

Polimorfismos -188 C/A en el gen *LEP* y K109R en *LEPR* en un grupo de binomios madres-neonatos y su asociación con la ganancia de peso gestacional y la antropometría neonatal

-188 C/A polymorphisms in the *LEP* gene and K109R in *LEPR* in a group of mother-neonatal pairs and their association with gestational weight gain and neonatal anthropometry

Polimorfismos -188 C/A no gene *LEP* e K109R no gene *LEPR* em um grupo de pares mãe-neonato e sua associação com o ganho de peso gestacional e a antropometria neonatal

Iris Paola Guzmán Guzmán ^{1*} ID. 0000-0003-1535-4226

Monzerrath Rodríguez Ríos ¹ ID. 0000-0003-0612-5624

Beatriz Nava Germán ¹ ID. 0009-0009-7446-4813

Sarai Morales Morales ¹ ID. 0000-0003-4640-0889

Adiel Molina Bello ³ ID. 0000-0001-6620-3175

José Francisco Muñoz Valle ² ID. 0000-0002-2272-9260

Isela Parra Rojas ¹ ID. 0000-0002-9213-8263

¹ Universidad Autónoma de Guerrero, Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas. Av. Lázaro Cárdenas s/n. C.U. Zona Sur. CP. 39087. Chilpancingo, Gro. México.

² Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, Jalisco

³ Hospital de la Madre y el Niño Guerrerense, Chilpancingo, Gro. México.

***Autor de correspondencia:** pao_nkiller@yahoo.com.mx

Recibido: 08/01/2015

Revisado: 07/03/2015

Aprobado: 14/05/2015

Publicado. 28/06/2015

Resumen

Genes, factores ambientales y de estilo de vida juegan un papel importante en el desarrollo de la obesidad. La leptina a través de la acción de su receptor regula la ganancia de peso disminuyendo el consumo de alimento y aumentando el gasto energético, además es una hormona importante en el desarrollo embrionario y fetal. El objetivo de este estudio fue determinar la frecuencia genotípica de los polimorfismos -188 C/A en el gen *LEP* y K109R en el gen *LEPR* en madres y sus neonatos y evaluar su relación con la ganancia de peso materno gestacional y parámetros antropométricos en neonatos. Se incluyeron 91 binomios madres-neonatos, originarios del Estado de Guerrero y atendidos en el Hospital de la Madre y el Niño Guerrerense. A todos se les realizó un análisis de composición corporal, la ganancia de peso materno gestacional se clasificó de acuerdo a los criterios del Instituto de Medicina (IOM) de los Estados Unidos. La determinación cuantitativa de leptina y su receptor soluble (sLEPR) fue llevada a cabo por el método de ELISA (Biovendor) a partir de muestras de sangre periférica materna y de cordón umbilical. Los polimorfismos -188 C/A y K109R fueron genotipificados por el método PCR-RFLP. Se encontró que los niveles de leptina materna y en cordón umbilical se relacionan con la ganancia de peso gestacional y la antropometría neonatal, el polimorfismo K109R en el receptor de leptina se asocia con la ganancia de peso gestacional, peso placentario y antropometría neonatal.

Palabras clave: Polimorfismos, peso gestacional, antropometría, madres, neonatos, antropología

Abstract

Genes, environmental factors, and lifestyle play an important role in the development of obesity. Leptin, through the action of its receptor, regulates weight gain by decreasing food intake and increasing energy expenditure; it is also an important hormone in embryonic and fetal development. The objective of this study was to determine the genotypic frequency of the -188 C/A polymorphism in the *LEP* gene and the K109R polymorphism in the *LEPR* gene in mothers and their newborns and to evaluate their relationship with maternal gestational weight gain and anthropometric parameters in newborns. Ninety-one mother-newborn pairs from the state of Guerrero, Guerrero, and attending the Hospital de la Madre y el Niño Guerrerense were included. All participants underwent body composition analysis, and maternal gestational weight gain was classified according to the criteria of the Institute of Medicine (IOM) of the United States. Quantitative determination of leptin and its soluble receptor (sLEPR) was performed using the ELISA method (Biovendor) on maternal peripheral blood and umbilical cord blood samples. The -188 C/A and K109R polymorphisms were genotyped by PCR-RFLP. Maternal and umbilical cord leptin levels were found to be related to gestational weight gain and neonatal anthropometry. The K109R polymorphism in the leptin receptor was associated with gestational weight gain, placental weight, and neonatal anthropometry.

Keywords: Polymorphisms, gestational weight, anthropometry, mothers, neonates, anthropology

Resumo

Genes, fatores ambientais e estilo de vida desempenham um papel importante no desenvolvimento da obesidade. A leptina, por meio da ação de seu receptor, regula o ganho de peso diminuindo a ingestão alimentar e aumentando o gasto energético; ela também é um hormônio importante no desenvolvimento embrionário e fetal. O objetivo deste estudo foi determinar a frequência genotípica do polimorfismo -188 C/A no gene *LEP* e do polimorfismo K109R no gene *LEPR* em mães e seus recém-nascidos e avaliar sua relação com o ganho de peso gestacional materno e parâmetros antropométricos em recém-nascidos. Noventa e um pares mãe-recém-nascido do estado de Guerrero, Guerrero, e atendidos no Hospital de la Madre y el Niño Guerrerense foram incluídos. Todos os participantes foram submetidos à análise de composição corporal, e o ganho de peso gestacional materno foi classificado de acordo com os critérios do Instituto de Medicina (IOM) dos Estados Unidos. A determinação quantitativa da leptina e de seu receptor solúvel (sLEPR) foi realizada pelo método ELISA (Biovendor) em amostras de sangue periférico materno e de sangue do cordão umbilical. Os polimorfismos -188 C/A e K109R foram genotipados por PCR-RFLP. Os níveis de leptina materna e do cordão umbilical mostraram-se relacionados ao ganho de

peso gestacional e à antropometria neonatal. O polimorfismo K109R no receptor de leptina associou-se ao ganho de peso gestacional, ao peso da placenta e à antropometria neonatal.

Palavras-chave: Polimorfismos, peso gestacional, antropometria, mães, neonatos, antropologia

Introducción

La obesidad afecta a la población de todos los estratos sociales y grupos etarios incluyendo población infantil y adulta joven como lo son mujeres en edad reproductiva o embarazadas, en quienes la prevalencia de sobrepeso se ha incrementado más del doble en las últimas 3 décadas (Zonana, Baldenebro-Preciado y Ruiz-Dorado, 2010). Se ha determinado las variaciones genéticas en locus de leptina (*LEP*) y en el receptor de leptina (*LEPR*) pueden jugar un papel importante en la patofisiología de la obesidad humana (Yiannakouris, Yannakoulia, Melistas, Chan, Klimis-Zacas, y Mantzoros, 2001). La leptina juega un papel importante en la regulación del peso corporal, así como en la reproducción y el desarrollo embrionario y fetal, su acción esta mediada por su receptor expresado a nivel hipotalámico y placentario. Diversos estudios han establecido una relación entre la presencia de polimorfismos en un solo nucleótido (SNP) en los genes de leptina y su receptor con los niveles solubles circulantes de las pro-teínas y parámetros antropométricos. En los últimos años, las medidas antropométricas han sido parámetros de interés clínico a valorar en las mujeres embarazadas, con el propósito de llevar un control sobre el metabolismo y la ganancia de peso gestacional (GPG) debido a que se consideran parámetros predictivos de cambios fisiológicos, metabólicos y placentarios que tienen implicaciones directas sobre el desarrollo fetal y predisposición a la ocurrencia de enfermedades cardiometabólicas en la vida posnatal o adulta, mayor morbilidad y prematura mortalidad, así como para evitar complicaciones al momento del parto debido al desarrollo de preeclampsia, diabetes gestacional e incluso macrosomía fetal (Sardiñas, Carvajal-Carrazana y Escalante-Pichardo, 2010; Atalah y Castro, 2004).

Objetivo

Determinar la frecuencia genotípica de los polimorfismos -188 C/A en el gen *LEP* y

K109R en el gen *LEPR* en madres y sus neonatos y evaluar su relación con los niveles séricos de leptina, receptor soluble de leptina, la ganancia

de peso materno gestacional y parámetros antropométricos en neonatos.

polimorfismos en estudio. El análisis estadístico de los resultados se realizó con el software STATA v.9.2.

Material y métodos

En el estudio se incluyeron 91 binomios (mujeres embarazadas con edades entre 20 y 35 años y sus respectivos neonatos), originarios del estado de Guerrero y atendidos en el Hospital de la Madre y el Niño Guerrerense (HMNG), con control prenatal y sin complicaciones durante el embarazo. Todos los procedimientos fueron llevados a cabo de acuerdo a las normas y principios éticos establecidos en la declaración de Helsinki, Seúl, Corea 2008, firma del consentimiento informado por escrito y la aprobación por el comité de ética del HMNG. A todas las madres se les realizó un análisis de composición corporal previo al parto. Para determinar la ganancia de peso se consideró el peso al inicio del embarazo reportado en el expediente clínico. La ganancia de peso materno durante el embarazo se clasificó de acuerdo a los criterios del Instituto de Medicina (IOM) de los Estados Unidos, que establece que para evitar complicaciones, las mujeres con un IMC entre 18.5-24.9 kg/m² al inicio del embarazo podrán ganar un peso no mayor de 18 kg, mujeres con sobrepeso (IMC=25.0-29.9 kg²) un peso de no más de 11.5-16 kg, una mujer con obesidad (IMC≥30.0 kg/m²) deberá ganar un peso de entre 5 y 9 kg. (Atalah and Castro R., 2004). Se realizó una toma de muestra sanguínea para la medición cuantitativa de leptina y su receptor soluble (sLEPR) por el método de ELISA (Biovendor) y la determinación de los polimorfismos -188 C/A y K109R (326G/A) por el método de PCR-RFLP, a los neonatos se les valoró la antropometría corporal, y considerando los criterios de la Asociación Mexicana de Pediatría (AMP) se clasificaron como neonatos con bajo peso (<2.5 kg), peso normal (2.5-3.5 kg) y peso alterado (>3.5 kg).

A partir de una muestra de sangre de cordón umbilical fueron determinados los niveles de leptina y su receptor soluble, así como los

umbilical en comparación con los nacidos con bajo peso (<2.5 kg) ($p=0.06$), por otra parte, de acuerdo al género neonatal, las niñas presentaron significativamente mayores niveles de leptina ($p=0.006$), pero menores niveles de sLEPR ($p=0.03$) en sangre de cordón umbilical (véase tabla 3).

Por otra parte, los genotipos del polimorfismo -188 C/ A en el gen del *LEP* se distribuyeron en la misma proporción entre la población de madres y neonatos; 89 madres y neonatos (97.8%) fueron portadores del genotipo CC, mientras que el 2.2% ($n=2$) portadores del genotipo CA, en este grupo de binomios la variante homocigota AA no fue identificada. Para el polimorfismo K109R (326 G/A), en el grupo de madres, la frecuencia genotípica para GG fue del 14.9%, 56.4% GA y 28.7% genotipo AA. En neonatos el genotipo GG se encontró en el 13.8%, 58.5% GA y 27.7%

AA. Ambos polimorfismos fueron encontrados en equilibrio génico de Hardy-Weinberg.

Los genotipos de ambos polimorfismos no se relacionaron con los niveles de leptina y receptor soluble en sangre periférica materna ni de cordón umbilical. En el análisis

Tabla 2. Características antropométricas y clínicas de los neonatos de acuerdo al género.

<i>Variables</i>	<i>Masculino n=42</i>	<i>Femenino n=49</i>	<i>Valor de p</i>
Parto eutócico	25 (48.08)	27 (51.92)	0.67
Cesárea	19 (45.23)	23 (54.77)	
Peso (kg)	3.1±0.37	3.1±0.33	0.88
Edad gestacional (sem)	39 (37-41.6)	39 (37-41.5)	0.89
Longitud supina (cm)	51 (47-53)	51 (47-53)	0.30
Circunf. cefálica (cm)	34 (32-36)	34 (32-36.5)	0.86
Segmento inferior (cm)	24.5±2.13	25.0±2.17	0.23
Perímetro de tórax (cm)	33 (30-36)	33 (29-36)	0.04
Perímetro abdominal(cm)	31 (29-37.5)	30 (28-34)	0.13
Frec. respiratoria	50 (40-59)	50 (35-60)	0.93
Frec. cardiaca	150 (140-160)	150 (140-160)	0.42
Pie (cm)	8 (7-9)	8 (7-8)	0.05
Placenta (g)	600.5±127.5	604.4±105.1	0.87

Datos proporcionados en medianas (p5-p95). Datos proporcionados en medias ± DE. Prueba de Mann Whitney. IMC: Índice de masa corporal. Frec. : Frecuencia.

sis de asociación, el alelo A del polimorfismo -188C/A se asoció con la presencia de sobrepeso en las mujeres previo al embarazo (p=0.02), debido a la baja frecuencia del alelo A en la población en estudio no fueron posibles otras asociaciones. Sin embargo el genotipo GG del polimorfismo 326G/A (K109R) se encontró asociado aunque no significativamente con la presencia de obesidad previo al embarazo (OR=3.0 (0.4-21.4) p=0.18) y con la repetición de porción de alimento (OR=2.23 (0.5-11.2) p=0.17). Estudios previos han descrito la asociación de la variante G del polimorfismo 326G/A con un estado de resistencia a la leptina, esto es interesante ya que en nuestra población las madres portadoras del alelo A, mostraron una mayor ganancia de peso (OR=1.65 (0.59-4.95) p=0.29), mayor peso placentario (OR=1.04 (0.5-2.2, p=0.9), así como también tuvieron neonatos de mayor peso (OR=2.73 (0.22-144.9) p=0.37), longitud supina (OR= 1.1 (0.38-3.32) p=0.51) y circunferencia cefálica (OR=2.17 (0.37-22.6).

Discusión

Durante el embarazo, la valoración de la ganancia de peso gestacional es considerada un parámetro pronóstico importante de salud a corto y largo plazo de las mujeres en gestación y su descendencia (Forbes y Westwood, 2010), pues una mayor ganancia de peso gestacional se asocia con el desarrollo de anomalías de la glucemia perinatal materna, trastornos hipertensivos, obesidad y secuelas cardiovasculares y metabólicas (Institute of Medicine, 2009). Estos datos, han vinculado a la ganancia de peso gestacional con un mayor crecimiento fetal y por ende obesidad infantil (Herring y Oken, 2010). La leptina es una hormona que regula la homeostasis del peso corporal y el balance energético a través la acción de su receptor a nivel hipotalámico (Sahu, 2011), además participa fundamentalmente en la implantación del blastocito al epitelio endometrial, donde a partir de la cuarta semana de embarazo las vellosidades conformarán una compleja red vascular que con su maduración progresiva formará la placenta. Los niveles de leptina y la expresión de su receptor se mantienen en incremento durante todo el embarazo y la presencia de polimorfismos en los genes de

leptina y su receptor podrían regular su expresión o función favoreciendo un fenotipo de obesidad en el binomio madre-neonato. En este estudio se observó un incremento en los niveles de leptina materna asociado con una mayor ganancia de peso gestacional, así como también los niveles séricos procedentes de cordón umbilical se asociaron con un mayor peso en los neonatos, reflejando el efecto positivo de la leptina sobre el desarrollo fetal. Además los neonatos de género femenino mostraron niveles elevados de leptina en cordón umbilical respecto al género masculino, lo cual puede atribuirse al dimorfismo sexual. Mellati, Mazloomzadeh, Anjomshoaa, Ali-pour, Karimi, Mazloomi, y Naghi Kazemi (2010), sugieren que este incremento en el género femenino puede reflejar la transitoria elevación de hormonas esteroides, debido a que los andrógenos son supresores y los estrógenos promotores de la expresión de leptina (Mellati, 2010), además de que los niveles de leptina pueden estar influenciados por factores genéticos y la edad gestacional.

En este estudio se observó una asociación del alelo A del polimorfismo -188G/A localizado en la región reguladora del gen de leptina con la presencia de sobrepeso al

Tabla 3. Niveles de leptina y receptor soluble de leptina en muestras de sangre materna y cordón umbilical de acuerdo a ganancia de peso, peso y género neonatal.

Ganancia de peso durante el embarazo, criterios IOM				
Leptina materna	<i>Acceptable</i>	<i>Bajo</i>	<i>Excesivo</i>	Valor p
5.60 (2.3-18.5)	5.8 (2.3-19.6)	4.2 (2.0-12.1)	8.2 (3.6-18.5)	0.05
sLEPR materno				
25.1(14.25-47.6)	22.6 (16.8-37.7)	24.0 (13.2-51.3)	25.9 (16.9-39.6)	
Peso del neonato (Asociación mexicana de pediatría)				
Leptina cordón umbilical	<i>Bajo</i>	<i>Normal</i>	<i>Alterado</i>	Valor p
2.17 (0.64-6.04)	0.38 (0.34-0.42)	2.27 (0.7-6.7)	1.95 (1.28-5.0)	0.06
sLEPR cordón umbilical				
13.85 (9.07-23.28)	14.9(11.6-15.21)	13.8(9.3-23.3)	12.9(7.5-23.4)	0.86
Peso de la placenta				
Leptina materna	<i>Bajo</i>	<i>Normal</i>	<i>Excedido</i>	Valor p
5.60 (2.3-18.5)	5.5 (3.4-8.01)	4.9 (2.0-17.7)	9.7 (2.8-19.3)	0.03
sLEPR materno				
25.1 (14.2-47.6)	14.9(11.6-15.21)	13.8(9.3-23.3)	12.9(7.5-23.4)	0.52
Sexo del neonato				
Leptina cordón umbilical	<i>Femenino</i>	<i>Masculino</i>		Valor p
2.17 (0.64-6.04)	2.74 (0.64-6.7)	1.48 (0.42-5.01)		0.006
sLEPR cordón umbilical				
13.85 (9.07-23.28)	12.9 (8.96-19.98)	14.99(9.5-24.3)		0.03

Datos proporcionados en medianas (p5-p95). Datos proporcionados en medias \pm DE. Prueba de Kruskal-Wallis, Mann-Whitney. IOM: Instituto de Medicina de los Estados Unidos de América.

inicio o previo al embarazo, un estudio realizado en obesos mórbidos finlandeses determinó una débil asociación con niveles de leptina en suero, y estudios *in vitro* han revelado ambos alelos tienen actividades promotoras muy similares, lo cual puede explicar la no asociación observada entre los niveles séricos de leptina y los genotipos del polimorfismo -188G/A en nuestra población, considerando además que la variante A se encontró en una muy

baja frecuencia.

Por otra parte en este estudio se observó una asociación aunque no significativa entre el genotipo GG del polimorfismo K109R y el fenotipo de obesidad previo al embarazo, así como con la repetición de porción de comida como hábito alimenticio, este polimorfismo se localiza en la posición 326, dentro exón 4 del receptor de leptina y promueve un cambio conservativo de lisina por arginina en el codón 109 (AAG a AGG) (Gotoda,

Manning, Goldstone, Imrie, Evans, Strosberg, Mckeigue, Scott y Aiman, 1997)., la asociación de estos polimorfismos con la obesidad ha sido valorada en diferentes poblaciones (Liu, Rocha-Sanchez, Liu, Long, Lu y Deng, 2004), la variante G se ha asociado a con un estado de resistencia a la leptina, ya que los portadores de este alelo presentaban un aumento de 10- 20% en los niveles de leptina séricos en comparación con los no portadores (Van Rossum, Hoebbe, Seidell, Bou- chard, Van Baak, De Groot y Chagnon, 2002). En este estudio se encontró una asociación entre de la variante A del polimorfismo 326G/A (K109R) con una mayor ganan- cia de peso gestacional y medidas antropométricas de los neonatos, lo cual puede sugerir ser portador del alelo sil- vestre condiciona una buena respuesta a la leptina produci- da por el tejido adiposo y placenta, regulando positivamen- te de forma endocrina y autocrina el desarrollo embrionario.

Conclusión

Los niveles de leptina materna y en cordón umbilical se relacionan con la ganancia de peso gestacional y la antro- pometría neonatal, además estos hallazgos respaldan la

hipótesis de que el polimorfismo K109R en el receptor de leptina se asocia con obesidad y podría predecir la ganan- cia de peso gestacional, desarrollo placentario y neonatal, mediando un estado de resistencia a leptina a nivel hipota- lámico o bien favoreciendo una respuesta a nivel placenta- rio durante el embarazo.

Agradecimientos

Parte de este trabajo se realizó con el financiamiento otorgado a proyectos en la convocatoria -Propuestas de investigación que impacten los sectores sociales, públicos y privados de la entidad, UAGro 2013-. Oficio No. 141/2013.

Referencias

Atalah, E., y Castro, R. (2004). Maternal obesity and re- productive risk. *Revista Médica Chile*, 923-930.
Forbes, K. y Westwood, M., (2010). Maternal

growth fac- tor regulation of human placental development and fetal growth, *Journal of endocrinology*, 207, 1–16.

- Gotoda, T., Manning B, Goldstone, A., Imrie, H., Evans A., Strosberg A., Mckeigue P., Scott J y Aiman T. (1997). Leptin receptor gene variation and obesity: lack of association in a white British male population. *Human molecular genetics*, 6, 869-876.
- Herring, S.J. y Oken, E., (2010). Ganancia de peso durante el embarazo: Su importancia para el estado de salud ma- terno-infantil. *Anales Nestlé* (Ed. española) 68, 17–28.
- Institute of Medicine (U.S.), (2009). Weight gain during pregnancy: reexamining the guidelines. *National acade- mies press*, Washington, DC.
- Liu, Y., Rocha-Sanchez., Liu, P., Long J., Lu Y. y Deng H., (2004). Tests of linkage and/or association of the LEPR gene polymorfisms with obesity phenotypes in cauca- sian nuclear families. *Physiological genomics*, 17, 101- 106.
- Mellati, A., Mazloomzadeh, S., Anjomshoaa, A., Alipour, M., Karimi, F., Mazloomi, S. y Naghi Kazemi, S.A., (2010). Multiple Correlations Between Cord Blood Lep- tin Concentration and Indices of Neonatal Growth. *Ar- chives of medical research*, 41, 26–32.
- Oksanen L. (1998). Functional analysis of the C(– 188). A polymorphism of the human leptin promoter, *Human genetics*, 103 (4) 527-8.
- Sahu, A. (2011). Intracellular leptin-signaling pathways in hypothalamic neurons: the emerging role of phosphati- dylinositol-3 kinase-phosphodiesterase-3B-cAMP path- way. *Neuroendocrinology* 93,201–210.
- Sardiñas, B. N., Carvajal-Carrazana Y. y Escalante- Pichardo C. (2010). Obesity repercussion on obstetric morbidity. *Revista cubana de obstetricia y ginecología*,1.
- Van Rossum, C., Hoebbe, B., Seidell, J., Bouchard, C., Van Baak, M., De Groot, C. y Chagnon, M. (2002). Genetic factors as predictors of weight gain in young adult Dutch men and Women, *International journal of obesity and related metabolic disorders*, 26, 517-528.

Yiannakouris, N., Yannakoulia, M., Melistas, L., Chan, J. L., Klimis-Zacas, D. y Mantzoros, C. S. (2001). The Q223R Polymorphism of the leptin receptor gene is significantly associated with obesity and predicts a small percentage of body weight and body composition variability. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*.86 (9), 4434-9.

Zonana, N. A., Baldenebro-Preciado R. y Ruiz-Dorado, M.

A. (2010). Effect of gestational weight gain in the mother and newborn, *Salud Publica*, 52.