación directa alta entre las variables con un gl=0.028 por lo cual la relación entre las variables es de significancia representativa.

CONCLUSIÓN

El análisis de normalidad de Shapiro Wilk y el estudio de correlación de Pearson se demostró a relación que existe entre la amplificación de estos genes con los datos multifactoriales analizados en el estudio, principalmente con el IMC, el cual fue factor crítico a determinar para asignar a un grupo a cada una de las participantes. Se observa que las mujeres que tienen mayor IMC presentaron la amplificación casi en su totalidad de los 4 receptores génicos analizados a diferencia de las participantes con un IMC menor a 25 con un mejor control en actividad física y alimentación que tuvieron una menor amplificación de dichos genes, el valor de p obtenido en cada uno de los genes y el estudio comparativo entre los mismo denoto que en el gen Aromata y el gen AdipoR 1 existe una correlación alta directa entre las variables en el grupo de mujeres con IMC mayor a 25, a diferencia de las mujeres con IMC menor a 25 que la amplificación presentada fue menor.

ANTECEDENTES

La obesidad es un padecimiento caracterizado por el exceso de tejido adiposo en el organismo y se refleja en el aumento de peso provocado por la excesiva acumulación de tejido graso, consecuencia del desequilibrio entre la energía ingerida y el gasto de tal energía (1). Es un padecimiento de origen multifactorial que aparece por la influencia interactiva de factores sociales, ambientales, psicológicos, metabólicos, celulares y genéticos (2). Es considerado un problema de salud pública a nivel mundial (3). En México su frecuencia se ha incrementado en los últimos años, de manera particular en las mujeres. En 1988 la frecuencia de sobrepeso en mujeres de 20 a 49 años era de 25% y la de obesidad de 9.5%. En 2012 la frecuencia de sobrepeso se incrementó a 35.3% y la de obesidad a 35.2% (4). Actualmente, se considera que dentro de los países miembros de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE), México ocupa el segundo lugar en el índice de obesidad

de adultos (32.4%) (5). Este problema de salud no es exclusivo del adulto, ya que actualmente una proporción elevada de la población infantil y adolescente en nuestro país tiene sobrepeso u obesidad (5.3% de los menores de 5 años, 26% de los escolares y más del 30% de los adolescentes) (4). El sobrepeso en la infancia es un factor de riesgo de obesidad en el adulto que implica comorbilidades que se magnifican por tener una larga evolución.

Las comorbilidades asociadas a la obesidad corresponden a padecimientos como hipertensión arterial, enfermedad cardiovascular, dislipidemia, diabetes mellitus tipo 2 (DM2), apnea del sueño, síndrome de hipoventilación, osteoartritis, infertilidad, enfermedad venosa de los miembros inferiores, reflujo gastroesofágico, incontinencia urinaria de esfuerzo, depresión, demencia y cáncer (6-7).

En un estudio reciente realizado en los Estados Unidos de América se calculó que el 4% de los nuevos casos de cáncer en el hombre y el 7% de los nuevos casos en la mujer se debían a la obesidad. Además, se estimó que si continuaban las tendencias existentes de obesidad se llegaría a casi 500 000 casos adicionales de cáncer para el 2030. Este análisis encontró también que si cada adulto de peso promedio reducía su índice de masa corporal (IMC) en 1%, se prevendría el aumento del número de casos de cáncer y resultaría en evitar cerca de 100 000 casos nuevos de cáncer (8).

Diversos estudios han indicado que el sobrepeso y la obesidad están asociados con un incremento moderado del riesgo de cáncer de mama después de la menopausia (9-11). Sin embargo, en mujeres obesas con historia familiar de cáncer de mama, la obesidad incrementa de manera significativa el riesgo, en comparación con mujeres delgadas con historia familiar positiva (12). En lo que se refiere a la gravedad de la enfermedad, las mujeres obesas que ya tienen cáncer de mama presentan un mayor riesgo de metástasis y muerte comparadas con mujeres delgadas con cáncer (13-14).

Se han sugerido varios mecanismos para explicar la asociación entre la obesidad y los receptores de leptina, adiponectina y aromatasa (15-16):

- i. Después de la menopausia, cuando los ovarios dejan de producir estrógeno, el tejido adiposo se convierte en la fuente más importante de esta hormona. Debido a que las mujeres obesas tienen más tejido adiposo, sus concentraciones de estrógeno son más elevadas, lo que conduce posiblemente a un crecimiento más rápido de tumores de seno que responden al estrógeno. Los principales sitios para la biosíntesis de estrógenos después de la menopausia son la mama, el abdomen, los muslos y los glúteos. En estas zonas el estrógeno es catalizado por la enzima aromatasa (citocromo P450), que cataliza la aromatización del anillo A de los andrógenos C19 al fenólico, un anillo de estrógenos C18. Van Landeghem en 1985 observó que los niveles de estrógeno en la mama con tumor son aproximadamente 10 veces mayores en la circulación del tejido adiposo de las mujeres posmenopáusicas. (17)

La causa biológica de la asociación entre la obesidad y el cáncer de mama después de la menopausia es la elevación de estrógenos circulantes por el tejido adiposo en las mujeres posmenopáusicas obesas, en comparación con las mujeres posmenopáusicas delgadas. (17)

- ii. La obesidad asociada con el síndrome metabólico, se traduce en un aumento de la insulina y del factor de crecimiento similar a la insulina (IGF), la hiperinsulinemia también puede afectar a la tumorigénesis indirectamente por contribuir en la síntesis y la actividad del IGF-1, miembro de la familia IGF que consta de dos ligandos de polipéptidos IGF-I e IGF-II con dos receptores unidos a la membrana de tirosina de IGFIR e IGFIIR y seis proteínas de unión similares a la insulina (IGFBPs), así como proteasas de IGFB. Sabiendo que IGF-I e IGF-II pueden actuar de forma endocrina, paracrina o autocrina, para regular el crecimiento celular, la supervivencia, la transformación y la diferenciación con otros factores de crecimiento para producir efectos mitogénicos (18). La resistencia a la insulina se desarrolla como una adaptación metabólica a un aumento de los niveles circulantes de ácidos grasos no esterificados liberados del tejido adiposo,

especialmente del tejido adiposo intraabdominal. En el síndrome metabólico los tejidos no son capaces de absorber, almacenar y metabolizar la glucosa de manera eficiente y para evitar su concentración elevada en la sangre, el páncreas secreta cantidades crecientes de insulina a través de sus receptores, para activar la tirosina quinasa y una cascada de respuestas intracelulares. Michelle et. al. en 2003 concluye que la diabetes mellitus 2 en las mujeres posmenopáusicas se correlaciona con un ligero aumento en el riesgo de cáncer de mama. (19)

- iii. El tejido adiposo produce unos polipéptidos, que son hormonas llamadas adipocinas que tienen funciones endocrinas, autocrinas y/o paracrinas, las cuales pueden estimular o inhibir el crecimiento celular. Una de ellas es la leptina, que se encuentra en mayor concentración en mujeres obesas, fomenta la proliferación celular de las líneas celulares de cáncer de mama T47D Y MCF-7 por la activación de MAPK (Activador mitogen de proteína Kinasa) (20-22). Los efectos de la leptina parecen ser mediados principalmente a través de la acción de Receptores de Estrógenos, regulando positivamente la transcripción de la aromatasas gracias a una mayor unión de AP-1 para especificar los sitios de DNA en la región promotora (23). Otra de ellas es la adiponectina, que está en menor concentración en mujeres obesas, y que puede tener efectos antiproliferativos.
- iv. La obesidad se asocia a un estado de inflamación crónica subclínica, en la que el tejido adiposo aumenta la infiltración a los macrófagos que juegan un papel importante en el desarrollo de tumorigénesis. Qian B.Z. en 2011 describe que la asociación de macrófagos y tumores puede contribuir a la angiogénesis y metástasis del tejido en donde los macrófagos asociados a tumores pueden causar su activación (24).

INTRODUCCIÓN

Actualmente México es uno de los países con una alta población en sobrepeso presentándose principalmente en mujeres de edad adulta con estado postmenopáusico, dicha patología se han encontrado estrechamente relacionadas con el padecimiento de múltiples enfermedades crónicas degenerativas entre las cuales destacan diferentes tipos de cáncer, diabetes y problemas cardiacos, observándose una mayor incidencia de cáncer de mama en mujeres postmenopáusicas con sobrepeso u obesas y una vida sedentaria.

La obesidad siendo una de las principales patologías u condiciones de las mujeres mexicanas de edad avanzada asociados a cambios en el estilo de vida, principalmente a la vida sedentaria que se lleva. La obesidad se considera como la acumulación excesiva de energía en forma de tejido adiposo con una alta prevalencia no solo nacional sino a nivel mundial. Esta se clasifica basado en el

índice de masa corporal (IMC) otra de las características de alta importancia en la relación a padecer alguna patología u enfermedad.

Para México y el mundo la obesidad se ha vuelto un gran problema derivado de la ingesta de altas cantidades de alimentos con alto aporte calórico o energético (Comida chatarra) ya que no se tiene una regulación adecuada de estos alimentos, además del bajo consumo de alimentos con aporte en fibra. De igual forma el consumo de bebidas con alta concentración de azúcares e hidratos de carbono, el consumo de todos estos alimentos sumados a la vida sedentaria que lleva la mayoría de los individuos y una baja realización de activación física conllevan a el padecimiento de obesidad.

Evidencia epidemiológica sugiere que la obesidad está asociada con un incremento del riesgo de cáncer de mama en mujeres, primariamente en población postmenopáusica (28). Pero hoy en día no se tiene aún un estudio molecular del mecanismo que relacione a ciencia cierta la prevalencia del padecimiento de cáncer en mujeres postmenopáusicas.

El tejido adiposo además de servir como almacén del exceso de las calorías en forma de lípidos, este también tiene una participación importante como un órgano endocrino debido a que secreta diferentes adipocitocinas entre la que se encuentran la leptina, adiponectina y algunas otras citocinas inflamatorias. Todas estas regulan procesos patológicos y fisiológicos como la saciedad u apetito, la sensibilidad y resistencia a la insulina y algunas otras aún más importantes como la inmunidad, hematopoyesis y la inflamación.

El tejido adiposo interviene de diferentes formas en el proceso del cáncer debido a que también participa como una glándula endocrina, liberando las adipocitocinas (27), entre las cuales se encuentran el Factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) la resistina, la leptina, adiponectina y el inhibidor-1 del activador de plasminógeno (PAI-1) (31).

En la obesidad se modifica la secreción de las diferentes adipocitocinas, incrementando en esta la liberación de Leptina, VEGF, TNF α y disminuyendo los niveles de Adiponectina, esta patología modifica la biología del tejido adiposo, lo cual podría explicar la relación con el desarrollo de la obesidad.

Por todo lo anterior la identificación de los genes de 18S, ObRb, AR, AdipoR1 en personas en condición de obesidad serviría como un método de apoyo, que asociado con el IMC en mujeres mayores de 55 años post menopaúsicas y factores heredofamiliares, para identificar una predisposición a padecer alguna patología relacionada con la expresión de estos.

Actualmente el empleo de técnicas basadas en Biología molecular es de alta eficiencia en el rastreo y detección de enfermedades siendo de gran apoyo en el conocimiento de la etiología biológica y predisposición de la población a ciertas enfermedades, de esta manera la temprana detección de patologías pueda contribuir a dar un tratamiento bien enfocado y de funcionamiento concreto. México es un país donde, desafortunadamente, la obesidad es uno de los grandes problemas de salud para la población en general, sin embargo, uno de los grupos con mayor tendencia a dicha patología son las mujeres posmenopáusicas, existen pocas publicaciones donde se haya rastreado la asociación entre la expresión de ciertos genes (relacionados con el metabolismo) y la tendencia a la obesidad o sobrepeso usando como método técnicas moleculares.

1. MARCO TEÓRICO

1.1. OBESIDAD

La obesidad se define como una patología u enfermedad que presenta como característica principal el acumulo excesivo de tejido adiposo en algún organismo.

En dicho concepto se encuentre el primer problema ya que nos menciona que se define como el acumulo de exceso de grasa, pero no nos indica cuanto en concreto o la manera de medirlo, al ser esta una variable individual difícil de cuantificar.

Desde un punto genético se puede definir como una enfermedad oligogénica, que depende de la expresión de algunos genes y su propia modulación de estos por otros de tipo modificadores que van a tener una interacción para poder expresarse, involucrando también algunos factores ambientales generando las condiciones para que esto se puede llevar a cabo.

La obesidad y el sobrepeso son una de las mayores problemáticas a la que se enfrenta la sociedad en el siglo XXI. En México y el mundo se considera un problema en cifras rojas debido a su alta prevalencia, es una patología que se ha relacionado

con trastornos psicológicos, sociales, metabólicos y actualmente hasta genéticos, llevando a la muerte de gran población debido a las enfermedades derivadas de estas tales como cardiovasculares, hipertensión, diabetes entre las principales, hasta algunas mucho más complejas como algunas neoplasias en órganos como mama y colon.

Cummings y Schwartz (44) introdujeron el concepto de carga genética y ambiental que acompaña a esta patología y la define como una enfermedad oligogénica, cuya expresión puede ser modulada por numerosos genes modificadores que interaccionan entre sí y a su vez con factores ambientales.

Recientemente se ha definido la obesidad como una enfermedad sistémica, multiorgánica, metabólica e inflamatoria crónica, multideterminada por la interrelación que existe entre lo genómico y lo ambiental, fenotípicamente expresada por un exceso de grasa corporal en relación con la capacidad del organismo para almacenarla, que conlleva un mayor riesgo de morbimortalidad (42).

Se entiende a la obesidad como una enfermedad crónica, multifactorial y multicausal, que se corresponde con una alteración de la correcta función del tejido adiposo, tanto de forma cuantitativa como cualitativa, en su capacidad para almacenar grasa. Además, de que ésta conlleva a una situación de inflamación del tejido, estrechamente relacionada a desórdenes metabólicos, que a su vez están correlacionados con el padecimiento de síndrome metabólico.

1.2 LEPTINA DEL GEN OB

El gen Ob también denominado leptina, es un péptido de 167 aminoácidos, que contiene además uniones por puentes disulfuro necesario para poder desempeñar su actividad biológica. La síntesis de la leptina se lleva a cabo de forma principal en tejido adiposo blanco y esta a su vez se encuentra regulado por la hormona insulina casi de manera total, aunque otras pueden llevar a cabo también su regulación. Se ha observado que los valores séricos pueden variar de acuerdo con el peso e IMC presentado por cada individuo. Por ello que las personas con alteración en la producción de insulina o insulino dependientes (tales patologías como diabetes en correlación con un IMC mayor a lo considerado sano) llegan a tener alteraciones en

la producción o expresión de este gen, así como alguna alteración en el funcionamiento de este.

El gen Ob se encuentra en el cromosoma 7q31.3 en humanos, el gen ob incluye 650 kb y está constituido por 3 exones separados por 2 intrones. La región que codifica para la síntesis de la leptina se localiza en los exones 2 y 3. La región promotora está regulada por diversos elementos como el Adenosin Mono Fosfato cíclico (AMPC) o los glucocorticoides, responsables de la expresión específica de la más adiposa o de la regulación en los cambios sufridos en el depósito adiposo o en el balance energético (38).

En la actualidad se han identificado 6 isoformas de estos receptores (ObRa – ObRf), generados gracias al empalme alternativo, los cuales pertenecen a receptores de citocinas clase I y contiene un sólo dominio transmembranal. La forma larga del receptor ObRb (la isoforma del receptor largo de Leptina), es la única que tiene la capacidad de transducir señales y se expresa casi exclusivamente en el hipotálamo ésta activa varias vías de transducción de señales, incluyendo el transductor JAK-STAT3, que es importante para la regulación de la homeostasis energética y el fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3K), que es importante para la regulación de la ingesta de alimentos y la homeostasis de la glucosa (35)

1.3 LEPTINA

Estructura: hormona de 146 aminoácidos, se produce a partir de un precursor de 167 aminoácidos, con una secuencia señal de 21 aminoácidos que se separan antes de que la leptina se secreta a la sangre; es estructuralmente similar a la interleucina-1. Síntesis y Secreción: es producida principalmente, pero no exclusivamente por el tejido adiposo (en proporción a la grasa corporal) (31).

Sus niveles hemáticos pueden estar elevados en la obesidad, por insensibilidad de los receptores hipotalámicos, o por defecto en el sistema de transporte hacia el sistema nervioso central. Una alteración en su producción o una resistencia a su acción en el hipotálamo pueden originar sobrepeso y obesidad (29). Los mecanismos hipotalámicos por los cuales se cree que se genera una resistencia a Leptina incluyen: 1) defectos en el receptor ObRb, 2) inducción de inhibidores de la

señalización de la Leptina, por ejemplo, SOCS-3, y 3) una deficiencia en el transporte de la proteína a través de la barrera hematoencefálica

Las concentraciones de leptina están en relación con el IMC y su aumento sugiere la existencia de una resistencia a la leptina como causa de obesidad. (29).

Se ha estudiado la relación de la Leptina con el desarrollo del cáncer de mama debido a la sobreexpresión del gen de Leptina tanto en líneas celulares de cáncer de mama, como en tumores sólidos. Se ha demostrado que esta proteína induce la proliferación, la supervivencia y el crecimiento celular de células tumorales estimulando vía de Jak/STAT3, ERK1/2 y fosfoinositol 3-quinasa, así como inducir la expresión de ciclina D1 entre varios mecanismos más (35).

1.4 RECEPTORES DE ADIPONECTINA

La Adiponectina lleva a cabo su función a través de sus receptores específicos. Los receptores principales denominados AdipoR1 y AdipoR2, los cuales son receptores acoplados a proteínas G con siete dominios transmembranales. Como miembros de la familia PAQR (progestina y receptor AdipoQ). AdipoR1 muestra una expresión ubicua incluyendo en el músculo esquelético y el hígado, mientras AdipoR2 se expresa principalmente en hígado (31)

La unión de la adiponectina a sus receptores aumenta la actividad de la AMPK y PPAR α , favoreciendo la oxidación de ácidos grasos y la entrada de glucosa a los tejidos. El sistema AMPK activado desempeña un papel vital en la regulación del metabolismo energético y la quiescencia celular. Así mismo, la adiponectina disminuye la producción de especies reactivas de oxígeno y, por tanto, inhibe la proliferación de las células. La activación de AMPK parece ser mediada principalmente por AdipoR1, mientras que la activación de Receptores Activados por Proliferados Peroxisómicos (PPAR- α) parece ser mediada por AdipoR2 (35).

Estudios han demostrado que la Adiponectina por medio de la activación de sus receptores AdipoR1 y AdipoR2, induce la inhibición de la migración, proliferación y supervivencia celular de distintos tipos de células incluyendo las células musculares lisas aórticas, células endoteliales y varios tipos de células cancerosas, entre ellas

las células de cáncer de mama generando un efecto protector contra esta enfermedad (31)

1.5 ADIPONECTINA

La Adiponectina es una proteína de 28–30 kDa constituida por 244 aminoácidos que muestra similitudes estructurales con el colágeno y el TNF α , producida exclusivamente en el tejido adiposo blanco. Los niveles medianos de adiponectina en individuos sanos con un IMC entre 20 y 25 kg/m² son de aproximadamente 8 μ g/mL para los hombres y de 12.5 μ g/mL para las mujeres (35).

Los niveles bajos de Adiponectina son el denominador común de los factores de riesgo que sintetizan el síndrome metabólico como la hipertensión, la dislipidemia, la obesidad, la hiperglucemia y la resistencia a la insulina. Así mismo se ha encontrado en estudios in vivo que la hipoadiponectinemia tiene una asociación inversa con el riesgo de resistencia a la insulina y neoplasias malignas asociadas a obesidad (cáncer de mama, de colon, renal, algunas neoplasias hematológicas de origen mielóide, así como cáncer gástrico y próstata) (35).

1.6 AROMATASA

El gen que codifica la aromatasa se localiza en el brazo largo del cromosoma 15 (15q21.1) y está constituido por una región codificante en una posición más centrométrica que contiene 9 exones (II-X), y una región más telomérica con varias zonas promotoras. El promotor más proximal al codón de iniciación de la transcripción (exón II) y específico de las gónadas es el II. Otros dos promotores, I.3 (expresado en el tejido adiposo y cáncer de mama), así como el (I.4) específico del tejido adiposo. (40).

Mientras los niveles más altos de aromatasa se localizan en las células de la granulosa ovárica durante la premenopausia, el tejido adiposo constituye la principal fuente de producción de aromatasa tras la menopausia, en esta situación, si bien los niveles de la aromatasa en el tejido adiposo pueden ser bajos, la suma del estrógeno originado por el conjunto de fibroblastos del tejido adiposo del cuerpo humano tiene su impacto fisiológico. (40).

1.7 REGULACIÓN FISIOLÓGICA DE LA AROMATASA EN CÁNCER DE MAMA.

La formación de estrógeno extraovárico está estrechamente correlacionada con el exceso de peso tanto en mujeres pre- como en post-menopáusicas, y puede incrementar hasta 10 veces la morbilidad de las mujeres obesas en la postmenopausia. De hecho, en la actualidad se reconoce que la producción de forma continuada de estrógenos por parte del tejido adiposo y piel en estas mujeres es uno de los factores de riesgo a padecer hiperplasias de endometrio y cáncer. También existe la convicción de que el estrógeno producido por el tejido adiposo y la piel puedan tener alguna implicación en el cáncer de mama. El tejido adiposo de la glándula mamaria está constituido principalmente por adipocitos maduros, así como por otros elementos estromales, entre los que destacan fibroblastos maduros (90%) y células endoteliales (7%), en los que se concentra el 80-90% de la actividad aromatasa. En el caso del cáncer de mama, la actividad enzimática de la aromatasa se localiza tanto en las células epiteliales malignas como en los fibroblastos que rodean el tumor, así como en las células endoteliales. Sin embargo, la mayor actividad enzimática se concentra en el tejido adiposo adyacente y su expresión está regulada por el promotor 1.4 del gen.

1.8 ÁCIDO RIBONUCLEICO RIBOSÓMICO (ARNr) 18S

El nucleolo es el lugar donde se lleva a cabo la transcripción y el procesamiento del ARNr y del ensamblaje de las pre-subunidades de los ribosomas, el nucleolo es pues la fábrica de producción de los ribosomas. Los ribosomas de las células eucariotas contienen cuatro diferentes moléculas de ARN ribosómico (ARNr): 28S, 18S, 5.8S, y 5S. La subunidad mayor 60S del ribosoma contiene los RNA ribosómicos 28S, 5.8S y 5S, mientras que la subunidad menor 40S contiene el ARNr 18S. Las tres ARNr moléculas, 18S, 5,8S y 28S son sintetizadas en el nucléolo, mientras que el 5S ARNr es sintetizado por la ARN polimerasa III fuera del mismo en otra región del nucleoplasma. Los ARNr constituyen el 80 % de las moléculas de ARN encontradas en una célula eucariota. Las células contienen múltiples copias de los genes para los ARNr para poder satisfacer la demanda de transcripción de elevado número de moléculas de ARNr que son necesarias para sintetizar los ribosomas. Por ejemplo, las células de mamífero en continuo crecimiento contienen

5 y 10 millones de ribosomas, que deben sintetizarse cada vez que la célula se divide. Las células contienen por ello múltiples copias de los genes ARNr. El genoma humano por ejemplo contiene aproximadamente doscientas copias del gen que codifica para los ARNr 28S, 18S, 5,8S dispuestas de manera secuencial (en tándem) con un DNA espaciador que no se transcribe separando cada unidad repetida en cinco cromosomas humanos diferentes (13,14,15,21,22) y aproximadamente 200 copias del gen que codifica para el ARNr 5S en el cromosoma 1.

1.9 CONTROLES POSITIVOS EN REACCIONES DE qRT-PCR

Éste es un tubo que contiene DNA de una muestra que haya amplificado adecuadamente y cuyo patrón de bandas es conocido. De esta manera, puede esperarse que, si la reacción se llevó a cabo correctamente, esta muestra siempre salga. En caso contrario, si nuestra Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) no generó bandas en ninguna de las muestras, ni siquiera en el control positivo, puede suponerse que el error radica en que se nos olvidó agregar algún reactivo o bien que los ciclos de temperatura no se llevaron a cabo adecuadamente, ya sea por problemas de la máquina o bien por error al elegir el programa de amplificación.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Un desorden en la sobre expresión génica de los receptores Adipo R1, ObrB, Aromata conllevan a una posibilidad mayor de padecimiento de obesidad en las mujeres que ya han cursado por su ciclo de menopausia siendo mayores a 55 años. Por tal motivo se deben comprender mejor los factores que pudieran ser los causantes de estos desequilibrios, e incluso sospechas de elementos mismo del propio ciclo hormonal, porque como ya se sabe, algunas hormonas actúan en la posible regulación y/o modulación de secreción e inhibición de estos receptores.

En esta edad donde mujeres postmenopáusicas mayores a 55 años la activación física se vuelve deficiente y la alimentación se basa en una mayor concentración de hidratos de carbono y grasas, conllevando a un excesivo aumento en el peso de las mujeres y de las posibles complicaciones de dichas. Actualmente en Mexcio no se cuenta con información abundante sobre la influencia de los receptores AdipoR1, ObRb y Aromatasa, por lo cual, un estudio de correlación ayudaría a comprender si

existe dicha relación, y en caso de ocurrir, informar estos son expresados en mayor concentración en personas obesas y en sobrepeso.

Considerando lo mencionado, en este proyecto se correlacionarán la expresión de los receptores contemplados con las condiciones antropométricas de cada una de las participantes y con esto poder establecer una posible relación en la sobre expresión de estos receptores como factor predisponente al padecimiento de obesidad en estas mujeres.

2. HIPÓTESIS

Se identificarán en mujeres mayores de 55 años postmenopáusicas con un IMC menor a 25 y con un IMC mayor a 25 la expresión de los genes 18s, ObRb, Aromatasa, AdipoR1, donde será mayor la expresión genética del segundo grupo en correlación con el IMC y la predisposición de obesidad.

3. OBJETIVO GENERAL

Identificar los genes de 18S, ObRb, Aromatasa, AdipoR1 asociados con el IMC en mujeres mayores de 55 años en un estudio comparativo, como factores predisponentes de obesidad.

4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Captar pacientes que cumplan con los criterios de inclusión y exclusión para participar en el estudio.
- Realizar la extracción de RNA y síntesis de cDNA
- Realizar la caracterización de los genes 18s, ObRb, Aromatasa y AdipoR1
- Demostrar mediante un análisis estadístico la expresión de los genes 18s, ObRb, Aromatasa, AdipoR1 y su relación con el IMC como factor de predisposición a obesidad.

5. JUSTIFICACIÓN

México está inmerso en un proceso de transición donde la población experimenta un aumento descontrolado de sobrepeso y obesidad que afecta no

solo a las zonas urbanas sino de igual manera a las rurales, a todas las edades y a las diferentes regiones. El aumento en la prevalencia de obesidad en México se encuentra entre los más rápidos documentados en el plano mundial por lo que es un serio problema de salud pública. Se han sugerido diferentes mecanismos que tratan de explicar la asociación de los genes en estudio con la obesidad, pero considerando la expresión génica se sugiere un planteamiento de su relación con la edad y probablemente con la identificación de biomarcadores de riesgo de algunas enfermedades crónico-degenerativas como el cáncer. Estos biomarcadores se han propuesto como de predicción de obesidad y cáncer de mama; teniendo algunas ventajas como ser de fácil accesibilidad y rápida aplicabilidad. Sin embargo, al ser reguladores de la expresión de genes descritos recientemente, son pocos los estudios de los receptores de aromatasa involucrados en la asociación de la obesidad, así como los receptores de leptina y adiponectina.

En esta tesis se determinarán los cambios en la expresión genética de aromatasa con los receptores de leptina, adiponectina y su relación con la obesidad y el IMC. Las mujeres con sobrepeso podrían tener mayor desregulación de la expresión de los receptores a diferencia de las mujeres normopeso y se sugiere que las mujeres con obesidad tendrán mayores niveles de expresión que las de normopeso, quienes tendrán estos marcadores más asociados a la protección. Por lo que nuestra hipótesis es que existen diferencias en la expresión e identificación de los genes 18s, Aromatasa, AdipoR1 y ObRb en mujeres mayores de 55 años entre una población mexiquense con un IMC menor a 25 y con IMC mayor a 25.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 DISEÑO DEL ESTUDIO

Transversal comparativo de dos grupos.

6.1.1 UNIVERSO DE TRABAJO

Universo de 80 mujeres mexiquenses mayores de 55 años, preferentemente post menopáusicas, 40 con un IMC mayor a 25, y 40 con un IMC menor a 25, que asistan al laboratorio para su toma de muestra de sangre periférica, firmen la carta de consentimiento informado y se apeguen a los criterios de selección.

6.1.2 LUGAR DE ESTUDIO

Lugar de toma de muestras: Laboratorio 12 de la Facultad de Química unidad Colón de la Universidad Autónoma del Estado de México.

Lugar de procesamiento de los especímenes: Laboratorio de Biología Molecular y Hematología (Oncohematología) del Hospital del Niño del Instituto Materno Infantil

del Estado de México (IMIEM) en conjunto con La Facultad de Química de la Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca Estado de México.

6.1.3 TAMAÑO DE MUESTRA

El tamaño mínimo de muestra se obtuvo con base a los valores de la media y desviación estándar disponibles en los diferentes estudios consultados y citados en la bibliografía. Se utilizó la siguiente fórmula para la diferencia entre medias de la expresión génica (34): Se consideró un poder estadístico del 80%. Al concluir el estudio se evaluará el poder estadístico con base a los resultados que se obtengan. En todas ellas se empleará un poder estadístico con 95% de incertidumbre y un poder de análisis $\alpha = 0.05$

FORMULA

$$n = 2 \left[\frac{(Z_{\alpha} - Z_{\beta})\sigma}{\mu_1 - \mu_2} \right]^2$$

Donde:

n: Tamaño de la muestra

Z α : Valor de Z para α

Z β : Valor más bajo de Z para β

σ : Desviación estándar

$\mu_1 - \mu_2$: Magnitud de la diferencia por demostrar

A continuación, se desarrollan las ecuaciones para cada gen. Para todas las ecuaciones se acepta un error tipo I de 0.05 y se pretende poder demostrar una diferencia verdadera con 0.80 de probabilidad ($\beta=0.20$). Las dos colas del valor de Z para α de 0.05 es 1.96 y el valor más bajo de una cola de Z para β de 0.20 es -0.84 (valor crítico). Por esto, el término $(Z_{\alpha} - Z_{\beta})$ es una constante de valor 2.8 $([1.96 - (-0.84)] = 2.8$.

Tomando en cuenta estos resultados, este estudio contempla una $n=40$ por grupo (IMC menor a 25 e IMC mayor a 25 mujeres posmenopáusicas mexiquenses).

6.1.4 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Mujeres mayores de 55 años y posmenopáusicas mexiquenses:

1.- Para el grupo con obesidad o sobrepeso: IMC mayor de 25 (con base en los criterios de la OMS), sin enfermedades crónico-degenerativas.

2.- Para el grupo con normopeso: IMC menor de 25 (con base en los criterios de la OMS), sin enfermedades crónico-degenerativas.

6.1.5 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Pacientes con patología concomitante (DM2, hipertensión arterial, infecciones, enfermedades autoinmunes, cardiovasculares, renales, hepáticas, etc.). Con antecedentes de cáncer de mama, con algún tratamiento de quimioterapia, con cirugía reconstructivas de cualquier índole, drogadictas, con un nivel alto y máximo de nicotina basado la prueba de Fagerström, prueba de alta dependencia al cigarro, alcohólicas (la prueba BEDA), menopáusicas, que tengan contacto directo con pesticidas, disolventes o rayos X.

6.1.6 GRUPOS DE ESTUDIO

Grupo de mujeres mexiquenses mayores de 55 años con sobrepeso y obesidad

Grupo de mujeres mexiquenses mayores de 55 años con normopeso

7. DESARROLLO METODOLÓGICO

7.1 DESARROLLO DE UN CUESTIONARIO

Se desarrolló un cuestionario para la recopilación de datos relevantes como la edad, peso, IMC, alimentación, actividades físicas y algunos otros antecedentes heredofamiliares.

7.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Primera Etapa: Recopilación de los datos objetivo para el estudio haciendo uso del cuestionario previamente elaborado. Posteriormente, la información obtenida se capturó en el programa estadístico IBM® SPSS Statistics V25.0.

Segunda Etapa: Clasificación de los datos capturados con base en la edad, consecutivamente se aplicaron los criterios de inclusión, exclusión y eliminación para su posterior análisis estadístico.

Tercera Etapa: Uso del programa IBM® SPSS Statistics V25.0 para el análisis de correlación estadístico de cada uno de los datos obtenidos. Se ejecutaron las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y/o Shapiro-Wilk para comprobar la distribución paramétrica de las variables del presente estudio, posteriormente se obtuvieron los coeficientes de correlación de Pearson y/o Spearman, y así se verificó la relación entre variables, concomitantemente se elaboraron gráficos de dispersión y de caja y bigote para comprobar la veracidad de los coeficientes de las pruebas realizadas.

Cuarta Etapa: Determinación de frecuencias, medias, desviaciones estándar y correlaciones.

Para la cualificación de cada receptor se empleó la técnica de PCR punto final, este ensayo de biología molecular se compone de 4 fases:

- **Primera Fase:** Extracción del ARN material genético molecular por el método de TRIzol, seguido de una cuantificación mediante nanoespectrofotometría con un equipo IMPLEN®
- **Segunda Fase:** Se basa en la síntesis de cDNA empleando un oligoexamero, utilizando un termociclador.
- **Tercera Fase:** Finalmente la muestra se lleva a un proceso de PCR punto final para llevar a cabo la amplificación de los receptores.
- **Cuarta Fase:** Se realiza una electroforesis a las muestras para observar en el gel la amplificación de cada receptor en las muestras. Se corre contra un control positivo que es el gen 18 s encontrado en todas las muestras y un blanco de pb.

7.3 ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN.

El presente trabajo de Tesis está basado en un criterio científico, ético y moral con respecto a los datos obtenidos de los pacientes a través del cuestionario realizado previamente, así como fueron tratados dentro del Laboratorio de la Facultad de Química y del Laboratorio de Oncohematología del hospital para el niño IMIEM, por

tal motivo, se encuentra dentro del marco legal dictado por la Declaración del Código de Helsinki (2013) proveniente de la Asociación Médica Mundial (AMM). Por lo cual, los datos obtenidos durante esta investigación serán tratados de acuerdo con la política de ética y moral de dichos establecimientos teniendo en cuenta las excepciones que este realiza, las cuales son previstas por el artículo 21 de la Ley de Protección de Datos Personales del Estado de México.

7.4 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Dentro del análisis estadístico realizado en este proyecto de tesis, se manejaron algunas variables de estudio de tipo cualitativas, las cuales se expresaron en términos de frecuencia, de igual manera se manejaron algunas variables cuantitativas expresadas por medio de medias y porcentajes. Lo citado anteriormente se llevó a cabo mediante el paquete estadístico IBM® SPSS Statistics V25.0.

VARIABLE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO E VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN
EDAD	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el día actual.	Cuantitativa continua	Mayor a 55 años
TALLA	Medida desde la planta del pie hasta la parte superior de la cabeza.	Cuantitativa continua	140 cm a 180 cm
PESO	Medida que expresa la acción que ejerce la gravedad sobre un cuerpo.	Cuantitativa continua	50 Kg o Más
IMC	Medida de expresión de la relación entre el Peso y la Talla.	Cuantitativa continua	18 a 40 o Más

Tabla 1. Operacionalización de Variables continuas

7.5 SELECCIÓN DE PACIENTES

En este paso se seleccionó a las pacientes de acuerdo con los criterios de aceptación para el estudio, se aplicó el cuestionario correspondiente y se procedió a la toma de muestra.

7.6 TOMA DE MUESTRA SANGUÍNEA

- Se obtuvo la muestra por medio de punción venosa. Se tomaron tubos con anticoagulante EDTA (morado) y dorado con gel separador según la clasificación de tubo de Vacutainer®

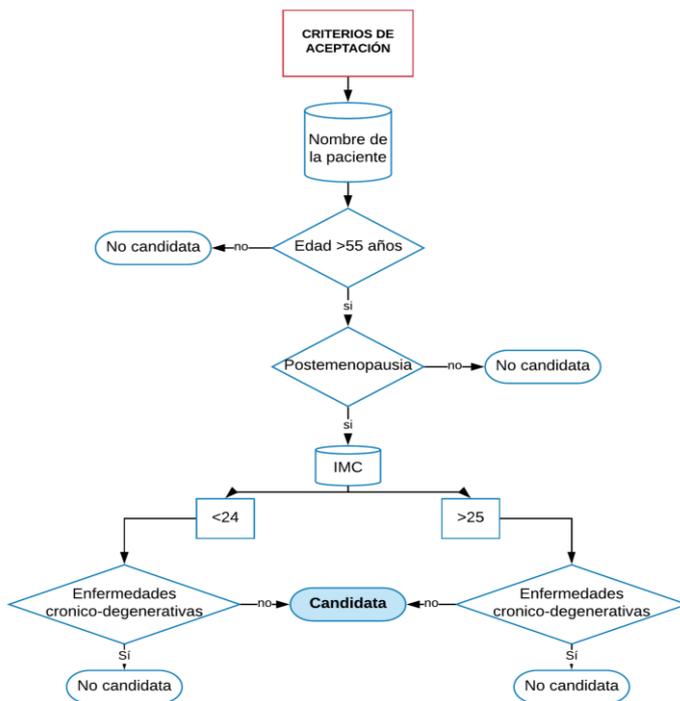


Figura 1. Criterio de aceptación. Diagrama de flujo con criterios de inclusión y exclusión de las participantes en el proyecto de acuerdo con condiciones físicas y patológicas.

7.7 PROCESO DE CITOMETRÍA HEMÁTICA

- La citometría hemática se realizó en el Laboratorio clínico del Centro Médico ISSEMYM con ayuda del equipo (ADVIA® 120) para determinar la cantidad de Leucocitos presentes.
- Se estandarizaron las muestras a 1 ml de sangre, todas las pacientes estaban dentro de valores normales.

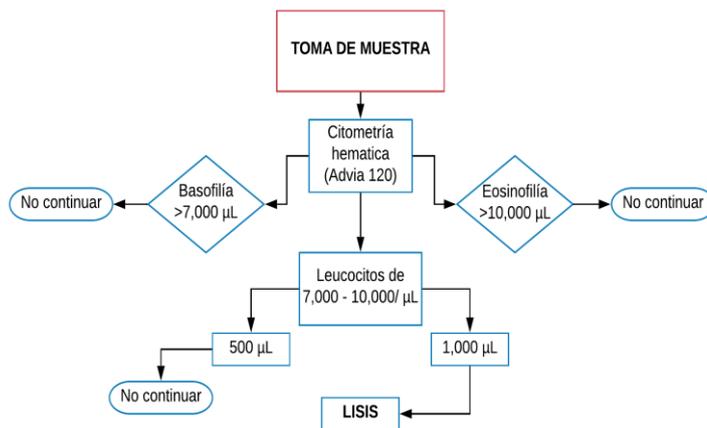


Figura 2. Toma de muestra. Citometría Hemática, se estandarizó la cantidad de sangre total utilizada para el estudio basado en el recuento de leucocitos totales en correlación con el recuento de granulocitos no neutrófilos.

7.8 ELABORACIÓN DE UNA SOLUCIÓN DE LISIS AL 10%

- Se emplearon diferentes reactivos para la preparación de la solución de lisis al 10%, una vez elaboradas se probó cada una en muestras piloto verificando la capacidad de lavado y extracción de material genético y así poder establecer la más adecuada para el estudio.
- Se pesaron los reactivos con base a la necesidad de solución requerida para el total de muestras a procesar.

Reactivos	Solución 1 L	Solución 500 mL
NH ₄ Cl (1.5 mM)	80.2 g	40.1
NaHCO ₃ 100mM	8.4 g	4.2
EDTA 10 mM	3.7 g	1.85

- Una vez preparados los 500 ml de solución se ajustó el pH a 7.4 ideal para realizar la lisis celular.
- De la solución madre de 500 mL se tomaron únicamente 100 mL (pH 7.4) y se aforo a 1 L con agua destilada obteniendo una solución de lisis al 10% cuidando que el pH se mantenga en un valor de 7.4, lo anterior con la finalidad de evitar que la solución fuera demasiado agresiva e hipotónica y generara la ruptura de los leucocitos también.
- Se realizó el método de extracción en cada muestra por triplicado obteniendo el promedio del material genético extraído. Estandarizando con ello el método y corroborando que fuera reproducible.

7.9 LISIS DE LOS ERITROCITOS

- Se procesaron las muestras en lotes de 10 en 10 para evitar que las muestras se tuvieran que almacenar un día más y el material genético se degradara.
- Se rotularon diferentes tubos de Falcon de 15 mL con el número y nombre completo de cada una de las pacientes. De igual manera se revisó que todos los materiales a emplear estén listos para su uso.
- Se colocó 1 mL de la muestra sanguínea en el tubo Falcon
- Se añadieron 5 mL de solución de lisis [NH_4Cl 1.5 mM, NaHCO_3 100mM, EDTA 10 mM] a cada tubo con la muestra y se agita lentamente por unos 5 minutos posterior a ello se dejan reposar por 15 minutos más.
- Una vez pasados los 20 minutos centrifugar cada uno de los tubos a 400xg por 10 minutos.
- Retirar el sobrenadante y adicionar 1 mL de sol de lisis, resuspender, pasar a un eppendorf de 1.5 mililitros, dejar reposar nuevamente 20 min.
- Centrifugar nuevamente a 400 xg por 10 min a 4°C
- Realizar los 2 pasos anteriores por 3 veces hasta completar la lisis total de los eritrocitos.
- Desechamos el sobrenadante y adicionamos 750 microlitros de reactivo de TRizol™ y almacenar a -70°C.

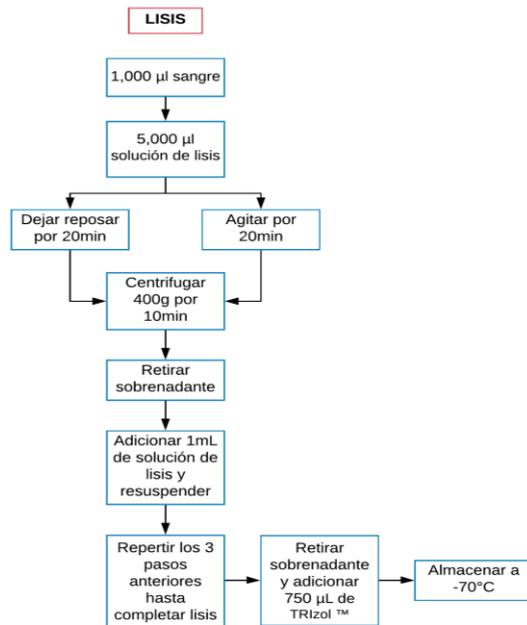


Figura 3. Lisis. Se realizó la lisis de 1000 microlitros buscando dejar la menor cantidad de glóbulos rojos en la muestra y se procedió a su conservación con TRizol en congelación.

7.10 EXTRACCIÓN DE RNA POR MÉTODO DE TRIZOL

- Se descongelaron a temperatura ambiente las muestras conservadas en los 750 microlitros de TRizol.
- Se agregaron 215 microlitros de cloroformo al tubo ya descongelado de TRizol.
- Una vez adicionado el cloroformo se llevan al vortex cada eppendorf por 15 segundos siendo un punto crítico y se dejan reposar por 15 minutos.
- Una vez pasados los 15 minutos centrifugar el homogenizado a 12000 xg por 15 minutos a 4°C.}
- Se recuperan aproximadamente 400 microlitros de fase acuosa o sobrenadante en un tubo cónico de 1.5 ml previamente rotulado y se

adicionan 330 microlitros de isopropanol y se homogeniza generando la precipitación del RNA.

- Se dejan reposar por 10 min a temperatura ambiente y se centrifugan 12000 g por 15 min a 4°C.
- Se retira el sobrenadante y se adicionan 1000 microlitros de etanol al 75% y se centrifuga a 13000 g a 4°C durante 5 minutos.
- Se realizó el paso anterior por al menos 3 veces desechando el sobrenadante por decantación teniendo cuidado de no perder el pellet o botón.
- Se dejó secar para finalmente resuspender el botón en 20 microlitros con agua destilada y cuantificarlo.

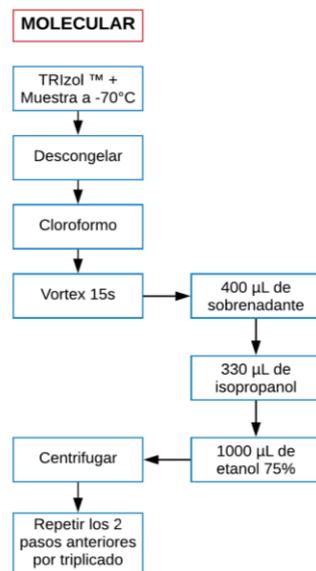


Figura 4. Molecular, Se extrajo el material genético de cada una de las muestras empleando un método estandarizado de TRizol.

7.11 CUANTIFICACIÓN DEL RNA

- Se empleó un equipo de nanoespectrofotometría IMPLÉN® para la cuantificación de RNA.
- Las condiciones empleadas fueron:
 - o Un factor de dilución de 20 µL

- Un análisis de absorbancia de rango A260/A280 para proteínas de RNA, el cual debe ser mayor a 1.5.
- Un análisis de absorbancia de rango 260/230 para solventes orgánicos, marcado la pureza del RNA el cual debe ser mayor a 1.5.
- La concentración de RNA para las muestras debió ser mayor a 100 para ser considerada procesable.
- Se ajustó a cero empleando 1uL de agua destilada como blanco.
- Se adiciono 1uL de las muestras, resuspendidas previamente, en la celda y se le colocó la tapa correspondiente al factor de dilución.
- Se registraron los datos de las 50 muestras procesadas en bitácora.

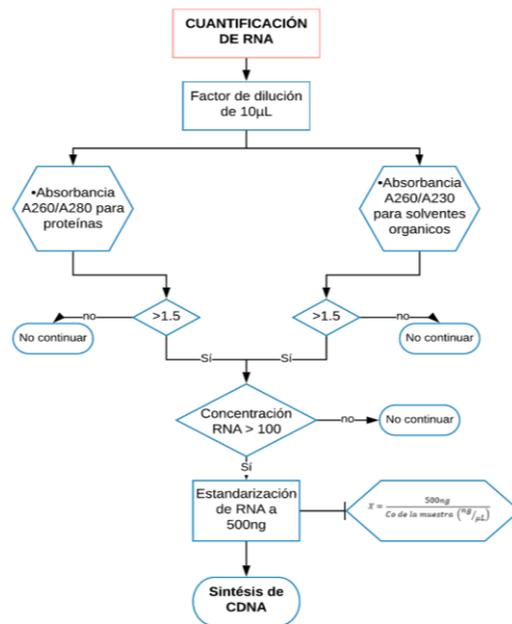


Figura 5. Cuantificación de RNA. Se obtuvieron por triplicado las cantidades de material genético RNA con ayuda del equipo IMPLEN® para cada muestra.

7.12 ESTANDARIZACIÓN A 500NG DE RNA

- Para la estandarización se aplicó la formula:

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$(Co\ mues)(X) = (500ng)(1mL)$$

$$X = \frac{500 \frac{ng}{\mu L}}{Co\ de\ la\ muestra}$$

- Ejemplo: Muestra 1, Co de 140 ng/ μ l

$$X = \frac{500\ ng}{140\ ng/\mu l} = 3.57\ \mu L$$

7.13 SÍNTESIS DE CDNA

-Se preparó un mix en un tubo eppendorf de 1.5 ml de acuerdo con las siguientes proporciones para cada muestra:

4 μ L de buffer

2 μ L de DNTp

1 μ L de RT

- Se rotulo cada uno de los eppendorf de acuerdo con el número de muestra correspondiente.

- Agregar a cada tub 7 μ L del mix

- A cada tubo se agregó 1 μ L de oligo-hexámero (se coloca en el vortex y se centrifuga por 10 segundos).

- Adicionar las cantidades de agua correspondientes (se coloca en el vortex y se centrifuga por 10 segundos).

- Agregar las cantidades de muestra correspondientes

- Colocar en vortex y centrifugar.
- Se programa el termociclador de acuerdo con las condiciones de temperaturas para la síntesis de cDNA de cada uno de los genes.
- Se colocan las muestras en el termo a 25°C durante 5 minutos
- Se coloca el termo a 42°C durante 60min.
- Llevar a 70°C por 5min para finalizar con la síntesis de cDNA
- Llevar a congelación a -20°C.

7.14 PCR PUNTO FINAL

- Se preparó un mix en un tubo eppendorf de 1.5 ml de acuerdo con las siguientes proporciones para cada muestra:

12.5 µL de buffer
1 µL de oligo Rw
1 µL de oligo Fw
1 µL de cDNA
9.5 µL de H ₂ O

- Se preparó en un tubo eppendorf de 1.5 mL un mix para los 50 pacientes, adicionando las siguientes cantidades:

625 µL de buffer
50 µL de oligo Rw
50 µL de oligo Fw
475 µL de H ₂ O

- Se rotularon los 50 eppendorf de cada paciente y se le adicionaron 24 µL del mix anteriormente preparado a cada tubo.

- Se adiciona 1 μ L de cDNA correspondiente de cada paciente a los tubos con los 24 μ L del mix, dando un volumen total de 25 μ L.
- Posteriormente se enciende el termociclador para que vaya tomando la temperatura requerida.
- Se inician las muestras con el programa PJET-PCR ya preestablecido en el termociclador.
- Una vez terminados los ciclos establecidos se colocan en almacenamiento a -18°C las muestras.

7.15 ELECTROFORESIS.

- Se preparó una solución de Tris-Asetato-EDTA (TAE) al 10x partiendo de una solución Stock 50x, contenía 20 mL de sol Stock y 980 mL de agua destilada en un matraz aforado de 1 L.
- Se preparó un gel de agarosa al 2% pesando los siguientes reactivos:
100 mL de TAE- 2g de agarosa
- Las cámaras utilizadas para la electroforesis permiten un volumen de 40 mL por lo cual para cada gen se prepararon de 2 geles, a excepción de Aromatasa que se tuvieron que elaborar 4 cámaras debido a los pb a los que amplifica.
- Se adicionaron 80 mL de una solución TAE 10x elaborada previamente en un matraz de 250 mL y se colocó a calentamiento.
- Se adicionan los 1.6 g de agarosa a los 80 ml de TAE 10x, se deja en agitación constante y se adiciona bromuro de Etidio hasta apreciar una dilución total y un tono traslucido.
- En el punto de ebullición se adicionan 3 μ L de bromuro de Etidio por cada 40 mL de gel de agarosa.
- Dejar enfriar un poco cuidando que no gelifique en el matraz.
- Colocar 40 mL a cada una de las cámaras para electroforesis, cuidando que no se formen burbujas y se cubran los peines de manera correcta.
- Una vez este lo suficientemente sólido el gel se retiran los peines para poder adicionar las muestras
- Se le adicionan 7 μ L de cada muestra y 3 del colorante azul de bromotimol a cada pocillo.

- Como escalera se corrió una escalera estandarizada de 100 pb como punto de referencia.
- Colocar la tapa que contiene el ánodo y cátodo y conectar a la fuente de poder.
- Se corrieron por 45 min a 90 voltios.
- Una vez pasado el tiempo para cada cámara las muestras abran corrido 2/3 partes del gel.
- Se apaga la fuente y se retiran los geles de las cámaras para poder colocarlas en una cámara de Ultravioleta y hacer el análisis.
- Las condiciones de las fotografías fueron las siguientes:
- Se analizaron los resultados

8. RESULTADOS

7.1 CUESTIONARIOS

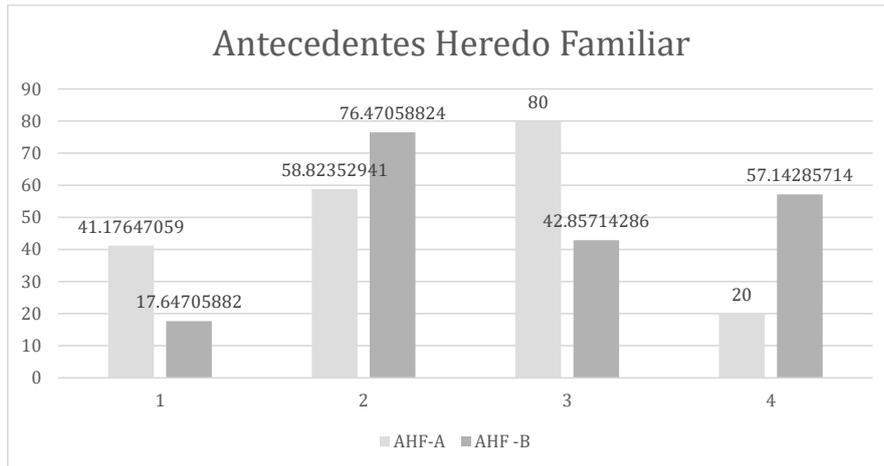


Figura 6. Antecedentes heredo familiares. Análisis de los resultados de las preguntas A y B de Antecedentes Heredo Familiares, donde: 1 es respuesta (si) y respuesta 2 (no) para el grupo de mujeres con un IMC menor a 25; 3 es respuesta (si) y 4 respuesta (no) para el grupo de mujeres con IMC mayor a 25.

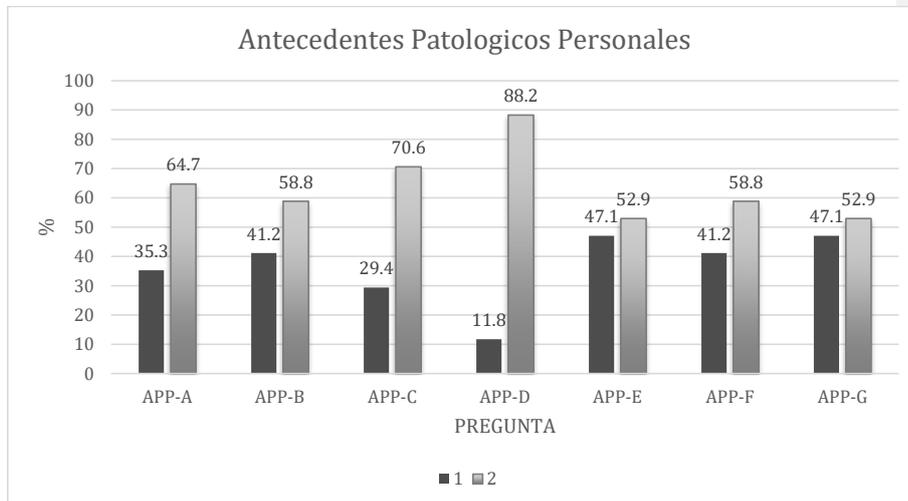


Figura 7. Antecedentes Patológicos Personales. Análisis de los resultados de las preguntas A, B, C, D, E, F y G de Antecedentes Patológicos Personales, donde: 1 es respuesta (si) y respuesta 2 (no).

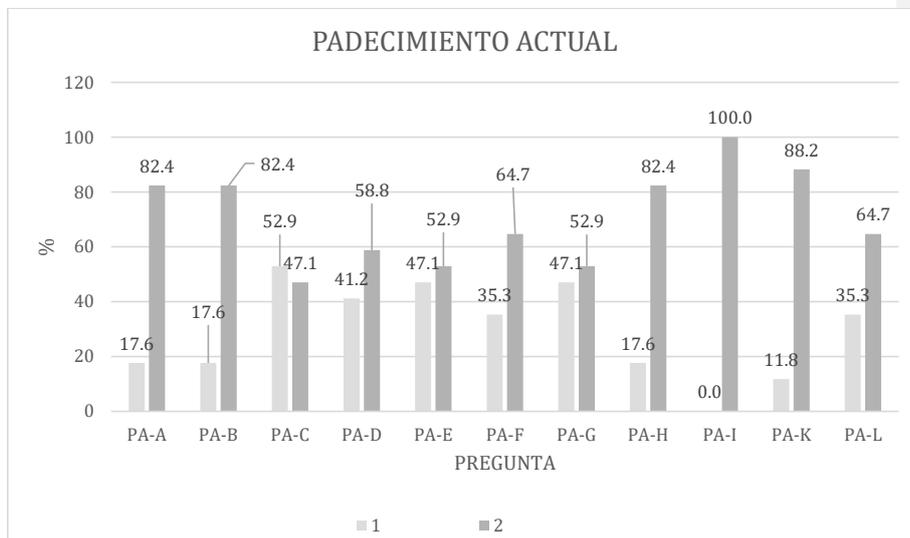


Figura 8. Padecimiento actual. Análisis de los resultados de las preguntas A, B, C, D, E, F, G, H, I, K y L de Padecimiento actual: donde: 1 es respuesta (si) y respuesta 2 (no).

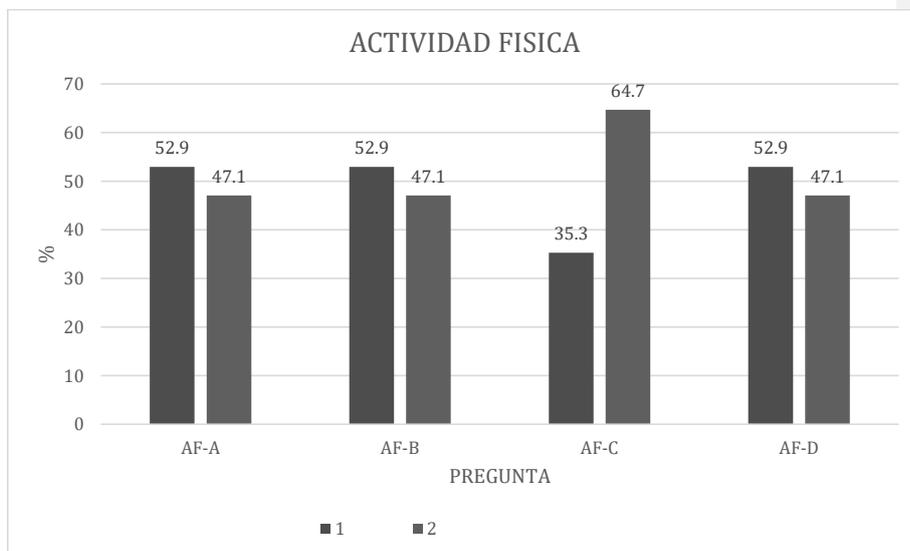


Figura 9. Actividad física. Análisis de los resultados de las preguntas A, B, C y D de la Actividad física que realizan las participantes: donde: 1 es respuesta (si) y respuesta 2 (no).

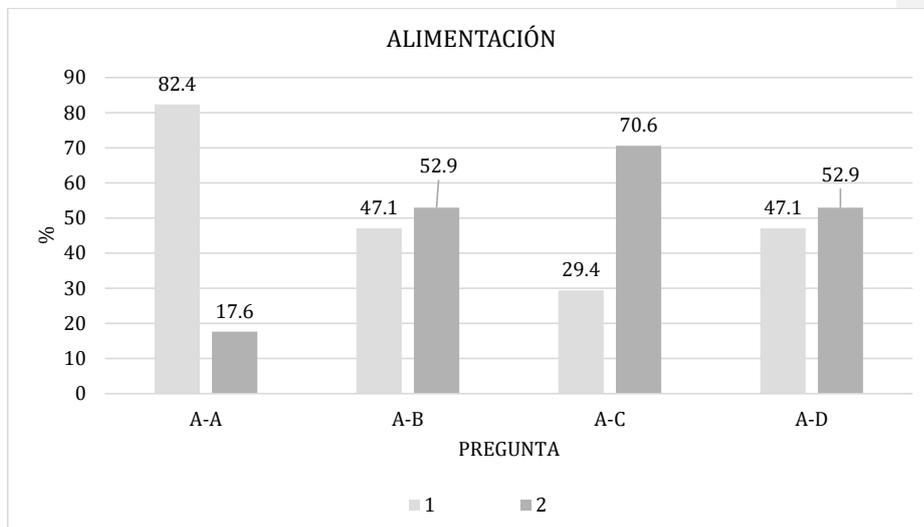


Figura 10. Alimentación. Análisis de los resultados de las preguntas A, B, C y D de la Alimentación que tienen las participantes: donde: 1 es respuesta (si) y respuesta 2 (no).

7.1.1 CUESTIONARIOS MUJERES CON IMC > 25

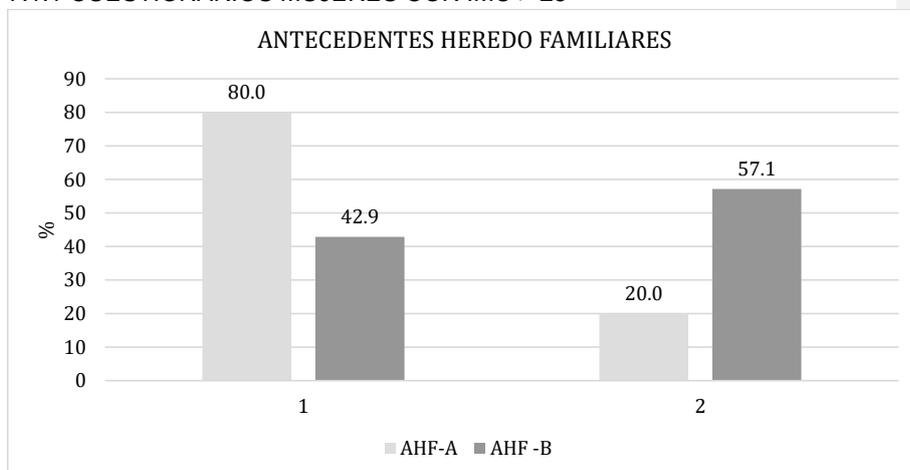


Figura 11. Antecedentes heredo familiares 2. Análisis de los resultados de las preguntas A y B de Antecedentes Heredo Familiares, donde: 1 es respuesta (si) y respuesta 2 (no).

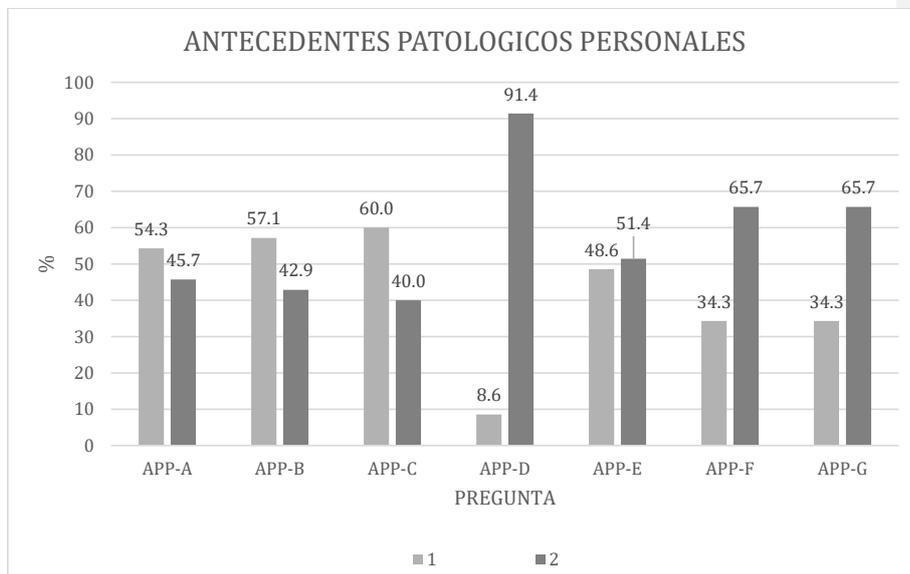


Figura 12. Antecedentes patológicos personales 2. Análisis de los resultados de las preguntas A, B, C, D, E, F y G de Antecedentes Patológicos Personales, donde: 1 es respuesta (si) y respuesta 2 (no).

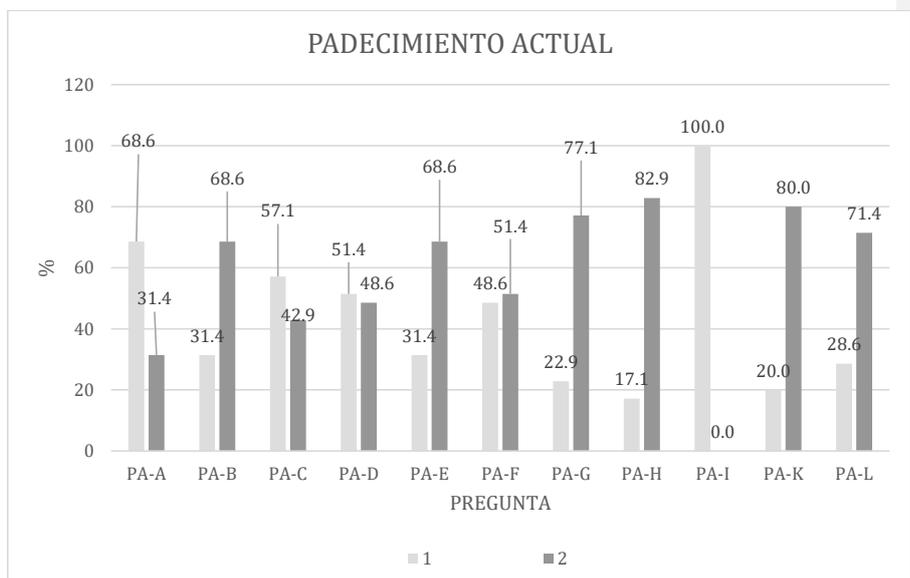


Figura 13. Padecimiento actual 2. Análisis de los resultados de las preguntas A, B, C, D, E, F, G, H, I, K y L de Padecimiento actual: donde: 1 es respuesta (si) y respuesta 2 (no).

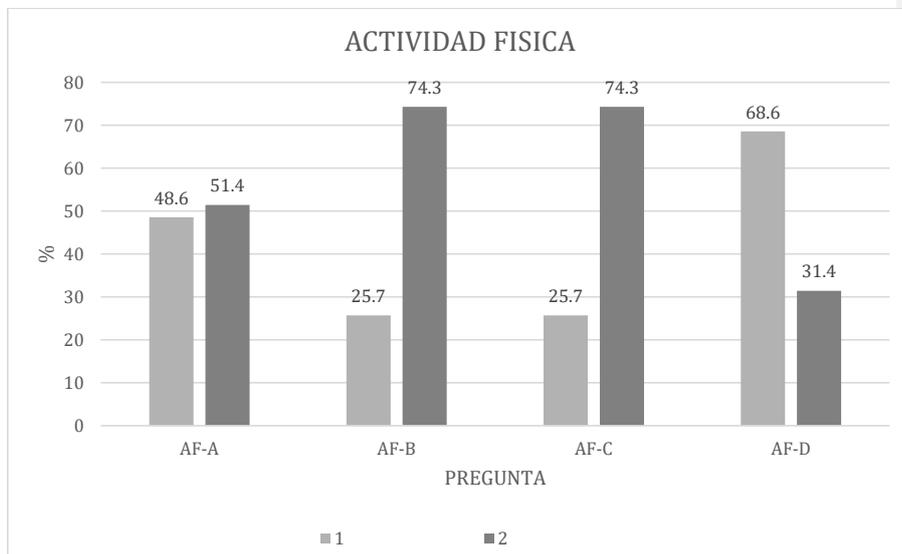


Figura 14. Actividad física 2. Análisis de los resultados de las preguntas A, B, C y D de la Actividad física que realizan las participantes: donde: 1 es respuesta (si) y respuesta 2 (no).

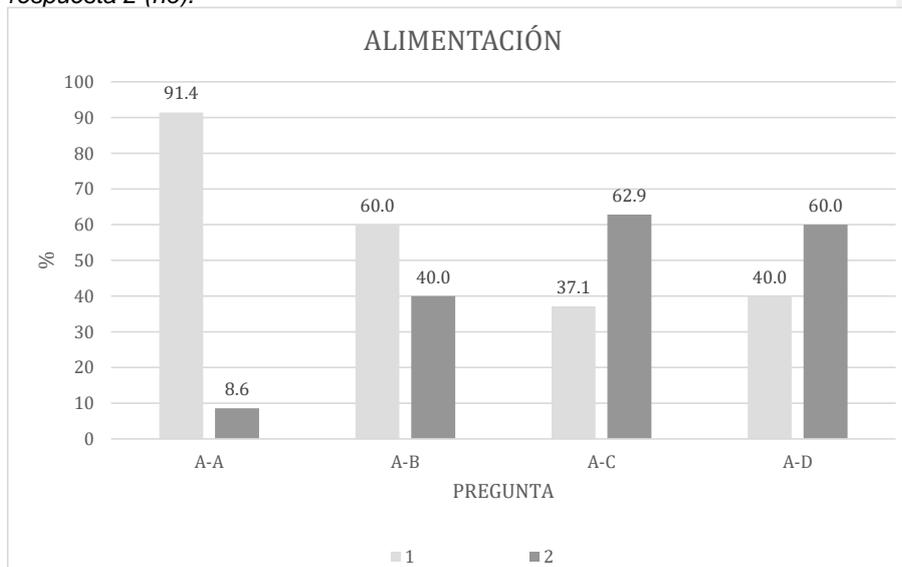


Figura 15. Alimentación 2. Análisis de los resultados de las preguntas A, B, C y D de la Alimentación que tienen las participantes: donde: 1 es respuesta (si) y respuesta 2 (no).

8.2 PESO (KG); TALLA (CM); IMC Y BH MUJERES CON IMC

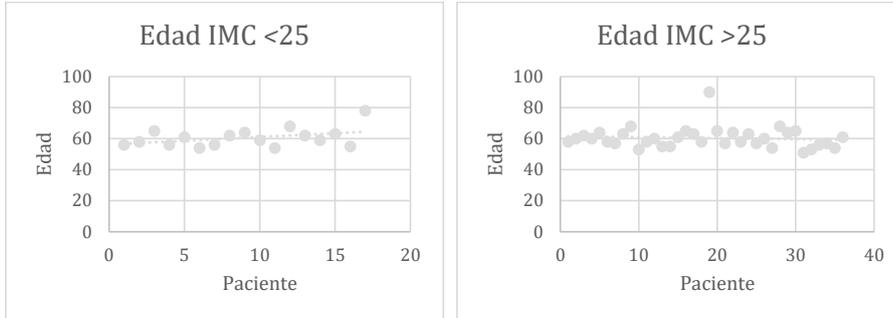


Figura 16. Edad. Comportamiento de las edades de las participantes con IMC menor a 25 e IMC mayor a 25.

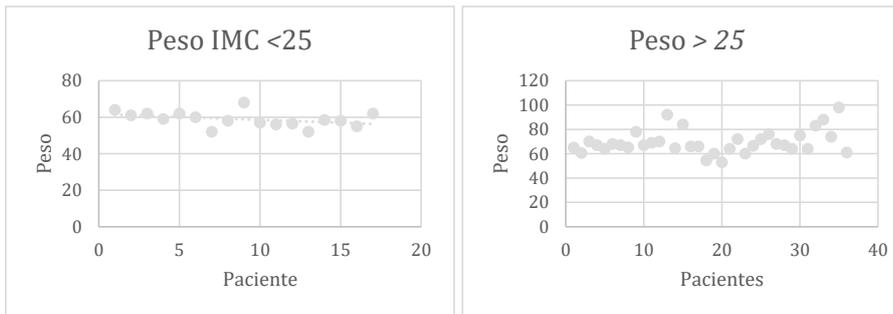


Figura 17. Peso, Tabla de distribución de los pesos de las participantes con IMC menor a 25 e IMC mayor a 25.

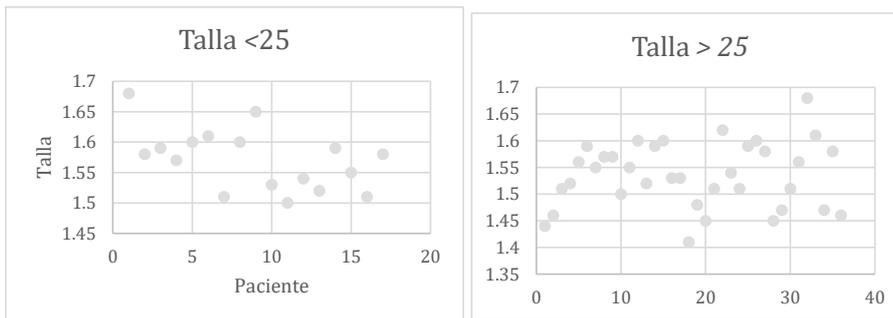


Figura 18. Talla. Distribución de la talla de cada una de las participantes con IMC menor a 25 e IMC mayor a 25.

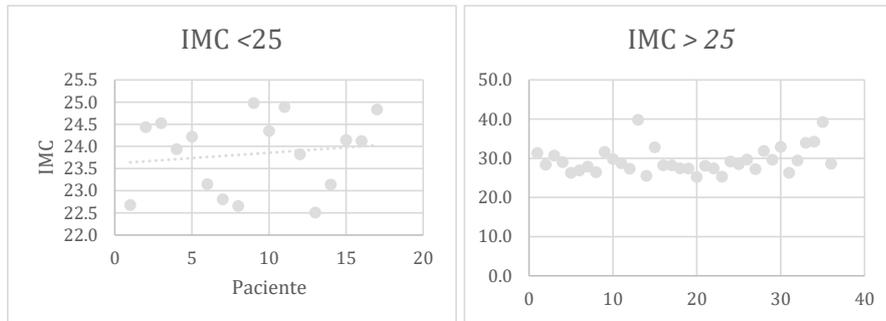


Figura 19. IMC. Distribución de datos del IMC de cada una de las participantes con IMC menor a 25 e IMC mayor a 25.

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS	\bar{X} IMC Menor a 25	σ IMC Menor a 25	\bar{X} IMC Mayor a 25	σ IMC Mayor a 25
EDAD	60.3	6.08	60.2	6.77
PESO	58.7 Kg	4.13	68.8 Kg	9.74
TALLA	1.57 m	0.05	1.50 m	0.1
IMC	23.8 Kg/m ²	0.84	29.4 Kg/m ²	3.5

Tabla 2 Características físicas. Cálculo de la media geométrica y desviación estándar en cada uno de los parámetros físicos de las participantes dentro del grupo con IMC menor a 25 y mayor a 25.

8.2.1 BH SERIE BLANCA

ANALITO	\bar{X} IMC Menor a 25	σ IMC Menor a 25	\bar{X} IMC Mayor a 25	σ IMC Mayor a 25
LEUCOCITOS	$6.1 \times 10^3 / \mu\text{L}$	1.66	$6.3 \times 10^3 / \mu\text{L}$	1.4
NEUTRÓFILOS	58.7 %	6.96	54.3 %	9.3
LINFOCITOS	28.9 %	6.98	31.5 %	9.5
MONOCITOS	5 %	1.35	5.1 %	1.3
EOSINÓFILOS	2.2 %	2.98	2.8 %	3.2
BASÓFILOS	1.4 %	14.49	1.7 %	10.0

Tabla 3. Análisis de la serie blanca sanguínea. Cálculo de la media geométrica y desviación estándar en cada uno de los parámetros leucocitarios en las participantes del grupo con IMC menor a 25 y con IMC mayor a 25.

8.2.2 SERIE ROJA Y PLAQUETAS

ANALITO	\bar{X} IMC Menor a 25	σ IMC Menor a 25	\bar{X} IMC Mayor a 25	σ IMC Mayor a 25
ERITROCITO	$4.9 \times 10^6/\mu\text{L}$	0.27	$4.8 \times 10^6/\mu\text{L}$	0.32
Hgb	13.8 g/dL	2.68	14.3 g/dL	2.19
Hto	47.8 %	3.26	47.2 %	4.00
VCM	97.8 fl	4.83	94.9 fl	12.58
MCH	28.3 pg	5.38	29.6 pg	4.36
MCHG	28.9 g/dL	5.67	30.3 g/dL	4.27
RDW	13.5 %	0.81	13.5 %	1.00
IDH	2.6 fl	0.29	2.6 fl	0.55
PLQ	$\times 10^3/\mu\text{L}$	60.59	$\times 10^3/\mu\text{L}$	52.05
VPM	11.3 fl	1.13	11.3 fl	1.74

Tabla 4. Serie roja y plaquetas. Cálculo de la media geométrica y desviación estándar en cada uno de los parámetros eritrocitarios y plaquetas en cada uno de los grupos con IMC menor a 25 e IMC mayor a 25.

8.3 CUANTIFICACIÓN DE RNA

No	A260/280	A260/230	Co. De RNA
1	1.81	1.42	187
2	1.91	1.64	111
3	1.85	1.65	246
6	1.68	2.13	111
7	1.72	2.05	141
8	1.82	1.97	238
9	1.80	1.91	215
10	1.83	1.72	273
11	1.83	1.73	267
12	1.78	1.69	201
13	1.78	1.98	192
14	1.84	2.01	297
15	1.80	1.33	216
16	1.85	1.45	237
18	1.70	1.52	99.8
19	1.60	2.44	102
20	1.64	1.79	99.8
21	1.61	1.66	94.2
22	1.67	1.39	85.4
23	1.70	1.73	161
24	1.62	2.21	116
25	1.62	2.32	119

No	A260/280	A260/230	Co. De RNA
26	1.62	1.67	101
27	1.68	1.67	86.7
28	1.77	1.49	166
29	1.69	1.69	90.6
30	1.73	1.73	169
31	1.75	1.72	206
32	1.69	1.50	114
33	1.78	1.20	180
34	1.81	1.82	248
35	1.82	1.64	180
36	1.79	1.74	242
37	1.79	1.81	184
38	1.79	1.85	295
39	1.66	2.13	139
40	1.75	1.37	211
41	1.76	1.54	190
42	1.75	1.38	225
43	1.77	1.43	273
44	1.65	1.89	203
45	1.79	1.33	177
46	1.77	1.47	207
47	1.80	1.62	196

Tabla 5 Cuantificación de RNA. Resultados del promedio de los valores cuantificados de RNA de cada una de las participantes del estudio.

8.4 AMPLIFICACIÓN DE GENES 18S, OBRB, AROMATAS Y ADIPO R1

8.4.1 Gen 18s

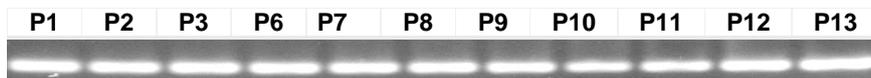


Figura 20. Gen 18 s p1-p13. Resultado de amplificación del gen 18s de la participante 1 a la 13.

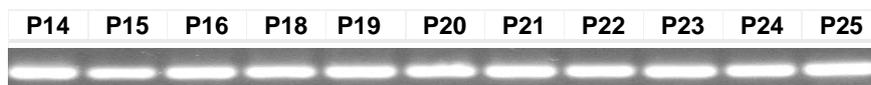


Figura 21. . Gen 18 s p14-p25. Resultado de amplificación del gen 18s de la participante 14 a la 25

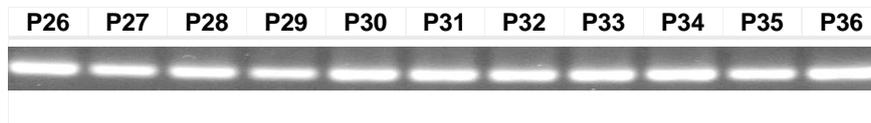


Figura 22. Gen 18s p26-p36. Resultado de amplificación del gen 18s de la participante 25 a la 36



Figura 23. Gen 18s p39-p47. Resultado de amplificación del gen 18s de la participante 37 a la 47

8.4.2 Gen ObRb



Figura 24. Gen ObRb p1-p13. Resultado de amplificación del gen ObRb de la participante 1 a la 13.



Figura 25. Figura 25. Gen ObRb p14-p25. Resultado de amplificación del gen ObRb de la participante 14 a la 25.



Figura 26. Gen ObRb p26-p36. Resultado de amplificación del gen ObRb de la participante 26 a la 36.





Figura 27. Gen ObRb p37-p47. Resultado de amplificación del gen ObRb de la participante 37 a la 47.

8.4.3 Gen Aromatasa



Figura 28. Gen AR p1-13. Resultado de amplificación del gen AR de la participante 1 a la 13.

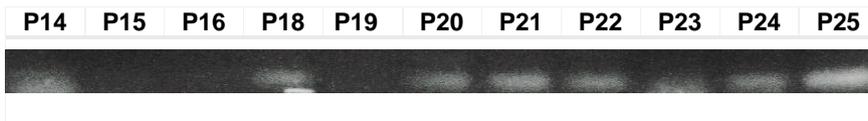


Figura 291. Gen AR p14-25. Resultado de amplificación del gen AR de la participante 14 a la 25.



Figura 30. Gen AR p26-36. Resultado de amplificación del gen AR de la participante 26 a la 36



Figura 312. Gen AR p37-47. Resultado de amplificación del gen AR de la participante 37 a la 47.

8.4.4 Gen AdipoR1

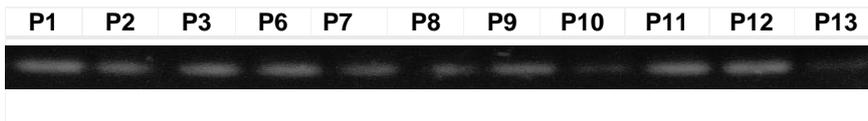


Figura 32. Gen Adipo R1 p1-13. Resultado de amplificación del gen AdipoR1 de la participante 1 a la 13.



Figura 333. Gen Adipo R1 p14-25. Resultado de amplificación del gen AdipoR1 de la participante 14 a la 25.

Figura 344. Gen Adipo R1 p26-36. Resultado de amplificación del gen AdipoR1 de la participante 26 a la 36.



6



Figura 35. Gen Adipo R1 p37-47. Resultado de amplificación del gen AdipoR1 de la participante 37 a la 47.

No. Paciente	18s	ObRb	AR	AdipoR1
1	A	A	NA	A
2	1A	NA	A	A
3	A	A	A	A
6	A	A	A	A
7	A	A	A	A
8	A	A	A	A
9	A	A	NA	A
10	A	A	A	A
11	A	A	NA	A
12	A	A	A	A
13	A	A	NA	A
14	A	A	A	A
15	A	A	NA	NA
16	A	A	NA	A
18	A	A	A	NA
19	A	A	NA	A
20	A	A	A	A
21	A	A	A	A
22	A	A	A	A
23	A	A	NA	A
24	A	A	A	A
25	A	A	A	A
26	A	A	A	A

No. Paciente	18s	ObRb	AR	AdipoR1
27	A	A	A	A
28	A	A	A	A
29	A	A	NA	A
30	A	NA	A	NA
31	A	A	A	NA
32	A	A	NA	A
33	A	A	A	A
34	A	A	A	A
35	A	A	A	A
36	A	A	A	A
37	A	A	A	A
38	A	A	A	A
39	A	A	A	A
40	A	A	A	A
41	A	A	A	A
42	A	A	A	A
43	A	A	A	A
44	A	A	NA	NA
45	A	A	A	A
46	A	A	A	A
47	A	A	A	NA

Tabla 6. Amplificación de genes. Concentrado con la amplificación de cada uno de los genes de acuerdo con las participantes

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Prueba e Normalidad de Shapiro-Wilk

/	Estadístico	gl	Sig
IMC<25	.879	11	.101
IMC>25	.864	36	.004
PESO<25	.990	11	.997
PESO>25	.904	36	.004
EDAD<25	.918	11	.304
EDAD>25	.792	36	.001
TALLA<25	.960	11	.772
TALLA>25	.978	36	.689

Tabla 7. Análisis estadístico de normalidad de las medidas antropométricas y edad.

ANÁLISIS DE CORRELACIÓN DE PEARSON

Gen	Cor Pearson (p valor)	gl
Obrb IMC >25	-0.030	0.873
Obrb IMC <25	0.253	0.404
Aromatasa >25	0.544	0.002
Aromatasa <25	0.53	0.405
AdipoR1 >25	0.324	0.056
AdipoR1 <25	0.606	0.028

Tabla 8. Análisis de correlación de Pearson

CAPITULO 5. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Se partió de un grupo de 80 participantes postmenopáusicas de las cuales se capturaron las características físicas que cada una de las participantes tenían, como talla, peso, edad e IMC, gracias a la concentración de los datos obtenidos las participantes se clasificaron en 2 grupos, el primer grupo de mujeres postmenopáusicas con un IMC menor a 25 (participantes sanas) y el segundo grupo de mujeres postmenopáusicas con un IMC mayor a 25 (participantes obesas y en sobrepeso), una vez categorizado cada grupo se les realizó una encuesta de los antecedentes heredofamiliares que tenían de enfermedades crónicas degenerativas, para lo cual se empleó un cuestionario cuyos resultados están mostrados en la Tabla 2.

La tabla 2 de igual manera muestra las características de las pacientes dentro del grupo de normopeso, en las cuales la edad media de las mujeres es de 60.32 ± 6.08 años estando todas ellas dentro del rango de edad requerida para el estudio, el peso medio de las participantes es de 58.74 ± 4.13 Kg siendo en su mayoría apropiado y equilibrado respecto a la talla donde el promedio es de 1.57 ± 0.05 m; una vez calculado para cada una de ellas el IMC con base en la relación de peso (kg) a la altura al cuadrado (m^2) obtenido un IMC medio de 23.82 ± 0.84 Kg/ m^2 , considerando con ello a las participantes dentro de un rango IMC menor a 25 (normopeso) según lo establecido en la bibliografía.

Las características de las pacientes consideradas dentro del segundo grupo. En las cuales la edad media de las mujeres es de 60.2 ± 6.77 años encontrándose en la edad apropiada según lo establecido en los criterios de aceptación del proyecto, el peso medio de las participantes es de 68.8 ± 9.74 Kg, con una talla promedio de 1.50 ± 0.01 m. El IMC de igual manera se calculó como la relación de peso (kg) a la altura al cuadrado (m^2) obtenido un IMC medio de 29.4 ± 3.5 Kg/ m^2 considerando a este segundo grupo dentro de pacientes con IMC mayor a 25 (sobrepeso y obesidad)

Se pudo observar que en su mayoría las participantes del grupo de obesas y sobrepeso cuentan con antecedentes heredofamiliares tanto de familiares directos como de familiares secundarios, pero de igual manera algunas de las pacientes sanas cuentan con estos antecedentes. Otro punto para resaltar es la falta de

actividades y ejercicio que tienen ambos grupos considerando que la mayoría de ellas llevan una vida sedentaria.

Debido a que a 7 de las participantes tenían un IMC menor a 18.4 es decir algunas de estas pacientes estaba en desnutrición fueron descartadas.

Independiente de la clasificación de IMC a las pacientes de cada grupo se les realizó recuento de leucocitos, neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos, y basófilos. Algunas de las pacientes tenían un recuento de leucocitos demasiado alto por lo cual se hizo un ajuste de pacientes, descartándose con ello a 14 de las participantes, ya que a partir del recuento de leucocitos se estandarizo el método a aplicar, así como la cantidad de sangre requerida para continuar con el estudio. El resto de las pacientes se encontraron dentro de los índices biológicos de referencia sin considerar el grupo al cual pertenecen. Únicamente se encuentra una diferencia significativa en el recuento de basófilos dentro del grupo con sobrepeso y normopeso, pudiendo ser causa alguna alergia, enfermedad por virus o el tipo de dieta que cada paciente lleva diariamente.

También se realizó un recuento de eritrocitos, hemoglobina (Hgb), hematocrito (Hto), Volumen corpuscular medio (MCV), Concentración de Hemoglobina corpuscular media, tamaño de los glóbulos rojos, plaquetas, volumen medio de plaquetas, tamaño de distribución de hemoglobina, etc. Sin embargo la media de cada índice hemolítico se encuentran dentro de los valores de referencia de acuerdo con los datos del laboratorio, corroborando que las pacientes cuentan con las condiciones adecuadas para proseguir con el estudio.

En la extracción de RNA se tuvo la necesidad de descartar algunas pacientes debido a la estandarización de la concentración de RNA en ng/ dl requeridos para proceder a la síntesis de CDNA evitando tener alguna falla que nos llevara a la modificación de la técnica. La concentración mínima requerida era de 90 ng/ dl y con una pureza de Para la parte genética mediante el uso del programa Imagen J se midió la intensidad de la banda en cada uno de los genes, permitiendo establecer una media de intensidad, así como el ajuste a 1 de cada gen. La expresión de genes se determinó mediante el uso de oligonucleótidos específicos para cada gen (ObRb, AdipoR1 y AR) utilizando como control positivo el gen 18S el cual es una molécula de ARN ribosómico de las células eucariotas, en dicho gen se

observó una expresión y densidad de banda bien definida en cada una de las muestras. De igual forma el análisis de la intensidad de banda del gen 18S permitió establecer un control de intensidad de banda y con ello poder descartar que la presencia de una banda no bien definida se debiera a un error metodológico.

ANÁLISIS DE NORMALIDAD

El análisis estadístico se basó en la determinación de la normalidad de las variables antropogénicas y edad donde el IMC en el grupo de las mujeres con un IMC mayor a 25 se tiene un gl (grado de libertad) de 36<50 por lo tanto se trabajó con la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, así mismo el valor Sig (p. valor) es de 0.004<0.05 por lo que nuestra hipótesis se trabajara con una distribución no normal o no paramétrica (Tabla 7). Para la Edad (Tabla 7) su grado de libertad es de 36<50 por lo tanto se trabajó con la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, así mismo el valor Sig (p. valor) es de 0.001<0.05 por lo que nuestra hipótesis se trabajara con una distribución no normal o no paramétrica. El Peso (Tabla 7) su grado de libertad es de 36<50 por lo tanto se trabajó con la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, así mismo el valor Sig (p. valor) es de 0.004<0.05 por lo que nuestra hipótesis se trabajara con una distribución no normal o no paramétrica. Por último, se tiene que para la Talla su grado de libertad es de 36<50 por lo tanto se trabajó con la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, así mismo el valor Sig (p. valor) es de 0.689>0.05 por lo que nuestra hipótesis se trabajara con una distribución normal o paramétrica (Tabla 7).

Para el grupo de mujeres con IMC menor a 25 de igual manera se determinó la normalidad de las variables antes mencionadas donde para el IMC se tiene un gl (grado de libertad) de 11<50 por lo tanto se trabajó con la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, así mismo el valor Sig (p. valor) es de 0.101>0.05 por lo que nuestra hipótesis se trabajó con una distribución normal o paramétrica (Tabla 7), la Talla se tiene un gl (grado de libertad) de 11<50 por lo tanto se trabajó con la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, así mismo el valor Sig (p. valor) es de 0.772>0.05 por lo que nuestra hipótesis se trabajó con una distribución normal o paramétrica (Tabla 7), en el caso de la Edad se tiene un gl (grado de libertad) de 11<50 por lo tanto se trabajó con la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, así mismo el valor Sig (p.

valor) es de $0.304 > 0.05$ por lo que nuestra hipótesis se trabajó con una distribución normal o paramétrica (Tabla 7), por último para el Peso se tiene un gl (grado de libertad) de $11 < 50$ por lo tanto se trabajó con la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk, así mismo el valor Sig (p. valor) es de $0.997 > 0.05$ por lo que nuestra hipótesis se trabajó con una distribución normal o paramétrica (Tabla 7).

Se realizó el estudio estadístico de correlación de Pearson (r/p), dicha prueba nos menciona que la correlación es mayor cuando el valor obtenido se encuentra entre el parámetro $-1 \leq r \leq 1$, existiendo entre las variables o una correlación directa fuerte o una correlación inversa fuerte.

Para el grupo de las mujeres con IMC mayor a 25 para el gen OBRB la Correlación de Pearson (p) es de -0.030 denotando que hay una correlación baja inversa con un $gl=0.873$ por lo cual la relación no es significativamente representativa entre las variables, para el gen Aromatasa se obtuvo una $p=0.544$ denotando que había una correlación directa alta con un $gl=0.002$ por lo cual la relación es significativamente representativa entre las variables y para el gen AdipoR1 se obtuvo un valor $p=0.324$ denotando una correlación directa media con un $gl=0.056$ por lo cual la relación es significativamente representativa.

Para el grupo de mujeres con un IMC menor a 25 para el gen OBRB la Correlación de Pearson $p=0.253$ denota que existe una correlación directa baja con un $gl=0.404$ por lo que la relación entre dichas variables no tiene una significancia representativa, para el gen Aromatasa se obtuvo una $p=0.530$ teniendo una correlación directa alta entre las variables con un $gl=0.405$ por lo que la relación no es de significación representativa y para el gen AdipoR1 se obtuvo una $p=0.606$ denotando una correlación directa alta entre las variables con un $gl=0.028$ por lo cual la relación entre las variables es de significancia representativa.

CAPITULO 6. CONCLUSIONES

La identificación génica de cada uno de los receptores estudiados nos mostró que existe una relación cercana entre el IMC y la amplificación de los mismos variando entre cada uno de los grupos la amplificación de cada gen e incluso en el mismo grupo dependiendo el gen estudiado tenía variaciones de expresión, esto con relación a las diferentes características fisiológicas de las pacientes y los diferentes agentes factoriales que se manejaron, comprobando así de esta manera que existe una gran relación entre la posibilidad de padecer obesidad con las expresión de los genes estudiados.

Se observó que las pacientes que presentaban un IMC < 25 tienen una menor expresión de dichos genes. Algunas de ellas presentaron amplificación de los genes, principalmente el gen ObRb presentaron amplificación, esto pudo ser debido a que no podían ser exentas de amplificar a causa de los antecedentes familiares. En este último caso la mayoría de ellas contaba con familiares que padecen obesidad y/o cáncer, de igual manera llevan una vida sedentaria y una mala alimentación según los cuestionarios aplicados.

Se observó que las pacientes que tenían un IMC > 25 que en su mayoría en estado de sobrepeso u obesidad amplificaron para cada uno de los genes, como se esperaba, excluyendo a unas pocas donde no hubo amplificación en alguno de los genes, principalmente Aromatasa y AdipoR1 ya que son genes que se relacionan a su vez con la actividad física que se tenga, así como la alimentación que se lleva, además de que no contaban con familiares con algún padecimiento antes mencionado.

En su mayoría las pacientes seleccionadas contaron con las características para poder participar en este proyecto de acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión tomados para el este y con ello poder evitar que alguno de estos factores interfiriera con los fines del proyecto.

A través de la extracción y síntesis de un control se corrobora que este método empleado para el procesamiento de cada una de las muestras se realizó de manera eficiente evitando así con ello y por el contrario corroborando que este no interfirió o afecto en la amplificación de los genes estudiados.

El uso de procesos especializados como la PCR se amplificaron los genes de manera exitosa y se realizó una determinación en gel de agarosa al 2% que nos llevó a poder hacer un análisis más preciso de la amplificación de cada gen por paciente, y así poder concentrar los datos obtenidos y hacer nuestro análisis estadístico y de correlación.

El análisis de normalidad de Shapiro Wilk y el estudio de correlación de Pearson se demostró a relación que existe entre la amplificación de estos genes con los datos multifactoriales analizados en el estudio, principalmente con el IMC, el cual fue factor crítico a determinar para asignar a un grupo a cada una de las participantes. Se observa que las mujeres que tienen mayor IMC presentaron la amplificación casi en su totalidad de los 4 receptores génicos analizados a diferencia de las participantes con un IMC menor a 25 con un mejor control en actividad física y alimentación que tuvieron una menor amplificación de dichos genes, el valor de p obtenido en cada uno de los genes y el estudio comparativo entre los mismo denoto que en el gen Aromata y el gen AdipoR 1 existe una correlación alta directa entre las variables en el grupo de mujeres con IMC mayor a 25, a diferencia de las mujeres con IMC menor a 25 que la amplificación presentada fue menor.

REFERENCIAS

1. Norma Oficial Mexicana para el manejo integral de la obesidad. NOM-174-SSA1-1998. Cuadernos de Nutrición. 2000; 23:501-508.
2. Bastarrachea R, Cole Shelley, Comuzzie A. Genómica de la regulación del peso corporal: mecanismos moleculares que predisponen a la obesidad. *Med Clin* 2004; 123:104-17
3. Ezzatl M, Riboli E. Behavioral and dietary risk factors for noncommunicable diseases. *N Engl J Med* 2013; 369:954-64.
4. Gutiérrez JP, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, et al. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública (MX), 2012.
5. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos. Medios. Disponible en: http://www.oecd.org/centrodemexico/medios/30e_lindice_deobesidadenmexico.htm [2013 Noviembre 22]
6. Pi-Sunyer X. The medical risks of obesity. *Postgrad Med* 2009; 121:21–33.
7. Wolin KY, Carson K, Colditz GA. Obesity and cancer. *Oncologist* 2010; 15:556–565.
8. Polednak AP. Estimating the number of U.S. incident cancers attributable to obesity and the impact on temporal trends in incidence rates for obesity-related cancers. *Cancer Det Prev* 2008; 32:190–199.
9. Lahmann PH, Hoffmann K, Allen N, et al. Body size and breast cancer risk: findings from the European Prospective Investigation into Cancer And Nutrition (EPIC). *Int J Cancer* 2004; 111:762–771.
10. van den Brandt PA, Spiegelman D, Yaun SS, et al. Pooled analysis of prospective cohort studies on height, weight, and breast cancer risk. *Am J Epidemiology* 2000; 152:514–527.
11. Ballard-Barbash R, Hunsberger S, Alciati MH. Physical activity, weight control, and breast cancer risk and survival: clinical trial rationale and design considerations. *J Nat Cancer Inst* 2009; 101: 630–643.
12. Carpenter CL, Ross RK, Paganini-Hill A, et al. Effect of family history, obesity and exercise on breast cancer risk among postmenopausal women. *Int J Cancer* 2003; 106: 96–102.

13. Carroll JS, Swarbrick A, Musgrove Berclaz G, et al. Body mass index as a prognostic feature in operable breast cancer: The International Breast Cancer Study Group experience. *Ann Onc* 2004; 15:875–884.
14. Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, et al. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med* 2003; 348:1625–1638.
15. Roberts DL, Dive C, Renehan AG. Biological mechanisms linking obesity and cancer risk: new perspectives. *Ann Rev Med* 2010; 61:301–316.
16. Lorincz AM, Sukumar S. Molecular links between obesity and breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 2006; 13:279-92.
17. Van Landeghem AA, et al 1985 Endogenous concentration and subcellular distribution of estrogens in normal and malignant human breast tissue. *Cancer Research* 45 2900-2906.
18. (Sachdev et al 2001) Sachdev y Yee D. 2001 The system and breast cancer. *Endocrine-Related Cancer* 8 197-209.
19. Michels KB, Solomon CG, Hu FB, Rosner BA, Hankinson SE, Colditz GA & Manson JE 2003 Type 2 diabetes and subsequent incidence of breast cancer in the Nurses' Health Study. *Diabetes Care* 26 1752–1758.
20. Hu X, Juneja SC, Maihle NJ & Cleary MP 2002 Leptin—a growth factor in normal and malignant breast cells and for normal mammary gland development. *Journal of the National Cancer Institute* 94 1704–1711.
21. Laud K, Gourdou I, Pessemesse L, Peyrat JP & Djiane J 2002 Identification of leptin receptors in human breast cancer: functional activity in the T47-D breast cancer cell line. *Molecular & Cellular Endocrinology* 188 219–226.
22. Dieudonne MN, Machinal-Quelin F, Serazin-Leroy V, Leneveu MC, Pecquery R & Giudicelli Y 2002 Leptin mediates a proliferative response in human MCF7 breast cancer cells. *Biochemical & Biophysical Research Communications* 293 622–628.
23. Catalano S, Marsico S, Giordano C, Mauro L, Rizza P, Panno ML & Ando S 2003 Leptin enhances, via AP-1, expression of aromatase in the MCF-7 cell line. *Journal of Biological Chemistry* 278 28668–28676.
24. Qian, B. Z. et al. CCL2 recruits inflammatory monocytes to facilitate breast tumour metastasis. *Nature* 475, 222–225 (2011).

25. Aguilera, C. y Olza, J. y Gil, Á. (2013). Genetic susceptibility to obesity and metabolic syndrome in childhood. *Nutrición Hospitalaria*, [en línea] 28(5), pp.44-55.
26. American Cancer Society. *Cáncer de seno (mama)*. 2014.
27. Benítez, J. G. S., Quiroz, Á. O., Zerón, H. M., & Oliván, L. M. G. (2012). La leptina en la carcinogénesis mamaria. Vías de señalización. *Química Viva*.
28. De La Cruz V. J. A., Arceo G. M. E., Lorenzo, H., & Servín, O. (2010), *OBESIDAD Y CÁNCER DE MAMA*.
29. Durazo, F., & Capelini, F. (2009). Leptina y obesidad. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 56(4), 262-264.
30. Elissondo, N. y Gómez Rosso, L. y Maidana, P. y Brites, F. (2008). Adiponectina: una adipocitoquina con múltiples funciones protectoras. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, [en línea] 42(1), pp.17-33.
31. Estrada P, A. O. (2017). Adiponectina: biomarcador de obesidad (Doctoral dissertation, Facultad en Ciencias de la Nutrición y Alimentos-Licenciatura en Nutriología-UNICACH).
32. Knaul, F. M., Nigenda, G., Lozano, R., Arreola-Ornelas, H., Langer, A., & Frenk, J. (2009). Cáncer de mama en México: una prioridad apremiante. *Salud pública de México*, 51, s335-s344.
33. López F., Constanza M., Maselli A., María E., Milta M. N. D, Recalde R. G. M., Vanrell R. M. C., Uvilla R. A., Messina L. D., Pérez E. R. F., &
34. Mendoza, I. Y. P., & Santillán B. J. G. (2013). Validación del método analítico para la determinación de adiponectina y leptina en suero de pacientes con cáncer de mama.
35. Muciño R, M. D., & Hernández N. M. D., (2017), Expresión de los receptores AdipoR1 y AdipoR2 como mecanismo de regulación Leptina-Cáncer de mama.
36. Musri, M. M. (2006). Expresión de adiponectina y sus receptores en tejido adiposo. Regulación epigenética en la adipogénesis. *Universitat de Barcelona*.
37. Oliva Anaya, C. y Cantero Ronquillo, H. y García Sierra, J. (2015). Dieta, obesidad y sedentarismo como factores de riesgo del cáncer de mama. *Revista Cubana de Cirugía*, [en línea] 54(3), pp.274-284

38. SIMÓN, E.; DEL BARRIO, A.S. (2009) Leptina y obesidad. Anales del Sistema Sanitario de Navarra, p. 53-64
39. Weigelt B, Geyer F C, Reis-Filho J S. Histological Types of breast cancer: How special are they? Mol Onc. 2010; 4(3):192-208.
40. López-Guerrero, J. A., & García-Casado, Z. (2007). Implicaciones clínico-biológicas de la aromatasa (CYP19A1) en el cáncer de mama hormonodependiente. REVISTA DE SENOLOGÍA, 2007(52), 0214-1582.
41. Suárez-Carmona, W., Sánchez-Oliver, A. J., & González-Jurado, J. A. (2017). Fisiopatología de la obesidad: Perspectiva actual. Revista chilena de nutrición, 44(3), 226-233.
42. Pasca, A. J., & Montero, J. C. (2015). El corazón del obeso. Buenos Aires (Argentina): Intermedica.
43. López L. J. D., (2009). Influencia de la leptina y la adiponectina sobre el cáncer de próstata. Archivos Españoles de Urología (Ed. impresa).
44. Cummings, DE y Schwartz, MW (2003). Genética y fisiopatología de la obesidad humana. Revisión anual de medicina, 54 (1), 453-471.

Comentado [1]: Agregue estas referencias porque hacian falta

ANEXOS

1. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

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: de la 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 genes relacionados con obesidad en mujeres mayores de 55 años. El objetivo de este estudio es utilizar la muestra de su sangre para aislar DNA y buscar por técnicas de Biología Molecular genes asociados con obesidad.

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 enfermedades crónico-degenerativas como el cáncer, para disponer en un futuro de mejores herramientas predictivas y terapéuticas.

PROCEDIMIENTO

Se procede a la toma de muestra biológica (8 ml de sangre por punción venosa, 2 tubos Vacutainer®, tapón morado y amarillo) para la investigación. Inmediatamente tras la extracción de la misma 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, no presente 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; de lo contrario serán desechadas y se informara al donador para que sea recibida una asesoría. El procedimiento para la obtención de las muestras no implica ninguna otra intervención, aparte de la propia extracción de sangre a la que usted será sometido para el respectivo estudio. Una vez otorgado su consentimiento y obtenida la muestra habrá concluido su participación en el proyecto de investigación y no se le exigirá que dedique ningún tiempo extra al mismo.

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.

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.

2. TABLA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

CUESTIONARIO

CUESTIONARIO DE FACTORES DE RIESGO

Con el fin de complementar los resultados de la determinación de anticuerpos AdipoR1, AdipoR2 y ObR de genes de obesidad, conteste los siguientes cuestionamientos con la mayor veracidad posible, además de ello le informo que sus datos permanecerán en confidencialidad.

IDENTIFICACIÓN DEL PACIENTE

NOMBRE:

TELÉFONO:

DOMICILIO:

EDAD:

años

PERTENENCIA ÉTNICA

SEXO

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...?

	Si	NO	Especifique el tipo
Sobrepeso u obesidad (conforme al anexo 1)			

cáncer			
Ha tenido tratamientos hormonales			
Fecha de primera menstruación			
Fecha de última regla			
Número de embarazos			
Meses de Lactancia			

ANTECEDENTES PATOLÓGICOS PERSONALES

¿Usted ha padecido o padece?

	Si	No	Especifique
Aumento del colesterol en sangre			
Aumento de triglicéridos en sangre			
Problemas emocionales			
Problemas de la glándula tiroides			
Estrés			
Depresión			

Mucho tiempo libre			
--------------------	--	--	--

PADECIMIENTO ACTUAL

¿padece alguno de los siguientes signos?

	SI	NO	ESPECIFIQUE
Aumento de peso			
Dificultad para respirar (durante el día y al dormir)			
Cansancio			
Fatiga y dolor de las articulaciones en rodillas y pies			
Reflujo y acidez			
Hinchazón			
Dolor y calambres en las piernas			
Pérdida de control para orinar			
Es mayor de 54 años			
Fuma			
Perdida de sueño			

Actividad física

	No	Si	Especifique
--	----	----	-------------

¿Realiza algún tipo de deporte?			
¿se activa físicamente por lo menos 30 min Diarios?			
Camina frecuentemente			
¿conoce el plato del buen comer?			

Alimentación

	Si	NO	Especifique
consume pan o tortilla frecuentemente			
consume bebidas azucaradas frecuentemente			
Considera que consume más cereales que frutas y verduras			
Consume frituras			

ANEXO. 3

Riesgo	0		5		10				
Peso	Normal		Sobrepeso		Grados de obesidad				
					I		II		III
IMC*	18.5	24.9	25	29.9	30	34.9	35	39.9	≥40
Estatura	Min.	Máx.	Min.	Máx.	Min.	Máx.	Min.	Máx.	Más de:
1.44	38.4	51.6	51.8	62.0	62.2	72.4	72.6	82.7	82.9
1.46	39.4	53.0	53.3	63.7	63.9	74.4	74.6	85.1	85.3
1.48	40.5	54.5	54.8	65.5	65.7	76.4	76.7	87.4	87.6
1.50	41.6	56.0	56.3	67.3	67.5	78.5	78.8	89.8	90.0
1.52	42.7	57.5	57.8	69.1	69.3	80.6	80.9	92.2	92.4
1.54	43.9	59.1	59.3	70.9	71.1	82.8	83.0	94.6	94.9
1.56	45.0	60.6	60.8	72.8	73.0	84.9	85.2	97.1	97.3
1.58	46.2	62.2	62.4	74.6	74.9	87.1	87.4	99.6	99.9
1.60	47.4	63.7	64.0	76.5	76.8	89.3	89.6	102.1	102.4
1.62	48.6	65.3	65.6	78.5	78.7	91.6	91.9	104.7	105.0
1.64	49.8	67.0	67.2	80.4	80.7	93.9	94.1	107.3	107.6
1.66	51.0	68.6	68.9	82.4	82.7	96.2	96.4	109.9	110.2
1.68	52.2	70.3	70.6	84.4	84.7	98.5	98.8	112.6	112.9
1.70	53.5	72.0	72.3	86.4	86.7	100.9	101.2	115.3	115.6
1.72	54.7	73.7	74.0	88.5	88.8	103.2	103.5	118.0	118.3
1.74	56.0	75.4	75.7	90.5	90.8	105.7	106.0	120.8	121.1
1.76	57.3	77.1	77.4	92.6	92.9	108.1	108.4	123.6	123.9
1.78	58.6	78.9	79.2	94.7	95.1	110.6	110.9	126.4	126.7
1.80	59.9	80.7	81.0	96.9	97.2	113.1	113.4	129.3	129.6
1.82	61.3	82.5	82.8	99.0	99.4	115.6	115.9	132.2	132.5
1.84	62.6	84.3	84.6	101.2	101.6	118.2	118.5	135.1	135.4

*Fuente: World Health Organization. Report of a WHO Consultation Obesity: Preventing and Managing The Global Epidemic. Ginebra, WHO 1997

