

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN
PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL



“CORRELACIÓN ENTRE LOS NIVELES DE GH, IGF-1 Y EL TAG SNP rs6214 CON EL ESTADO NUTRICIONAL Y LA COMPOSICIÓN CORPORAL EN ADULTOS QUE CONSUMEN LECHE ENTERA”

TESIS QUE PRESENTA:

M. en C. JULIO CESAR GRIJALVA AVILA

PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTOR EN CIENCIAS EN
BIOTECNOLOGÍA

DIRECTOR DE TESIS

Dr. IGNACIO VILLANUEVA FIERRO

CO-DIRECTOR

Dr. GILDARDO RIVERA SÁNCHEZ

ASESORES

Dr. VERÓNICA LOERA CASTAÑEDA

Dr. ISMAEL ANTONIO LARES ASEF

Dr. ISAÍAS CHAIRES HERNÁNDEZ



Victoria de Durango, Dgo., noviembre 2019.



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

SIP-13-BIS

*ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS
Y DESIGNACIÓN DE DIRECTORES DE TESIS*

México, D.F. a 21 de noviembre del 2019

El Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR-IPN Durango en su sesión Ordinaria No. 3 celebrada el día 01 del mes de marzo conoció la solicitud presentada por el(la) alumno(a):

<u>GRIJALVA</u> <small>Apellido paterno</small>	<u>ÁVILA</u> <small>Apellido materno</small>	<u>JULIO CESAR</u> <small>Nombre (s)</small>							
Con registro: <table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"><tr><td>B</td><td>1</td><td>5</td><td>0</td><td>9</td><td>8</td><td>3</td></tr></table>			B	1	5	0	9	8	3
B	1	5	0	9	8	3			

Aspirante de: Doctorado en Ciencias en Biotecnología

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:
Correlación entre los niveles de GH, IGF-1 y el TAG SNP RS6214 con el estado nutricional y la composición corporal en adultos que consumen leche entera.

De manera general el tema abarcará los siguientes aspectos:

2.- Se designan como Directores de Tesis a los Profesores:
Dr. Ignacio Villanueva Fierro y Dr. Gildardo Rivera Sánchez

3.- El trabajo de investigación base para el desarrollo de la tesis será elaborado por el alumno en:
El CIIDIR-IPN Unidad Durango
que cuenta con los recursos e infraestructura necesarios.

4.- El interesado deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente hasta la aceptación de la tesis por la Comisión Revisora correspondiente:

Directores de Tesis

Dr. Ignacio Villanueva Fierro

Aspirante

M. en C. Julio Cesar Grijalva Avila

Dr. Gildardo Rivera Sánchez

Presidente del Colegio

Dr. Eduardo Sánchez Ortiz



CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACIÓN PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
C.I.I.D.I.R.
UNIDAD DURANGO
I.P.N.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

SIP-14-BIS

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Durango, Dgo. siendo las 14:00 horas del día 19 del mes de noviembre del 2019 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación del: CIIDIR-IPN Unidad Durango para examinar la tesis titulada:
Correlación entre los niveles de GH, IGF-1 y el TAG SNP RS6214 con el estado nutricional y la composición corporal en adultos que consumen leche entera

Presentada por el alumno:

GRIJALVA ÁVILA JULIO CESAR
Apellido paterno Apellido materno Nombre(s)
Con registro:

B	1	5	0	9	8	3
---	---	---	---	---	---	---

DOCTORADO EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Directores de tesis

Dr. Ignacio Villanueva Fierro

Dr. Gildardo Rivera Sánchez

Dra. Verónica Loera Castañeda

Dr. José Ismael Lares Asef

Dr. Isaias Chairez Hernández

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

Dr. Eduardo Sánchez Ortiz





INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de Durango, Dgo., el día **03** del mes de **diciembre** del año **2019** el que suscribe **Julio Cesar Grijalva Avila** alumno del Programa de **Doctorado en Ciencias en Biotecnología**, con número de registro **B150983**, adscrito al **Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango. CIIDIR-IPN Unidad Durango**, manifiesta que es el autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del **Dr. Ignacio Villanueva Fierro** y del **Dr. Gildardo Rivera Sánchez** y cede los derechos del trabajo titulado “**Correlación entre los niveles de GH, IGF-1 y el TAG SNP RS6214 con el estado nutricional y la composición corporal en adultos que consumen leche entera**”, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o directores del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a las siguientes direcciones jcgrijalva69@gmail.com, ifierro62@yahoo.com y giriveras@ipn.mx. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.



JULIO CESAR GRIJALVA AVILA

El presente Trabajo se realizó en los Laboratorios de Biología molecular y en el laboratorio de Farmacogenómica y biomedicina molecular del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Durango del Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR-IPN

DEDICATORIA

A mis padres, por su amor, calidez, trabajo y sacrificio en todos estos años,

A mis hermanos por estar siempre presentes, por el apoyo y cariño.

A mi novia por el apoyo y confianza

A mis asesores por el tiempo y paciencia

A mis amigos por su apoyo y amistad.

A Dios

ÍNDICE GENERAL

Contenido

1	RELACION DE TABLAS.....	9
2	RELACIÓN DE IMÁGENES.....	9
3	GLOSARIO.....	I
4	LISTA DE ABREVIATURAS.....	III
5	RESUMEN.....	V
6	ABSTRACT.....	VI
7	INTRODUCCIÓN.....	1
8	ANTECEDENTES.....	3
8.1	OBESIDAD Y SOBREPESO.....	3
8.1.1	DEFINICIÓN DE OBESIDAD Y SOBREPESO.....	3
8.1.2	CLASIFICACIÓN DE SOBREPESO Y OBESIDAD.....	3
8.1.3	DATOS SOBRE LA OBESIDAD Y SOBREPESO.....	5
8.1.4	ETIOLOGÍA GENÉTICA DE OBESIDAD.....	6
8.1.5	FACTORES DE RIESGO DE LA OBESIDAD.....	8
8.1.6	REGULACIÓN DE LA OBESIDAD.....	10
8.1.7	TIPOS DE OBESIDAD Y DISTRIBUCIÓN DE LA GRASA.....	12
8.1.8	FISIOLOGÍA DEL TEJIDO GRASO.....	13
8.1.9	METABOLISMO DEL TEJIDO ADIPOSO.....	15
8.2	LECHE Y OBESIDAD.....	16
8.2.1	LECHE, PRODUCTOS LÁCTEOS Y ENFERMEDADES CRÓNICAS.....	16
8.3	HORMONA DEL CRECIMIENTO (GH).	17
8.3.1	SECRECIÓN DE LA HORMONA DEL CRECIMIENTO.....	17
8.3.2	RECEPTOR DE LA GH (GH-R).....	19
8.3.3	SEÑALIZACIÓN DE LA GH.....	19
8.3.4	REGULACIÓN DE LA GH.....	20
8.3.5	CIRCUITOS DE FEED-BACK.....	21
8.3.6	IGF-1.....	22
8.4	FACTOR DE CRECIMIENTO SIMILAR A LA INSULINA TIPO 1 (IGF-1).....	22
8.4.1	MECANISMOS DE ACCIÓN.....	22

8.4.2	EFFECTOS DE LA GH Y EL IGF-1.....	25
8.4.3	REGULACION DE LA PRODUCCION DEL IGF-1	26
8.4.4	EFFECTOS DEL IGF-1 EN EL TEJIDO OSEO: ESTUDIOS EN SERES HUMANOS	27
8.5	POLIMORFISMO DE UN SOLO NUCLEÓTIDO (SNP)	27
8.5.1	SNP rs6214 DEL GEN <i>IGF1</i>	29
9	JUSTIFICACIÓN.....	29
10	HIPÓTESIS.....	30
11	OBJETIVO.....	30
11.1	Objetivos específicos.....	30
12	MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
12.1	VARIABLES	31
12.2	DEFINICIÓN DE CASO Y CONTROL.....	34
12.3	UNIVERSO Y POBLACIÓN DE ESTUDIO	35
12.4	TAMAÑO DE MUESTRA	36
12.5	DISEÑO DEL ESTUDIO	36
12.6	POBLACIÓN DE ESTUDIO	37
12.7	MATERIALES Y REACTIVOS.	37
12.8	MÉTODOS.....	37
12.9	EVALUACIÓN DE LA COMPOSICIÓN CORPORAL.....	37
12.10	OBTENCIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE.	37
12.11	ENSAYO DE GENOTIPADO	38
12.12	DETERMINACIÓN DE GH E IGF-1	38
12.13	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	38
13	RESULTADOS	39
13.1	Objetivos 1, 2 y 3.....	39
13.2	RESULTADOS OBJETIVOS 1 Y 4	45
14	DISCUSIÓN.....	50
15	CONCLUSIONES	57
16	BIBLIOGRAFÍA.....	58

1 RELACION DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación del IMC según la OMS e IMC.....	4
Tabla 2.- Variables usadas en la investigación y sus valores	31
Tabla 3.- Criterios de inclusión y exclusión	34
Tabla 4.- Análisis descriptivo de la población.....	40
Tabla 5.- Análisis de comparación de los grupos basados en el consumo de leche.	41
Tabla 6.- Análisis logístico entre los niveles de GH e IGF-1 en relación con la ingesta de leche y la presencia del polimorfismo IGF-1 C> T (rs6214)	42
Tabla 7.- Análisis de correlación bivariadas entre las variables	43
Tabla 8.- Análisis logístico de la asociación entre la obesidad y la composición corporal de los sujetos en relación a GH e IGF-1.....	44
Tabla 9.- Características de la población basada en el consumo de leche.....	47
Tabla 10.- Análisis logístico de la asociación entre obesidad y composición corporal de los sujetos en relación al consume de leche y la presencia del polimorfismo rs6214 IGF-1 C>T	48
Tabla 11.- Análisis de regresión logística multivariada de la obesidad	49

2 RELACIÓN DE IMÁGENES

Imagen 2. Prevalencia de sobrepeso y obesidad en mujeres y hombres mexicanos en el periodo 1988 a 2016 (imagen tomada de https://www.insp.mx/avisos/4884-la-obesidad-mexico.html)	6
Imagen 3. Productos de secreción del tejido adiposo (adipoquinas) (imagen tomada de https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0716864012702900) (35)	15
Imagen 4. Localización de los genes de GH (46).....	18
Imagen 5. Mecanismos de traducción de la señal por el receptor de GH (46).....	20
Imagen 6. Mecanismo de acción del IGF-1	24

3 GLOSARIO

ADN. Ácido nucleico que contiene la información genética usada en el desarrollo y funcionamiento de los organismo vivos.

ADN Genómico. ADN cromosómico nuclear que ha sido aislado directamente de las células o tejidos.

Alelo. Es cada una de las formas alternativas que puede tener un gen que se diferencia en su secuencia y que se puede manifestar en modificaciones concretas de la función de ese gen.

Amplificación. Aumento e número de copias de un gen mediante la reacción en cadena de la polimerasa.

Gen. Secuencia lineal organizada de nucleótidos en la molécula de ADN, que contiene información necesaria para la síntesis de una macromolécula con función celular específica.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Técnica para amplificar un segmento específico de ADN usando una ADN polimerasa termoestable, desoxirribonucleótidos y oligonucleótidos (“primers”) complementarios a secuencias que flanquean al segmento de ADN que se desea amplificar.

Fenotipo. Cualquier característica o rasgo observable de un organismo, como su morfología, desarrollo, propiedades bioquímicas, fisiología y comportamiento.

Loci. Lugar específico del cromosoma donde está localizado un gen u otra secuencia de ADN.

Polimorfismo genético. Variación en la secuencia de un lugar determinado del ADN entre los individuos de una población.

Ritmo circadiano. Ritmo biológico de aproximadamente 24 horas necesario en la mayoría de las funciones de los sistemas vivos.

Síndrome de hipoventilación. Es una enfermedad respiratoria de las personas obesas que causa niveles bajos de oxígeno y demasiado dióxido de carbono en la sangre

Apnea obstructiva. Es un trastorno del sueño potencialmente grave. Hace que la respiración se detenga y se reanude repetidamente durante el sueño.

Acromegalia. Enfermedad crónica, causada por una lesión de la glándula pituitaria, que se caracteriza por un aumento de tamaño de las manos, de los pies, de las mandíbulas y de la nariz.

Síndrome de Laron. Es una enfermedad congénita caracterizada por una marcada baja estatura, asociada a niveles normales o elevados de hormona del crecimiento (GH) en el suero, y niveles bajos de IGF-1 (insulin-like growth factor-1) que no aumentan tras la administración de GH exógena.

Polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) (Single Nucleotide Polymorphism). Es una variación en la secuencia de ADN que afecta a una sola base (adenina, timina, citosina o guanina) de una secuencia del genoma.

ARN. Ácido nucleico que participa en la síntesis de las proteínas y realiza la función de mensajero de la información genética.

Sistema endocrino. Es el conjunto de órganos y tejidos del organismo, que segregan un tipo de sustancias llamadas hormonas, las cuales son liberadas al torrente sanguíneo y regulan algunas de las funciones del cuerpo.

Lipogénesis. Es la reacción bioquímica por la cual son sintetizados los ácidos grasos de cadena larga esterificados (unidos con el glicerol) para formar triglicéridos o grasas de reserva.

Lipólisis. Es el proceso catabólico que permite la movilización de lípidos que constituyen la reserva de combustible en el tejido adiposo hacia los tejidos periféricos para cubrir las necesidades energéticas del organismo. Mediante la lipólisis los triglicéridos son hidrolizados liberando ácidos grasos y glicerol.

Quilomicrones. Son lipoproteínas que tienen la función de transportar los lípidos procedentes de la dieta hasta el hígado y otros tejidos.

Lipometabolismo. Procesos químicos relacionados con la síntesis y degradación de moléculas grasas.

4 LISTA DE ABREVIATURAS

UTR	Región no traducida (untranslated región)
IGF-1	Factor de crecimiento insulínico tipo 1
GH	Hormona del crecimiento
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido
ELISA	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
SS	Somastostatina
GHRH	Hormona liberadora de hormona de crecimiento
GHBP	Proteína transportadora de GH
SOCS	Supresor de la señalización de citosinas
ALS	subunidad ácido-lábil
ATP	Adenosín trifosfato
DRGH	Déficit del receptor de la hormona de crecimiento
DMO	Densidad mineral ósea
IMC	Índice de masa corporal
kD	Kilo Dalton
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PPAR- γ	Proliferadores de peroxisomas- γ
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
LDL	Lipoproteína de baja densidad
ECV	Enfermedades cardiovasculares
JAK	Janus Kinase
MAPK	Proteína quinasas activadas por mitógenos
STAT	Trasductores de la señal y activadores de la transcripción

NO	Óxido Nítrico
GABA	Ácido gamma-aminobutírico
SMC	Somatomedina-C
FOXO	Forkhead box transcription factors
DTAB	Dodecil trimetil amonio
CTAB	Bromuro de hexadeciltrimetilamonio
NaCl.	Cloruro de sodio
ELISA	Enzyme-Linked-Inmunoabsorbent Assay

5 RESUMEN

México ocupa el segundo lugar en obesidad en adultos y el cuarto en consumo de leche en todo el mundo. El consumo de productos lácteos se ha relacionado con un índice de masa corporal (IMC) dentro del rango normal (18-24.9). El exceso de tejido graso puede ocasionar problemas clínicos debido a trastornos en la regulación y la secreción, de diferentes hormonas, como la hiposecreción de la GH. GH es responsable de la expresión de la IGF-1, existe evidencia de que la ingesta de leche está relacionada con el aumento de los niveles circulantes de IGF-1 en los seres humanos. Si bien la nutrición se considera como un factor clave en los niveles de IGF-1, la mayor variación depende de factores hereditarios. En el gen *IGF1* se ha reportado una serie de polimorfismos de un solo nucleótido como el rs6214, el cual se ha asociado con niveles séricos elevados de IGF-1, sin embargo no se ha asociado este polimorfismo con el IMC por lo que el objetivo del estudio fue determinar la asociación entre los niveles de GH, IGF-1 y el polimorfismo rs6214 del gen *IGF1* con el estado nutricional y la composición corporal en adultos que consumen leche. Analizamos 110 voluntarios adultos, con y sin antecedentes de ingesta de leche, la presencia del polimorfismo se realizó a través de qPCR, la composición corporal fue realizada por electro-bioimpedancia, la determinación de GH e IGF-1 se realizó por la técnica de ELISA. Los análisis de regresión logística univariada mostraron que el genotipo TT está inversamente asociado con la obesidad y la masa grasa corporal. Además, la ingesta de leche también está relacionada con bajos niveles de IMC, masa grasa corporal y grasa visceral, y alto porcentaje de masa magra. Los análisis de regresión logística multivariada confirman las relaciones univariadas, mostrando una clara asociación invertida entre el genotipo TT, la ingesta de leche y la obesidad. El análisis logístico univariado mostro que la presencia del alelo mutado T se relaciona directamente con los niveles elevados de IGF-1. Así como también el consumo de leche se asoció directamente con los niveles elevados de IGF-1. No se observó relación de la GH con ninguna de las variables de composición corporal ni obesidad, sin embargo el IGF-1 muestra una asociación directa con la masa magra.

6 ABSTRACT

Mexico ranks second in adult obesity and fourth in milk consumption worldwide. The consumption of dairy products has been related to a body mass index (BMI) within the normal range (18-24.9). Excess fatty tissue can cause clinical problems due to disorders in the regulation and secretion of different hormones, such as hyposcretion of GH. GH is responsible for the expression of IGF-1, there is evidence that milk intake is related to the increase in circulating levels of IGF-1 in humans. While nutrition is considered a key factor in IGF-1 levels, the greatest variation depends on hereditary factors. In the IGF1 gene, a series of single nucleotide polymorphisms such as rs6214 has been reported, which has been associated with elevated serum levels of IGF-1, however this polymorphism has not been associated with BMI. The study was to determine the association between the levels of GH, IGF-1 and the rs6214 polymorphism of the IGF1 gene with nutritional status and body composition in adults who consume milk. We analyzed 110 adult volunteers, with and without a history of milk intake, the presence of polymorphism was performed through qPCR, the body composition was performed by electro-bioimpedance, the determination of GH and IGF-1 was performed by the ELISA technique . Univariate logistic regression analyzes showed that the TT genotype is inversely associated with obesity and body fat mass. In addition, milk intake is also related to low levels of BMI, body fat mass and visceral fat, and high percentage of lean mass. Multivariate logistic regression analyzes confirm univariate relationships, showing a clear inverted association between the TT genotype, milk intake and obesity. Univariate logistic analysis showed that the presence of the mutated T allele is directly related to elevated levels of IGF-1. As well as milk consumption was directly associated with elevated levels of IGF-1. No relation of GH was observed with any of the variables of body composition or obesity, however IGF-1 shows a direct association with lean mass.

7 INTRODUCCIÓN

El sobrepeso y la obesidad han sido definidos como una acumulación anormal o excesiva de grasa en el cuerpo, la cual puede ser perjudicial para la salud, considerada una enfermedad crónica degenerativa. La causa fundamental es un desequilibrio energético entre las calorías consumidas y gastadas. El sobrepeso y la obesidad son el quinto factor principal de riesgo de defunción humana en el mundo. Cada año fallecen por lo menos 2,8 millones de personas adultas. México es uno de los cinco países de Latinoamérica con la prevalencia más alta de sobrepeso, junto con Argentina, Paraguay, Barbados y Belice.

México se encuentra entre los primeros países consumidores de productos lácteos a nivel mundial. El consumo de leche ha disminuido en los niños en los últimos años. Esto puede desempeñar un papel en la prevalencia de la obesidad infantil, porque los estudios clínicos han encontrado un efecto beneficioso del consumo de leche para el control de peso. El consumo de productos lácteos se ha relacionado con un índice de masa corporal (IMC) dentro del rango normal (18-24.9) así como un nivel menor en grasa corporal y grasa del tronco a comparación de personas que llevaban una dieta libre de lácteos. El consumo de leche se ha asociado con niveles elevados de IGF-1 en plasma. Se han reportado concentraciones de IGF-1 en leche entera pasteurizada que van desde el rango de 1.0 a 83 ng/mL (1) y de 32 a 2,000 ng/mL en calostro de leche de vaca; en leche descremada y semi-descremada los niveles de IGF-1 son menores.

El factor de crecimiento insulínico tipo 1, o IGF-1 (insulin-like growth factor-1) es un polipéptido de 70 aminoácidos el cual juega un papel importante en el crecimiento infantil (los mayores niveles se producen en la pubertad, los menores en la infancia y la vejez), en el adulto continúa teniendo efectos anabolizantes, los seres humanos producen aproximadamente 30 mg de IGF-1 al día hasta cumplir 30 años y desde este momento la producción decrece con la edad. Los principales órganos sintetizadores del IGF-1 son hígado, corazón, pulmón, riñón, páncreas, bazo, intestino delgado, testículo, ovarios, intestino grueso, cerebro, médula ósea e hipófisis, aunque se han encontrado fuentes externas que pueden propiciar la

producción del IGF-1 como es la leche de vaca. El IGF-1 presenta una elevada dependencia de la hormona del crecimiento (GH) ya que la producción es estimulada por esta. La falta de sensibilidad a la hormona del crecimiento o la falta de receptores de la hormona del crecimiento provoca la deficiencia de la GH o IGF-1, lo que resulta en una estatura disminuida de los infantes. El ayuno y el estrés agudo estimulan la secreción de GH; mientras que la sobrealimentación la inhibe, sugiriendo un papel predominante de la GH en los estados de pos absorción o de ayuno. La exposición a la GH provoca un aumento en los niveles de ácidos grasos libres, IGF-1, insulina y glucosa.

En el gen *IGF1* se ha reportado una serie de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP's), Como lo sugiere el acrónimo, un SNP (polimorfismo de un solo nucleótido) es solo un cambio de una sola base en una secuencia de ADN, con una alternativa habitual de dos posibles nucleótidos en una posición determinada. Alrededor del 93% de todos los genes contienen al menos un SNP, las consecuencias funcionales de los SNP causan cambios en los aminoácidos, la estabilidad de la transcripción del ARNm y la afinidad de unión al factor de transcripción. Uno de los polimorfismos importantes es el polimorfismo rs6214 el cual produce un cambio de base de una citosina por una timina la cual se presenta en población de los ángeles estados unidos con descendencia mexicana con una prevalencia de cambio de citosina del 0.5938 mientras que la prevalencia de la timina es de 0.4063. Investigaciones han relacionado el polimorfismo rs6214 con aumento en las concentraciones de *IGF1*, así como la expresión de ARNm del gen *IGF1*, así como también se ha relacionado con miopía y con diferentes tipos de cáncer. Rzehak *et. al.* analizaron las variaciones en el gen del *IGF1* en personas que consumen leche, encontrando asociación entre los niveles de *IGF1* y el estado corporal de infantes menores de seis meses con los SNP rs6214, rs1520220, rs978458, rs2195239.

8 ANTECEDENTES

8.1 OBESIDAD Y SOBREPESO

8.1.1 DEFINICIÓN DE OBESIDAD Y SOBREPESO

El sobrepeso y la obesidad han sido definidos como una acumulación anormal o excesiva de grasa en el cuerpo, la cual puede ser perjudicial para la salud, considerada una enfermedad crónica degenerativa. La causa fundamental del sobrepeso y la obesidad es un desequilibrio energético entre calorías consumidas y calorías gastadas (2). El sobrepeso y la obesidad son el quinto factor principal de riesgo de defunción humana en el mundo. Cada año fallecen por lo menos 2,8 millones de personas adultas como consecuencia del sobrepeso o la obesidad(3). La presencia de sobrepeso u obesidad son un factor importante de riesgo de enfermedades no transmisibles como, enfermedades cardiovasculares (principalmente cardiopatías y accidentes cerebrovasculares, la diabetes, trastornos de aparato locomotor (osteoartritis) y algunos tipos de cáncer (endometrio, mama, ovarios, próstata, hígado, vesícula biliar, riñones y colon), en infantes obesos se asocia con una muerte prematura, dificultades respiratorias, mayor riesgo de fracturas e hipertensión, además, el riesgo de contraer estas enfermedades no transmisibles crece con el aumento de sobrepeso u obesidad (2).

8.1.2 CLASIFICACIÓN DE SOBREPESO Y OBESIDAD

La clasificación actual de obesidad propuesta por la OMS está basada en el Índice de Masa Corporal (IMC), el cual corresponde a una relación entre el peso (Kg) y su talla al cuadrado expresada en metros (Kg/m^2) (2). Por lo que personas las cuales el cálculo de su IMC sea igual o superior a $25 \text{ kg}/\text{m}^2$ es una persona con sobrepeso y un IMC igual o mayor a $30 \text{ kg}/\text{m}^2$ es considerada una persona con obesidad (Tabla1).

Tabla 1. Clasificación del sobrepeso y la obesidad de acuerdo al IMC según la OMS.

Clasificación	Fuente	
	OMS *IMC (Kg/m ²)	NOM *IMC (Kg/m ²)
Insuficiencia ponderal	<18.5	<18.5
Normo peso	18.5-24.9	18.5-24.9
sobrepeso	≥25.0	25.0-29.9
Pre obeso	25.0-29.9	≥30
Obesidad grado I/moderada	30.0-34.9	≥30
Obesidad grado II/severa	35.0-39.9	≥30
Obesidad grado III/mórbida	≥40.0	≥30

*IMC = Índice de Masa Corporal

De acuerdo a la definición de obesidad, las personas que tienen obesidad también tienen un exceso de grasa corporal. Por lo que se considera que un hombre adulto presenta un contenido de grasa corporal en un rango del 15 al 20% de peso corporal y las mujeres entre un 25 al 30% del peso corporal total. De acuerdo a esto la estimación del porcentaje de grasa en adultos se realiza por medio de la ecuación de Deurenberg basada en el IMC, la edad y el sexo (4).

Ecuación de Deurenberg para la estimación de grasa corporal:

$$\% \text{ grasa corporal} = 1.2(IMC) + 0.23(edad) - 10.8(sexo) - 5.4$$

Siendo: sexo=1 para hombres y 0 para mujeres.

8.1.3 DATOS SOBRE LA OBESIDAD Y SOBREPESO

En el mundo, cerca de 1400 millones de adultos tienen sobrepeso y 500 millones obesidad (5). En 1975 había menos de un 1% de niños y adolescentes de 5 a 19 años con obesidad, en 2016 fueron 124 millones, cerca de un 6% en niñas y un 8% en niños es decir que la prevalencia de obesidad a nivel mundial se ha triplicado entre los años de 1975 a 2016. En general el 13 % de la población mundial eran obesos En el año de 2016, más de 1900 millones de adultos de 18 años o más tenían sobrepeso u obesidad, de los cuales 650 millones eran obesos, de los cuales el 39% eran hombres y el 40% mujeres adultos (6). México es uno de los cinco países de Latinoamérica con la prevalencia más alta de sobrepeso (9.0%) en niños menores de cinco años, junto con argentina (9.9%), Paraguay (11.7%), barbados (12%) y Belice (13.7%). En niños menores de cinco años, México es el país con la prevalencia más alta de sobrepeso en Latinoamérica (43.9%) (7). Entre los hombres menores de 20 años de los países de Iberoamérica, la prevalencia más alta de obesidad (ajustada por edad), es la de Chile (11.9%), México (10.5%) y Uruguay (9.7%). En las mujeres de 20 años y más, la prevalencia más alta se encuentra en Belice (42.7%), El Salvador (33.0%) y México (32.7%)(8). Esta prevalencia en niños y adultos mexicanos se ha incrementado en las últimas tres décadas (9).

La mayor prevalencia en México en las últimas tres décadas ha sido asociada al aumento de la incidencia de diabetes (10), ya que esta aumento de un 6.7% en 1993 a un 12.9% en 2016. En 2015 la diabetes fue la causante de más de 62 000 muertes y 7.7% del total de los años perdidos de la población mexicana (11). La obesidad se ha relacionado con la hipertensión arterial, la cual se ha relacionado con problemas de riñones, cerebro y pulmones (9).

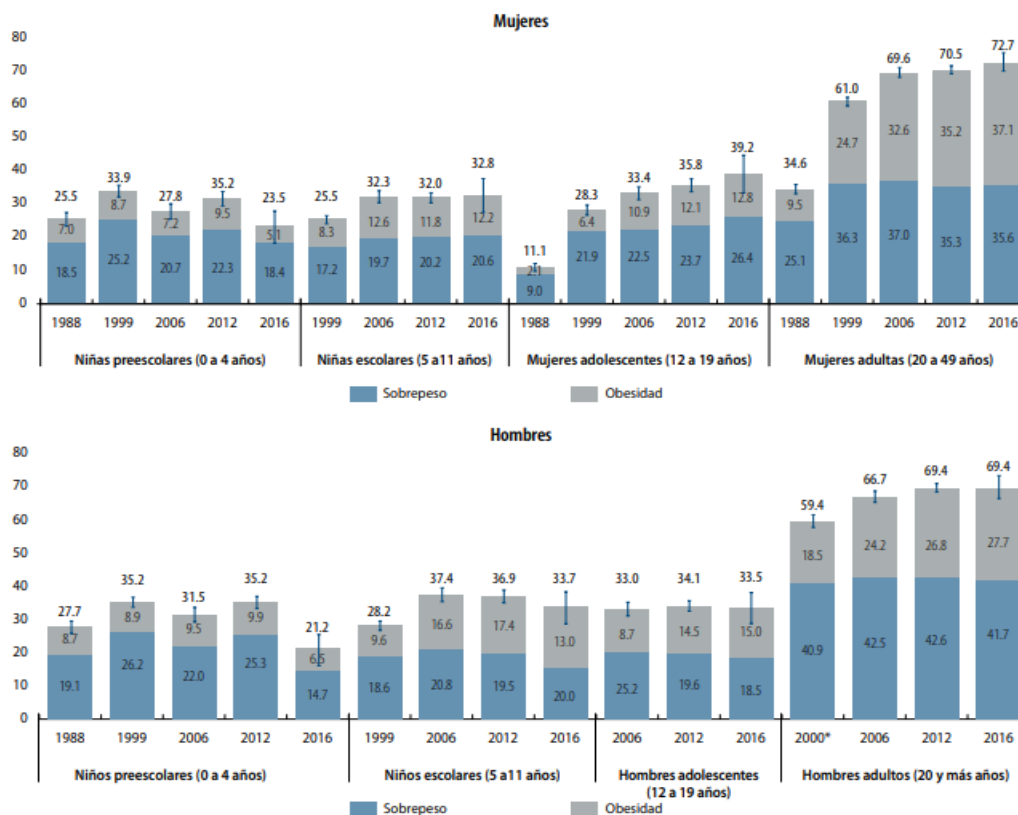


Imagen 1.- Prevalencia de sobrepeso y obesidad en mujeres y hombres mexicanos en el periodo 1988 a 2016 (imagen tomada de <https://www.insp.mx/avisos/4884-la-obesidad-mexico.html>)

8.1.4 ETIOLOGÍA GENÉTICA DE OBESIDAD

Para que una persona aumente su grasa corporal y se clasifique dentro de los parámetros de sobrepeso u obesidad es necesario que tenga o haya tenido un balance calórico positivo elevado, lo cual es debido al aumento de ingesta alimentaria y a la disminución del gasto calórico. Estos factores pueden ser influidos por factores genéticos, ambientales y de patologías asociadas (12).

Los factores genéticos en la predisposición a la obesidad están bien establecidos y se ha demostrado mediante diferentes estudios, que el porcentaje de heredabilidad en la obesidad varía de un 25 a un 40%, pero solamente el 5% de los casos de obesidad en infantes es debido a factores no ambientales (12).

El número de genes y otros marcadores cromosómicos asociados a uno o más rasgos fenotípicos de la obesidad va en aumento, existen cerca de 135 genes candidatos, entre los que destacan el gen receptor activado por proliferadores de peroxisomas- γ (PPAR- γ), el gen de los receptores beta adrenérgicos, el gen de la Leptina y su receptor, el gen de la adiponectina, el del receptor de hidroxitriptamina y el gen FTO (Fat Mass and obesity associated) (12). Dentro de los genes más importantes que pueden efectuar modificaciones son:

8.1.4.1 LEPTINA

Esta es una hormona producida por los adipocitos cuya función es suprimir el apetito mediante la regulación del balance energético. La deficiencia congénita de leptina se ha asociado a obesidad severa y de temprano desarrollo, además de que la presencia de mutaciones en el receptor de leptina puede favorecer a la insensibilidad a la leptina, hiperfagia, trastornos metabólicos, obesidad mórbida y alteraciones neuroendocrinas (13).

8.1.4.2 MASA GRASA Y OBESIDAD ASOCIADA (FTO)

Los polimorfismos presentes en el gen FTO se asocian a obesidad temprana en niños y severa en adultos. Las variaciones en el primer intrón se asocian al IMC y la presencia de un alelo de riesgo se asocia a un incremento de peso (13).

8.1.4.1 APOLIPOPROTEINAS

El gen APOA5 participa en las funciones de metabolismo de triglicéridos, una mutación en este gen se asocia al riesgo de obesidad, aumentando su IMC. El gen APOA2 mediante interacciones con proteínas transportadoras de lípidos, lipasas y receptores de HDL regula los niveles de colesterol, la mutación en este gen se asocia a riesgo de desarrollar obesidad (13).

8.1.4.2 GENES CLOCK

Los genes *clock* son un conjunto de genes que marcan los ritmos circadianos de distintas moléculas, regulando la biología de los adipocitos y las sensaciones de hambre-saciedad, influyendo en el grado de obesidad. La metilación en los genes CLOCK se ha asociado con adiposidad, IMC, y gasto energético. las mutaciones en

estos genes se relacionan con un mayor nivel de masa grasa, un menor número de horas sueño un mayor grado de obesidad y un incremento en la ingesta de alimentos (13).

8.1.4.3 GH/IGF-1

En la obesidad hay una disminución en la secreción de GH. Tanto en niños como en adultos, a mayor índice de masa corporal, menor respuesta secretora de GH ante diferentes estímulos secretores (14). Se ha visto que por cada unidad que aumente el IMC a una determinada edad se disminuye la secreción de GH hasta en un 6%. Aparentemente todos los defectos en el eje GH/IGF-1 en la obesidad son reversibles con la pérdida de peso, bien inducida por la dieta, bien a través de cirugía (15).

Para el diagnóstico del déficit de GH del adulto se necesitan test de estímulo. La hipoglucemia insulínica (ITT) es el test de elección para el diagnóstico del GHD del adulto (16).

La obesidad es probablemente el mayor factor de confusión para el diagnóstico del déficit de GH del adulto, se sabe que la alteración en la secreción de GH en la obesidad es paralela a las alteraciones en la composición corporal como aumento de la grasa visceral, disminución de masa magra y de densidad mineral ósea (16).

8.1.5 FACTORES DE RIESGO DE LA OBESIDAD

Se considera a la obesidad como un factor de riesgo de muchas enfermedades no transmisibles, tales como enfermedades cardiovasculares, la diabetes mellitus tipo 2, los trastornos del aparato locomotor, y algunos cánceres (endometrio, mama y colon), el riesgo de contraer estas enfermedades no transmisibles aumenta con el mayor grado de obesidad (17). Las cuales pueden reducir la expectativa de vida en sujetos obesos o con sobrepeso. Las enfermedades asociadas con la obesidad pueden surgir de dos posibles mecanismos: de los cambios metabólicos asociados al exceso de grasa o del incremento de masa grasa (18).

La obesidad de tipo central puede llevar a un desequilibrio en la producción de varios productos metabólicos, hormonas y citoquinas (adipocitoquinas). Estos productos incluyen a la leptina, adiponectina, ácidos grasos libres (FFA), factor de necrosis

tumoral- α (TNF- α), e interleucina 6(IL 6) (19), causando una serie de problemas clínicos, los más relevantes son:

8.1.5.1 RESISTENCIA A LA INSULINA Y DIABETES MELLITUS TIPO

2

La relación entre la obesidad y la resistencia a la insulina afecta a todos los grupos étnicos y de todos los rangos de peso corporal. La insulina fomenta la diferenciación de preadipocitos a adipocitos, estimula la lipogénesis e inhibe la lipólisis (20).

Los depósitos de grasa intraabdominal están mucho más vinculados a la resistencia a la insulina que los depósitos de grasa subcutáneos, por lo que los sujetos con una distribución central de grasa tienen una mayor probabilidad a ser propensos a la resistencia a la insulina (18).

La obesidad es acompañada por la producción de algunas citoquinas que disminuyen la sensibilidad a la insulina en el hígado y el músculo esquelético (18). El TNF- α tiene efectos pancreáticos en las células adiposas y reduce la acción de la insulina en el músculo esquelético (21). Los ácidos grasos libres (FFA) incrementan la resistencia a la insulina en el hígado, a través de mecanismos que afectan la cascada de señalización intracelular de insulina (22).

8.1.5.2 DISLIPEMIA

La dislipemia son una serie de diversas condiciones patológicas cuyo único elemento común es una alteración del metabolismo de los lípidos. La obesidad asociada a la dislipemia juega un papel crucial en el desarrollo de la aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares en sujetos obesos. La obesidad, principalmente de distribución de grasa central está asociada al incremento de triglicéridos en plasma y a la disminución de colesterol HDL, en sujetos obesos se ha encontrado concentraciones de LDL mayores que en sujetos de peso normal (23).

La dislipemia asociada a la obesidad (niveles altos de glucemia, concentraciones bajas de HDL y partículas de LDL densas y pequeñas) está relacionada con la resistencia a la insulina. La presencia de obesidad abdominal está más correlacionada con los factores de riesgo metabólico que un IMC elevado (23).

8.1.5.3 ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

El riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares ha incrementado en sujetos obesos, siendo más propenso de padecer esta enfermedad si se tiene obesidad abdominal o de tipo central, a comparación de los que presentaban obesidad de tipo periférico. Las enfermedades cardiovasculares más importantes relacionadas con la obesidad son: accidentes cerebrovasculares, enfermedades del corazón e hipertensión (18).

8.1.5.4 SISTEMA LOCOMOTOR

La obesidad reduce la flexibilidad y la movilidad principalmente en mujeres, produciendo osteoartritis y problemas de articulaciones. Se ha demostrado que mujeres con un IMC entre 30-35 kg/m² tienen cuatro veces más riesgo de padecer artritis que mujeres que tienen IMC debajo de 25 Kg/m² (24).

8.1.5.5 ENFERMEDADES RESPIRATORIAS

La apnea obstructiva de sueño y el síndrome de hipoventilación son las dos enfermedades respiratorias más comunes en personas que padecen obesidad (18). La principal causa de la apnea obstructiva de sueño está relacionada con las características anatómicas y funcionales de las estructuras musculares faríngeas y con la actividad del estado del sistema nervioso central, debido a que las personas obesas tienen un estrechamiento de la vía aérea superior debido a un agrandamiento de los tejidos blandos extrínsecos debido a los depósitos de grasa en el área orofaríngea posterolateral (18). La severidad de la apnea obstructiva de sueño se define por el índice de apnea-hipopnea por hora. La presencia de la apnea obstructiva de sueño es más frecuente en hombres (25%-58%) que en mujeres (10%-37%) (25).

8.1.6 REGULACIÓN DE LA OBESIDAD

La verificación de que la obesidad severa en humanos puede resultar de mutaciones en los loci *ob*, *db* y *MC4R*, donde estos representan del 4 al 5% de los casos graves, indican la importancia de estos, sin embargo, la rareza de estas mutaciones evidencia el hecho que la mayoría de la obesidad es poligénica y no mendeliana. Por lo que es evidente que muchos de estos genes confieren susceptibilidad a factores

ambientales, como la disponibilidad de alimentos, la respuesta al ejercicio o la falta a este (26).

Las vías bioquímicas y los factores que regulan el metabolismo y la composición corporal son de vital importancia para poder comprender los mecanismos por medio del cual se presenta la obesidad. Dentro de las causas que pueden influir y regular la presencia de obesidad se encuentran:

8.1.6.1 SISTEMA NERVIOSO CENTRAL (SNC)

El sistema nervioso central influye en el balance energético y el peso corporal a través de tres mecanismos, los cuales son, efectos en el comportamiento incluida la alimentación y la actividad física, efectos en la actividad del sistema nervioso autónomo, y los efectos en el sistema neuroendroquino, incluida la secreción de hormonas como la hormona del crecimiento, la tiroides, el cortisol, la insulina y los esteroides sexuales (26).

El sistema nervioso central regula la ingesta calórica y la sensación de satisfacción o plenitud después de una comida. Esta regulación depende de las entradas neuronales y endocrinas que se pueden dividir en sistemas de control a corto y largo plazo (27). El control a corto plazo implica la iniciación y terminación de las comidas (26). La liberación de colecistoquinina (CCK) en combinación con la señalización neural en respuesta a la distensión intestinal es una señal de saciedad y desencadena el final de la alimentación (26).

8.1.6.2 HIPOTÁLAMO

El hipotálamo es una región del cerebro crítica para la regulación de procesos homeostáticos como la alimentación, la termorregulación y la reproducción (26). El hipotálamo recibe señales neuronales, endocrinas y metabólicas, integra estas entradas e involucra distintas vías efectoras, lo que da como resultado respuestas conductuales, autónomas y endocrinas (26). El papel del hipotálamo en el control central del apetito y la saciedad se determinó debido a estudios de lesiones en donde las lesiones en el hipotálamo ventromedial causan obesidad, mientras que las lesiones en el hipotálamo lateral causan delgadez (28). Los neuropéptidos

hipotalámicos como el neuropéptido Y (NPY) se expresa amplia y abundantemente en el sistema nervioso, además de que el NPY aumenta de forma robusta y rápida la alimentación y suprime el gasto de energía, y por lo tanto promueve la obesidad (29).

8.1.6.3 ABSORCIÓN DE NUTRIENTES

Las señales del intestino emitidas postprandialmente son importantes no solo para la regulación de ingesta de alimentos, sino también para la digestión y la absorción de nutrientes (27). Algunos de los factores más importantes que regulan la señalización y la digestión son, la ghrelina, la colecistoquinina (CCK), el péptido YY, los péptidos 1 y 2 de tipo glucagón, el péptido inhibidor gástrico y el factor de liberación de corticotropina regulan tanto la señalización como la digestión (30).

8.1.6.4 GASTO ENERGÉTICO

La mayor contribución al gasto energético obligatorio es la tasa metabólica basal (TMB), que se define como el gasto energético en reposo a la termoneutralidad en el estado no financiado (31). La tasa metabólica basal incluye el recambio celular, la reparación y las funciones básicas, reacciones sintéticas basales y fuga de protones mitocondriales, también incluye la termogénesis obligatoria (31, 32).

8.1.7 TIPOS DE OBESIDAD Y DISTRIBUCIÓN DE LA GRASA

La obesidad puede clasificarse de diferentes formas. En función de la celularidad del tejido adiposo:

Hiperplásica: Caracterizada por el aumento del número de células adiposas.

Hipertrófica: Caracterizada por el aumento de adipocitos.

En función de la localización de la grasa corporal:

Androide, central o abdominal: cuando el exceso de grasa se distribuye preferentemente en la cara, la cabeza, el tórax y el abdomen. Está ligado a complicaciones metabólicas.

Ginoide o periférica: Se caracteriza por una acumulación de grasa a nivel de las caderas, muslos y glúteos. Este tipo está más relacionado con problemas de retorno venoso en las extremidades inferiores y con artrosis de rodilla.

De distribución homogénea o global: es aquella en la que el exceso de grasa es generalizado y no predomina en ninguna parte del cuerpo.

En función de la etiología:

Primaria: cuya causa es un desequilibrio entre la ingesta de alimentos y el gasto energético.

Secundaria: deriva de determinadas enfermedades cuyo origen puede ser:

Genético: causada por anomalías cromosómicas o por interacción de diferentes polimorfismos genéticos.

Endocrino: ovario poliquístico, hiperinsulinemia, hiperfunción suprarrenal, hipotiroidismo.

Hipotalámico: poco frecuente en humanos y asociada a tumores, cirugía, traumatismos.

Derivada de la utilización de determinados fármacos (glucocorticoides, insulina, antidepresivos tricíclicos, estrógenos).

En función de la historia evolutiva:

Desarrolla desde la niñez, a lo largo de toda la vida o en la vida adulta (33).

8.1.8 FISIOLÓGÍA DEL TEJIDO GRASO

El tejido adiposo está constituido por adipocitos y el tejido intercelular. Los adipocitos están adaptados para almacenar ácidos grasos en forma de triglicéridos reunidos en una gota citoplásmica única (34).

El adipocito es una célula altamente diferenciada que realiza tres funciones: almacén, liberación de energía y endócrina así como la de informar al SNC la

cantidad de calorías que está almacenando. Este tiene su origen de un precursor mesenquimatoso multipotencial que se diferencia primero del adipoblasto, después en preadipocito y finalmente en adipocito. En este proceso de diferenciación intervienen varios factores como la insulina, factor de crecimiento 1 (IGF-1), hormona del crecimiento (GH), triodotironina (T3), prostaciclina y glucocorticoides, actuando sobre receptores de la membrana celular o a nivel del núcleo (35).

A medida que el adipocito crece y aumentan sus depósitos de triglicéridos, aumenta la secreción de sustancias que inhiben la diferenciación de preadipocitos a adipocitos, dificultando así la entrada de triglicéridos a su interior y facilitando la salida de éstos hacia la circulación por medio de la lipólisis (36).



Imagen 2.- Productos de secreción del tejido adiposo (adipoquinas) (imagen tomada de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0716864012702900>) (37)

8.1.9 METABOLISMO DEL TEJIDO ADIPOSO

Los lípidos de la dieta son absorbidos en el tubo digestivo como resultado de su emulsión por la bilis y digestión por la lipasa pancreática, los triglicéridos se fragmentan en monoglicéridos y ácidos grasos. Los ácidos grasos de cadena corta se difunden a las células epiteliales de las vellosidades intestinales y posteriormente a los capilares sanguíneos. Los ácidos grasos de cadena larga y los monoglicéridos son transportados en micelas a las células epiteliales de las vellosidades, una vez en su interior son digeridos a glicerol y ácidos grasos y posteriormente recombinados para formar triglicéridos. Los triglicéridos salen de las células intestinales transportados por quilomicrones y VLDL para entrar en los capilares linfáticos y posteriormente al torrente sanguíneo y antes de llegar al adipocito son hidrolizados en ácidos grasos y glicerol por la lipoproteína Lipasa (LPL) la cual se encuentra en las células endoteliales de los capilares del tejido adiposo (35).

Una vez en el interior del adipocito son re-esterificados para formar triglicéridos (38). Cuando hay un exceso en la ingesta calórica contra un escaso gasto energético, los ácidos grasos son almacenados en la célula en forma de triglicéridos y se produce la obesidad (39). En la medida en que se acumulan lípidos en el adipocito, este se hipertrofia y en el momento en que la célula ha alcanzado su tamaño máximo, se forman nuevos adipocitos. El paciente obeso que desarrolla hiperplasia y comienza a adelgazar, disminuirá el tamaño de los adipocitos, pero no su número (35).

8.2 LECHE Y OBESIDAD

El consumo de leche ha disminuido en los niños en los últimos años. Esto puede desempeñar un papel en la prevalencia de la obesidad infantil, porque los estudios clínicos han encontrado un efecto beneficioso del consumo de leche para el control de peso (40).

Cambios en los patrones de consumo de bebidas pueden tener implicaciones en el aumento de la obesidad infantil en los EE.UU., ya que los niños que beben más bebidas azucaradas tienden a tener un índice de masa corporal más alto (en kg / m^2) que los niños que beben menos bebidas azucaradas (41); jóvenes que beben más leche son más delgados (42). Estudios reportan que niñas de 10 años de edad que tienen bajo consumo de calcio tienen mayor grasa corporal y grasa del tronco que las niñas que consumen mayores cantidades de calcio (43).

8.2.1 LECHE, PRODUCTOS LÁCTEOS Y ENFERMEDADES CRÓNICAS.

El consumo de lácteos se ha relacionado con una menor presencia de diferentes tipos de enfermedades, como lo demostró en un estudio realizado por Gibson, donde concluyeron que consumos elevados de productos lácteos no se asocian con un mayor riesgo de enfermedades coronarias (CHD) (44).

Existe evidencia epidemiológica que establece que un mayor consumo de leche no produce un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares (ECV), de hecho, puede llevar a reducciones a largo plazo en el riesgo de ECV (45).

8.3 HORMONA DEL CRECIMIENTO (GH).

La hormona del crecimiento (GH) o también llamada somatotropina es una hormona peptídica producida y secretada principalmente por las células somatotropas de la hipófisis (46) secretada de manera pulsátil (47), esta se sintetiza principalmente en las células somatotropas de las zonas laterales de la adenohipófisis. Aproximadamente un 90% de la GH sintetizada por las células somatotropas es una proteína de 191 aminoácidos con un peso molecular de 22650 D denominada GH-22kD. El 10 % restante corresponde a una proteína de 20269 D (GH-20kD), que carece de los aminoácidos localizados entre las posiciones 32 y 46 (48). Juega un papel fundamental en el desarrollo del organismo de humanos y animales así como también juega un rol importante en la estructura corporal del cuerpo (49).

8.3.1 SECRECIÓN DE LA HORMONA DEL CRECIMIENTO

El gen que codifica para la GH se localiza en el brazo largo del cromosoma 17, perteneciente a una familia de cinco genes relacionados entre sí, los cuales son: hGH-N (human growth hormone-normal) o gen Hgh-1, el gen Hcs-L (human chorionic somatomammotropin-like) o gen hPL-1, el gen hCS-A (human chorionic somatomammotropin-A) o gen hPL-4, el gen hGH-V (human growth hormone-variant) o gen hGH-2 y el gen hCS-B (human chorionic somatomammotropin-B) o gen hPL-3 (48) (Imagen 3). El gen hGH-N es el que codifica la GH hipofisaria y leucocitaria(48). El factor más importante factor de transcripción implicado en el control de la expresión del gen hGH-N es el GHF-1 (growth hormone factor-1, factor de la hormona de crecimiento 1). En la hipófisis el GHF-1 controla de forma específica la transcripción de los genes de GH y PRL en las células somatotropas y lactotropas respectivamente, así como también el gen que codifica la cadena β de la TSH, el gen del receptor de GHRH y la de su propio gen (48). El mayor pico de la secreción pulsátil de la GH se produce por el aumento de secreción de la hormona reguladora de hormona de crecimiento (GHRH) y con una disminución de la secreción de somatostatina (SS), cuando no existe secreción de GH la GHRH se encuentra disminuida y la SS aumentada, estos cambios en la secreción es fundamental para la hormona, ya que impide la desensibilización en las células diana. La mayor secreción

de GH se presenta durante el sueño (48). La GHRH es una hormona endógena, que contiene de 43-44 aminoácidos. El GHRH se une al receptor de GHRH en las somatotropos en la glándula pituitaria anterior, después la GH almacenada dentro de los somatotropos puede ser liberada en la circulación y fluir a través de varios órganos y células para implementar su función. La SS es una hormona peptídica conocida como un inhibidor de la secreción de la hormona de crecimiento, la cual existe en órganos digestivos (49). Existen dos ejes principales para la regulación de la GH, la GHRH/SS y la GH/GHR/IGF-1, la cual involucra un mecanismo de retroalimentación negativo de la secreción de GH, considerando al IGF-1 como un inhibidor de la secreción de GH (49).

Cuando la GH es liberada al torrente sanguíneo esta se encuentra unida a proteínas transportadoras (GHBP, growth hormone binding proteins), que pueden ser de dos tipos, de alta y de baja afinidad, la de alta afinidad se une de forma preferente a la variante de 22kD y la de baja afinidad se une a la variante de 20 kD esta no guarda ninguna afinidad con el receptor de la hormona de crecimiento.

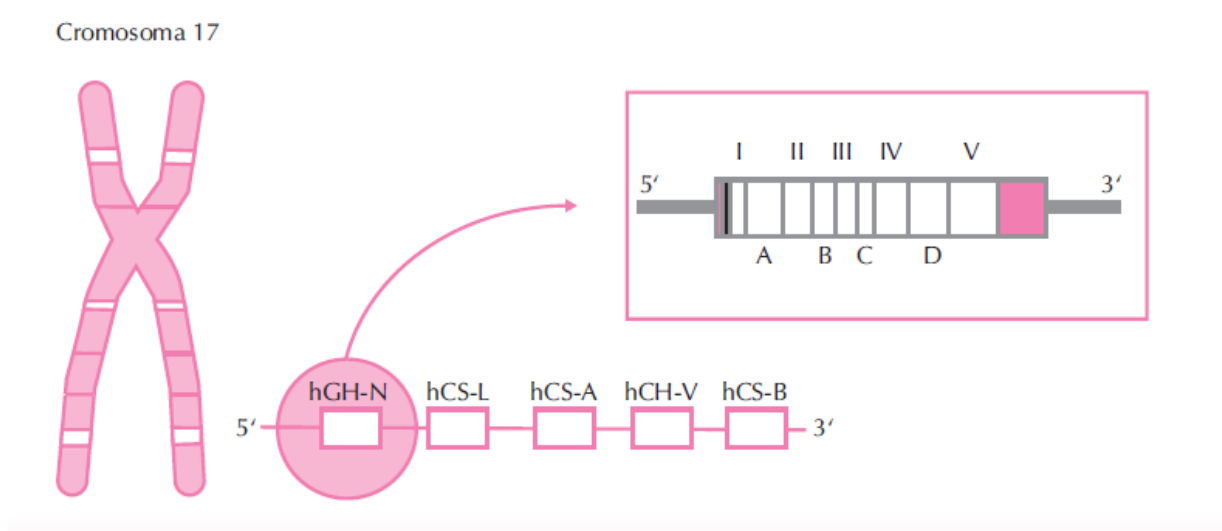


Imagen 3.- Localización de los genes de GH (48).

8.3.2 RECEPTOR DE LA GH (GH-R)

El receptor de la GH humana es una proteína transmembrana de 620 aminoácidos, está formada por tres dominios, un dominio extracelular, un dominio transmembrana y un dominio citoplasmático (48). En general los receptores de GH se encuentran en la membrana plasmática de las células diana para la hormona, así como también en el citosol de hígado, corazón, riñón, tejido adiposo, y musculo (48).

8.3.3 SEÑALIZACIÓN DE LA GH

Una molécula de GH debe unirse a dos moléculas del receptor para poder originar un complejo activo. Luego de la unión de la GH al receptor, el paso inicial en la traducción de la señal de las hormonas comienza por la activación de JAK2 (Janus Kinase 2), una tirosina quinasa que presumiblemente se asocia físicamente al GH-R tras el cambio conformacional ocurrido en este por la unión a GH e induce su fosforilación, la cual induce la fosforilación de una serie de proteínas intracelulares, como las MAP quinasas (proteína quinasas activadas por mitógenos) (MAPK), los STAT (transductores de la señal y activadores de la transcripción) 1, 3 y 5 (50) y los sustratos 1 y 2 del receptor de insulina (IRS-1 y 2) (48) y aunque existen supresores de tirosinas los cuales intervienen en la actividad de las JAK2 llamados supresores de la señalización de citoquinas (SOCS) (49). Los JAK2 son proteínas de importante interés, ya que estas proteínas son importantes factores de transcripción que al translocarse al núcleo se ligan en el ADN a elementos de respuesta específicos y regulan la transcripción de genes moduladores por citoquinas.

Las rutas de señalización más importantes y que son de gran significancia en el proceso GHR son GHR/JACK2/STATs, GHR/JAK2/SHC/MAPK, rutas cuya función principal es la de regular la transcripción de genes para proteínas vitales dentro del núcleo, y GH /IRS/PI3K/rutas Akt y Ras-MAPK, rutas cuya función es la regulación del lipometabolismo y del glucometabolismo (49).

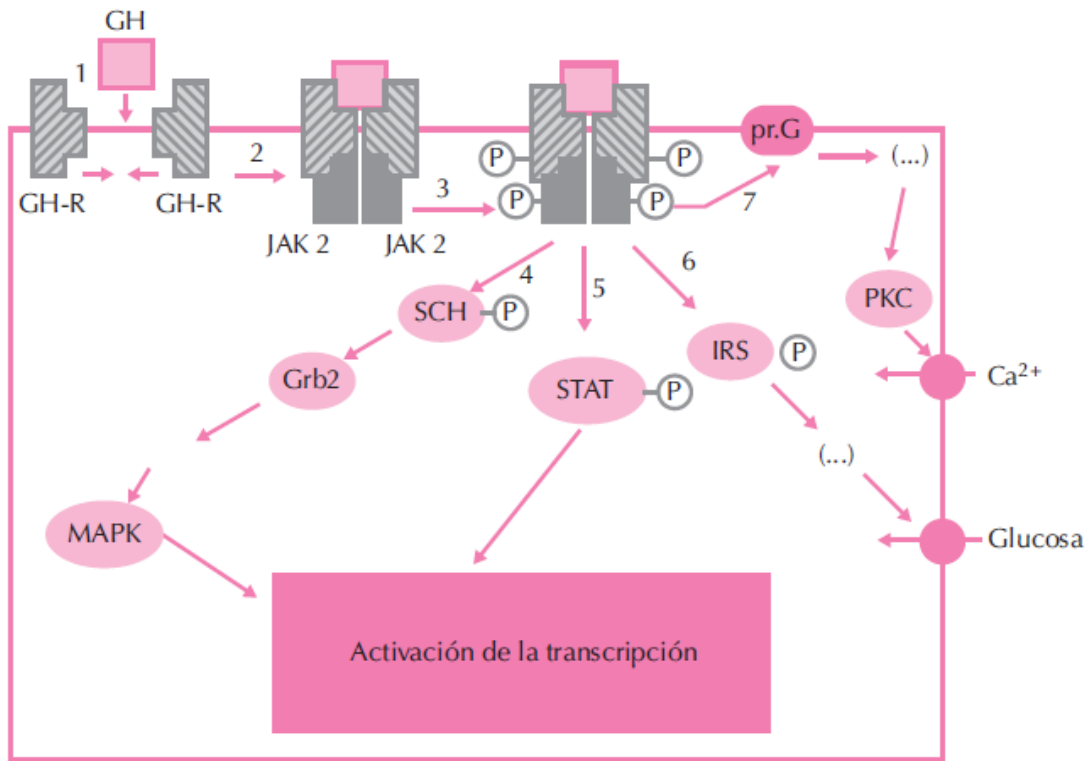


Imagen 4.- Mecanismos de traducción de la señal por el receptor de GH (48).

8.3.4 REGULACIÓN DE LA GH

La regulación de la GH se da por la GHRH la cual aumenta la secreción de GH. La GHRH es una hormona ampliamente distribuida por el organismo, habiéndose descrito su presencia en numerosos tejidos. La unión de la GHRH a su receptor determina la liberación de la GH almacenada en los gránulos secretorios, pero también un incremento de la transcripción de los genes regulados por AMPc, entre los que se encuentran el gen de GH y el protooncogén *c-fos* (relacionado con la capacidad de la GHRH de inducir la proliferación de las células somatotipas).

Además por la somatostatina (SS) la cual inhibe la secreción de GH, esta inhibe la secreción de múltiples células tanto endocrinas como exocrinas, actúa como neurotransmisor neuromodulador en el sistema nervioso central y periférico (48).

Los neurotransmisores que intervienen en el control de la secreción de GH se dan por catecolaminas y en menor medida la acetilcolina, en cualquier caso, la modulación por neurotransmisores de la liberación de GH no se verifica directamente

sobre la hipófisis, sino en el hipotálamo, donde regulan la tasa de secreción de SS y GHRH (48).

Las catecolaminas son neurotransmisores (concretamente la neurotransmisión alfa-2-adrenérgica) quienes juegan el papel más importante en el control de GH. La estimulación de los receptores α 2-adrenérgicos con clonidina produce un incremento de la liberación de GH, específico y dosis-dependiente, que no se modifica tras el bloqueo de los receptores α 1-adrenérgicos (48).

La acetilcolina se considera otro neurotransmisor importante implicado en el control de la secreción de GH. El incremento del tono colinérgico mediante la administración de agonistas muscarínicos, como piridostigmina o neostigmina, produce un aumento de la liberación de GH tanto en condiciones basales como tras la estimulación con GHRH (48).

Otros de los neurotransmisores importantes implicados en el control de la secreción de GH, son, la serotonina, el ácido gamma-aminobutírico (GABA) y la histamina, así como el óxido nítrico (NO) el cual actúa tanto sobre la hipófisis como sobre el hipotálamo (48).

Otros factores que intervienen en la regulación de la GH son factores hormonales como los esteroides sexuales su acción parece llevarse a cabo sobre los sistemas adrenérgicos de control de la liberación de SS hipotalámica (48).

Otras hormonas como la leptina, producto de expresión adipocítica y reflejo de la masa grasa corporal, estimula la secreción de GH mediante una inhibición de la liberación de somatostatina hipotalámica (48).

8.3.5 CIRCUITOS DE FEED-BACK

La secreción de GH está sujeta a mecanismos de autorregulación que se establecen formando 3 circuitos: un circuito ultracorto, dependiente de GHRH y de SS, capaces de regular su propia secreción y de modularse recíprocamente; un circuito corto, ejercido por la propia GH, y un circuito largo, dependiente de IGF-1 (48).

La GH lleva a cabo un *feed-back* negativo de tipo corto sobre su propia secreción. Numerosos datos indican que la hormona estimula la síntesis y la liberación de SS hipotalámica, al tiempo que puede inhibir la liberación de GHRH, aunque este efecto probablemente dependa de la estimulación de SS inducida por la hormona (48).

8.3.6 IGF-1

El circuito largo de *feedback* es ejercido por las somatomedinas, principalmente por la somatomedina-C (SMC), o IGF-1, que es capaz de inhibir la secreción de GH actuando tanto sobre el hipotálamo como sobre la hipófisis. Estos efectos parecen debidos a un aumento de la síntesis de SS y a una disminución de la síntesis de GHRH. En la hipófisis, el IGF-1 inhibe la transcripción de los genes de GH y de GHF-1, tanto en condiciones basales como tras estimulación con GHRH (48).

8.4 FACTOR DE CRECIMIENTO SIMILAR A LA INSULINA TIPO 1 (IGF-1)

El factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1) es un péptido que tiene estructura y función homologa a la insulina además de que estimula el crecimiento esquelético, la diferenciación celular y el metabolismo (51).

La GH estimula la síntesis de IGF-1 en la mayoría de los tejidos. El hígado es el órgano principal responsable de la producción de suero IGF-1 (52).

A diferencia de la GH, los niveles séricos de IGF-1 son bastante estables en humanos sanos y muestran poca variabilidad intraindividual diaria. Los niveles séricos de IGF-1 por encima o por debajo del rango normal corregido por edad son un buen indicador de la disfunción de la GH (53), aunque se debe tener cuidado al considerar otros factores como la malnutrición y los problemas hepáticos que afectan el IGF-1 en suero (52).

8.4.1 MECANISMOS DE ACCIÓN

Los efectos de IGF-1 están mediados principalmente por el receptor de IGF de tipo 1 (IGFR1), que tiene actividad de tirosina quinasa y señales a través de la vía de fosfatidilinositol 3 quinasa (PI3K)/AKT (Imagen 5). El IGF-1 también se une al receptor de insulina (IR) pero con una afinidad mucho más baja que al IGF1R (54). El

IR y el IGF1R son receptores transmembrana diméricos y pueden formar híbridos funcionales (47).

Hay seis proteínas de unión a IGF (IGFBPs) (55). La mayoría del suero IGF-1 se encuentra en un complejo tripartito con IGFBP3 y la subunidad lábil ácida (ALS) (47).

Existen muchas vías de señalización involucradas en la regulación de la masa muscular (Imagen 6). Un componente central parece ser la vía PI3K/AKT, ya que activa la síntesis de proteínas e inhibe la degradación de las proteínas (56). Hay tres isoformas AKT (AKT1, AKT2 y AKT3) AKT1 es importante para la regulación del crecimiento, mientras que AKT2 está involucrado en el metabolismo(57). El mTOR. Forma dos complejos con otras moléculas, mTORC1 y mTORC2. El primero participa en la regulación de la síntesis de proteínas y es sensible a la rapamicina. El segundo está involucrado en el control del citoesqueleto de actina y no es sensible a la rapamicina. El mTORC1 puede regular tanto la biogénesis ribosomal como el inicio de la traducción (58).

La familia FOXO de factores de transcripción. FOXO1 y FOXO3 regulan la expresión de dos proteínas ligasa de ubiquitina en el músculo (59). Las ligasas de ubiquitina enlazan la ubiquitina con las proteínas, por lo que se dirigen a la degradación por el proteasoma de ubiquitina, un complejo de proteólisis dependiente de ATP (47).

Otra vía de degradación de proteínas en el músculo esquelético es la autofagia, la degradación masiva de proteínas y orgánulos por enzimas lisosomales. Los mecanismos responsables de la inducción y regulación del programa de autofagia son poco conocidos, pero parecen implicar también factores de transcripción de FOXO, en particular FOXO3. La autofagia puede ser inhibida por el AKT, pero no la rapamicina. Por lo tanto, FOXO3 controla los dos sistemas principales de degradación de proteínas en el músculo esquelético, la ubiquitina-proteasomal y las vías autofágicas / lisosómicas (60).

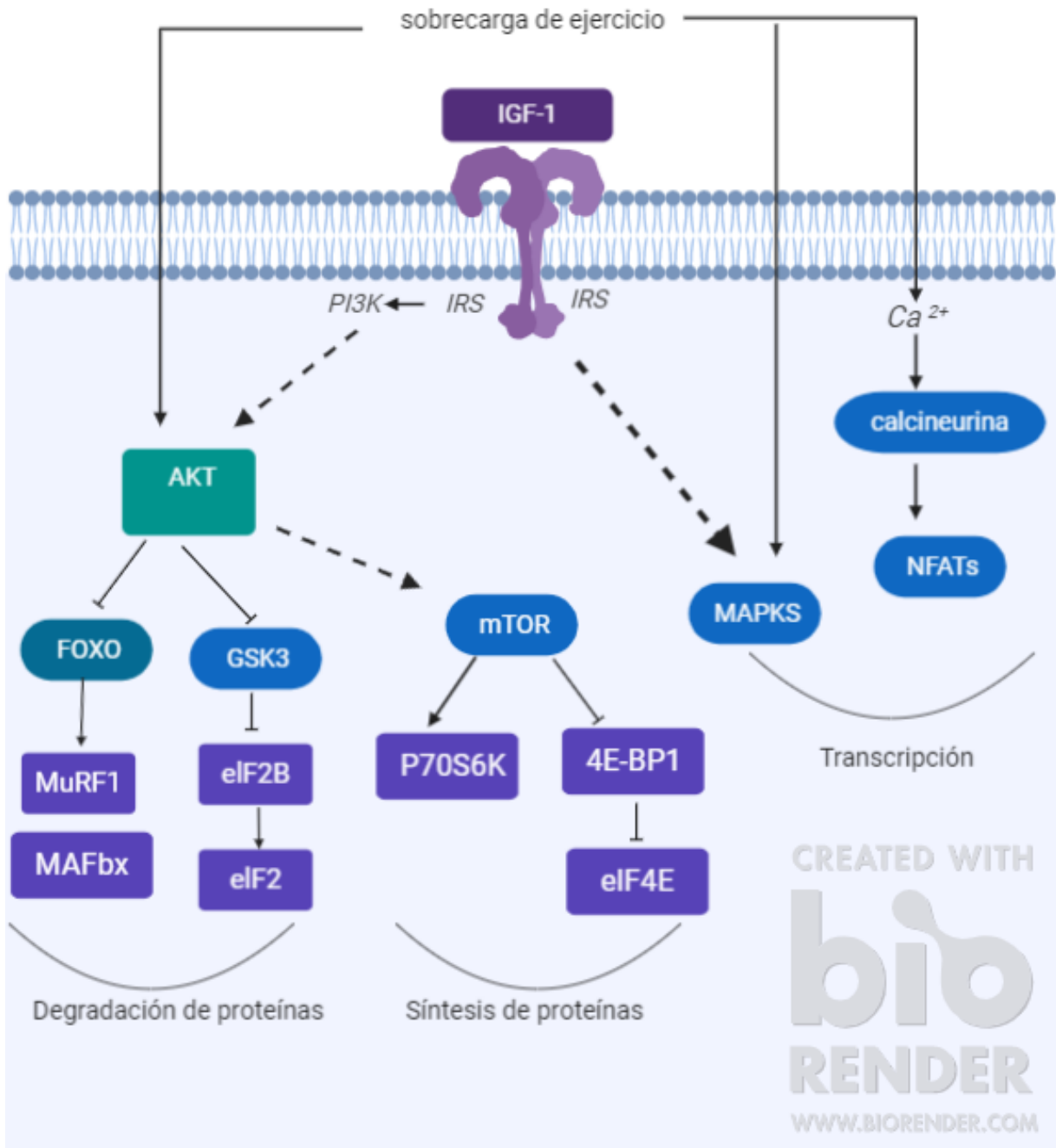


Imagen 5.- Mecanismo de acción del IGF-1

8.4.2 EFECTOS DE LA GH Y EL IGF-1

La secreción de GH y de IGF-1 después del nacimiento aumenta hasta alcanzar su pico máximo en la pubertad, reduciéndose posteriormente hasta los niveles más bajos en la etapa adulta. Con el envejecimiento la secreción de GH/IGF-1 se ve reducido, produciendo la reducción de la masa muscular, la pérdida de elasticidad, el adelgazamiento de la piel, obesidad y resistencia a la insulina (61).

Ciertos padecimientos se relacionan con el déficit de IGF-1 o GH como es la cirrosis hepática, en donde se encuentra la IGF-1 disminuida y la GH aumentada, el déficit de IGF-1 se pudiera deber a la disminución de receptores para GH y la progresiva reducción de la capacidad de síntesis hepática al disminuir la masa hepatocelular. Mientras la GH aumentada se debe a la falta de retroalimentación negativa de su secreción al descender los niveles plasmáticos de IGF-1 (62).

Otro padecimiento de la deficiencia congénita de IGF-1 es el denominado síndrome de Laron o insensibilidad primaria a la GH, donde las deleciones o mutaciones en el gen receptor de GH bloquean su señalización causando deficiencias de IGF-1 (61).

En humanos adultos, la administración de GH es lipolítica y causa un aumento en los ácidos grasos libres de suero. A su vez, esto inhibe la captación de glucosa en el corazón, el tejido adiposo y el músculo y puede ser la base de la hiperglucemia y la resistencia a la insulina asociada con la acromegalia (63).

Para el diagnóstico del déficit de GH del adulto se necesitan test de estímulo. La hipoglucemia insulínica (ITT) es el test de elección para el diagnóstico del GHD del adulto (16).

La obesidad es probablemente el mayor factor de confusión para el diagnóstico del déficit de GH del adulto, se sabe que la alteración en la secreción de GH en la obesidad es paralela a las alteraciones en la composición corporal como aumento de la grasa visceral, disminución de masa magra y de densidad mineral ósea (16).

En eje GH/IGF-1 estimula el desarrollo y maduración ósea, en el cartílago la GH se relaciona con su crecimiento, mediante la estimulación de la proliferación de

condrocitos en la placas de crecimiento endocondral y la proliferación y diferenciación de osteoblastos y osteoclastos (64), mientras que el IGF-1 aumenta la actividad mitótica y la actividad de las células maduras en el cartílago condilar resultando en una mayor osificación endocondral (65). En el desarrollo óseo la GH induce la proliferación de célula osteoblásticas y células primarias, provoca la proliferación y diferenciación de procolágeno tipo I, osteocalcina y la fosfatasa alcalina (66), mientras que el IGF-1 interviene en la función osteoblástica en las etapas del desarrollo y aumenta la replicación celular (67).

Existe una teoría que establece que el crecimiento del tejido es promovido por la GH e IGF-1, llamada teoría del efecto dual (68). La GH la diferenciación de precondritos o células jóvenes diferenciadoras que responderán posteriormente al IGF-1, mientras que el IGF-1 activa las células en una etapa posterior de desarrollo (67).

8.4.3 REGULACION DE LA PRODUCCION DEL IGF-1

Más del 75% de la concentración sérica del IGF-1 es producida por el hígado (69). El esqueleto es la segunda fuente de IGF-1, tanto por la síntesis *de novo* (por las células óseas) como por la liberación de IGF-1 atrapado en la matriz proteica, que ocurre durante la fase de resorción (70). Los principales factores reguladores de la síntesis de IGF-1 son la secreción de hormona de crecimiento (GH) y el estado nutricional (69).

Otra situación que se ha relacionado con una alteración de la síntesis y acción del IGF-1 es el envejecimiento (71). Desde el nacimiento, el IGF-1 aumenta de forma progresiva consiguiendo un pico máximo en la pubertad. Posteriormente, presenta una reducción progresiva relacionada con la edad que se debe a la disminución de los pulsos de GHRH y a descenso de la producción de esteroides sexuales (70). Además, las funciones de IGF-1 en el tejido óseo pueden alterarse en otras situaciones patológicas como son las enfermedades tiroideas, las descompensaciones diabéticas, el tratamiento con glucocorticoides, etc., tanto por disminución de la síntesis como por aumento de la producción de factores inhibidores, entre los que destacan las IGFBP 1 y 4 (72).

8.4.4 EFECTOS DEL IGF-1 EN EL TEJIDO OSEO: ESTUDIOS EN SERES HUMANOS

Existen diversas enfermedades en las que la producción del IGF-1 está alterada y, por tanto, también su acción sobre el hueso. Estas enfermedades son la DGH, el déficit del receptor de GH o síndrome de Laron (DRGH) y la acromegalia (70).

8.4.4.1 DÉFICIT DEL RECEPTOR DE HORMONA DE CRECIMIENTO

Es una enfermedad rara, autosómica recesiva, que determina un defecto del receptor de GH, caracterizada por las manifestaciones clínicas del DGH pero con niveles séricos de GH normales o elevados y deficiencia marcada del IGF e IGFBP (73). Esta enfermedad es un modelo de estudio de las alteraciones que produce el déficit aislado del IGF-1 (70). Bachrach *et al.* estudiaron a 11 adultos diagnosticados de DRGH y 11 controles sanos. Los pacientes con DRGH presentaron descenso significativo de la masa ósea, reducción de la conectividad trabecular en el estudio histomorfométrico y aumento de marcadores de resorción (74).

8.4.4.2 ACROMEGALIA

Diversos estudios han mostrado un aumento de los marcadores de remodelado, tanto de formación como de resorción ósea (75). Aparte de las enfermedades en las que hay una alteración claramente establecida de la producción o acción del IGF-1, la concentración sérica del IGF-1 se ha relacionado con la DMO en otras situaciones (70). Diversos estudios transversales apoyan la relación de la concentración sérica del IGF-1 y la DMO en mujeres postmenopáusicas. Así, Langlois *et al.* encontraron una asociación significativa en 425 mujeres (edad: 72 a 94 años) del estudio Framingham (76). El nivel sérico del IGF-1 se correlacionó significativamente con la DMO, en columna lumbar y cuello femoral, y con parámetros ultrasonográficos (70).

8.5 POLIMORFISMO DE UN SOLO NUCLEÓTIDO (SNP)

Como lo sugiere el acrónimo, un marcador de SNP (polimorfismo de un solo nucleótido) es solo un cambio de una sola base en una secuencia de ADN, con una alternativa habitual de dos posibles nucleótidos en una posición determinada (77), alrededor del 93% de todos los genes contienen al menos un SNP (78). Para que se considere un SNP, se considera que el alelo menos frecuente debe tener una

frecuencia del 1% o mayor. Los SNP suelen ser bialélicos en la práctica. Una de las razones de esto es la baja frecuencia de sustituciones de un solo nucleótido en el origen de los SNP, que se estima que están entre 1×10^{-9} y 5×10^{-9} por nucleótido y por año en posiciones neutrales en mamíferos (79, 80). La probabilidad de que ocurran dos cambios de base independientes en una sola posición es muy baja. Otra razón se debe a un sesgo en las mutaciones, lo que lleva a la prevalencia de dos tipos de SNP, transiciones: purina-purina ($A \leftrightarrow G$) o pirimidina-pirimidina ($C \leftrightarrow T$), intercambios, o transversiones: intercambios de purina-pirimidina o pirimidina-purina ($A \leftrightarrow C$, $A \leftrightarrow T$, $G \leftrightarrow C$, $G \leftrightarrow T$)(77). Las consecuencias funcionales de los SNP causan cambios en los aminoácidos, la estabilidad de la transcripción del ARNm y la afinidad de unión al factor de transcripción (81). De acuerdo con su importancia funcional y su amplia localización los SNP se han dividido en: SNP reguladores (rSNP) los cuales tienen implicaciones funcionales sobre los niveles de expresión genética (82), estos se encuentran en los promotores de los genes que sintetizan proteínas y afectan a los niveles de expresión génica (83), SNP ARN estructurales (srSNP) los cuales alteran la traducción de los ARN mensajeros, el corte y empalme, la eficiencia para potenciar o inhibir el corte y empalme, la estabilidad de los ARNm y la función de las proteínas (sin alterar su estructura) (82), se encuentran en ARNm primarios (transcritos que contienen intrones) y secundarios (transcritos sin intrones) incluyendo regiones no traducidas (5'UTR y 3'UTR), regiones intrónicas y codificantes (sin que ocurra un cambio de aminoácido) pero si afectando la estructura y funcionalidad de los ARN incluyendo la regulación de la traducción de los ARNm a proteínas (82, 83) y SNP codificantes o funcionales (cSNP)(82) los cuales se encuentran en los exones y se subdividen en sinónimos (si el cambio de nucleótido no cambia aminoácido) y no sinónimos (si el cambio de nucleótido cambia un aminoácido) (84). Estos se dividen en sin sentido (nonsense) y de sentido erróneo (missense); los primeros generan un codón de paro y terminación prematura de la proteína, y los de sentido erróneo (missense), generan un cambio de un aminoácido. Ambos pueden tener un efecto drástico pero con los últimos no puede ser grave si los aminoácidos remplazados tienen similitud en la estructura química y las

propiedades bioquímicas. Los dos tipos de variantes afectan las secuencias la estructura y la función proteica (85).

8.5.1 SNP rs6214 DEL GEN *IGF1*

El SNP rs6214 del gen *IGF1* está localizado en la región 3' UTR del exón 4 en el gen *IGF1* y no causa ningún de aminoácido en sí mismo. Sin embargo, puede tener funciones reguladoras o estar vinculado con los alelos funcionales en el exón 4, lo que lleva a un cambio en la secuencia de aminoácidos en el gen *IGF1* (86).

El polimorfismo rs6214 produce un cambio de base de una citosina por una timina la cual se presenta en población de los ángeles california estados unidos con descendencia mexicana con una prevalencia de cambio de citosina del 0.5938 mientras que la prevalencia de la timina es de 0.4063.

Investigaciones han relacionado el polimorfismo rs6214 con aumento en las concentraciones de IGF-1, así como la expresión de ARNm de *IGF1* (87, 88), así como también se ha relacionado con miopía (89), y con diferentes tipos de cáncer como el cancer colorrectal independientemente del IMC (90), cáncer de cabeza y cuello en mujeres y adenocarcinoma esofágico (91).

Rzehak *et .al.* analizaron las variaciones en el gen del *IGF1* en personas que consumen leche, encontrando asociación entre los niveles de IGF-1 y el estado corporal de infantes menores de seis meses con los SNP rs6214, rs1520220, rs978458, rs2195239 (92).

9 JUSTIFICACIÓN

En México, el 52% de la población sufren de sobrepeso u obesidad, las cuales se consideran una enfermedad crónica de origen multifactorial, la cual se caracteriza por la acumulación excesiva de grasa. La GH es la precursora de la IGF-1, estas favorecen la disminución de la grasa alrededor de la cintura y un aumento de la masa musculo esquelético, estudios recientes han concluido que una baja talla y la aparición de grasa alrededor de la cintura es debida a un déficit de GH/IGF-1, los cuales se encuentran presentes en la leche, el consumo de leche en México es muy

elevado, ya que ocupa el 8° lugar a nivel mundial y a nivel nacional el consumo de leche es cercano al 70% en infantes y en adultos cerca del 48% consumen leche.

La proteína IGF-1 es producto de la expresión del gen *IGF1*, en el cual se localiza el polimorfismo rs6214 en la región 3'UTR el cual se ha asociado con el estado nutricional en infantes que presentaron una talla disminuida y presencia de grasa alrededor de la cintura. Por lo cual nos enfocaremos en buscar la asociación entre la GH/IGF-1 y la presencia del polimorfismo rs6214 del gen *IGF1* en adultos con distinto estado nutricional.

10 HIPÓTESIS

Los niveles de GH, IGF-1 y la presencia del polimorfismo rs6214 del gen *IGF1* están asociados con el estado nutricional y la composición corporal en adultos que consumen leche.

11 OBJETIVO

Determinar la asociación entre los niveles de GH, IGF-1 y el SNP rs6214 del gen *IGF1* con el estado nutricional y la composición corporal en adultos que consumen leche.

11.1 Objetivos específicos

Evaluar la composición corporal de las personas del estudio.

Identificar la asociación entre el consumo de leche y la presencia del polimorfismo rs6214 del gen *IGF1* con los niveles de GH y IGF-1 en los individuos.

Identificar la asociación de GH, IGF-1 y consumo de leche con la composición corporal.

Identificar la asociación entre el polimorfismo rs6214 en el gen *IGF1* y el consumo de leche con la obesidad y la composición corporal.

12 MATERIALES Y MÉTODOS

I. Nivel Investigativo

Asociación

II. Diseño del estudio

Estudio asociación, prospectivo, observacional y transversal

III. Tipo de estudio

Casos y controles

12.1 VARIABLES

Tabla 2.- Variables usadas en la investigación y sus valores.

VARIABLE ASOCIADA	INDICADORES	VALORES FINALES	TIPO DE VARIABLE
Índice de masa corporal ;	IMC (peso/talla ²)	Normal peso	Politómica, nominal, continua
		obesidad	
VARIABLE DE SUPERVISIÓN			
Concentración de GH;	ng/mL	0.05 ng/ml- 5 ng/mL	Nominal, continua
Concentración de IGF-1:	ng/mL	81 ng/ml-358 ng/mL	Nominal, continua
Presencia del polimorfismo rs6214 del gen <i>IGF1</i> :	Presencia/ausencia	Cambio de una Citosina/Timina	Dicotómica, nominal

OTRAS VARIABLES			
<p>Diabetes: Enfermedad crónica e irreversible del metabolismo en la que se produce un exceso de glucosa o azúcar en la sangre y en la orina; es debida a una disminución de la secreción de la hormona insulina o a una deficiencia de su acción</p>	presencia/ausencia	presencia/ausencia	Dicotómica, Nominal
<p>Alcoholismo: Enfermedad causada por el consumo abusivo de bebidas alcohólicas y por la adicción que crea este hábito.</p>	presencia/ausencia	presencia/ausencia	Dicotómica, Nominal
<p>Consumo de suplementos deportivos</p>	presencia/ausencia	presencia/ausencia	Dicotómica, Nominal

Problemas hepáticos: enfermedades que impiden que el hígado funcione o evitan que trabaje bien.	presencia/ausencia	presencia/ausencia	Dicotómica, Nominal
Problemas tiroideos: enfermedades causadas por un por un funcionamiento anormal de la tiroides	presencia/ausencia	presencia/ausencia	Dicotómica, Nominal
Consumo de hormonas	presencia/ausencia	presencia/ausencia	Dicotómica, Nominal
Consumo de leche	presencia/ausencia	presencia/ausencia	Dicotómica, Nominal
Ejercicio	presencia/ausencia	presencia/ausencia	Dicotómica, Nominal

12.2 DEFINICIÓN DE CASO Y CONTROL

Caso: se considera casos a personas de 20 a 59 años de edad que consuman leche entera y cumplan con los criterios de inclusión

Control: se considera casos a personas de 20 a 59 años de edad que no consuman leche de vaca y cumplan con los criterios de inclusión

Leche entera: se considera a leche entera como la leche proveniente de vaca que ha sido pasteurizada y que no ha sido deslactosada, semidescremada y/o y descremada

Tabla 3.- Criterios de inclusión y exclusión

GRUPO DE ESTUDIO	CRITERIOS DE INCLUSIÓN	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	CRITERIOS DE ELIMINACIÓN
Casos	<p>Mujeres y hombres de 20 a 59 años de edad</p> <p>Acepte participar en el estudio, con firma de consentimiento informado</p> <p>Consuma leche entera</p> <p>Residentes de la ciudad de Durango</p>	<p>Pacientes que presenten diagnóstico conocido de disfunción hepática</p> <p>Consumo de esteroides, hormonas tiroideas y de regulación del ciclo menstrual</p> <p>Mujeres embarazadas</p>	<p>Problemas con la toma de muestras</p> <p>Poca muestra obtenida</p> <p>Retiro del consentimiento informado</p>

GRUPO DE ESTUDIO	CRITERIOS DE INCLUSIÓN	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	CRITERIOS DE ELIMINACIÓN
Controles	<p>Mujeres y hombres de 20 a 59 años de edad</p> <p>Acepte participar en el estudio, con firma de consentimiento informado</p> <p>No consuman leche de vaca</p> <p>Residentes de la ciudad de Durango</p>	<p>Pacientes que presenten diagnóstico conocido de disfunción hepática</p> <p>Consumo de esteroides, hormonas tiroideas y de regulación del ciclo menstrual</p> <p>Mujeres embarazadas</p>	<p>Problemas con la toma de muestras</p> <p>Poca muestra obtenida</p> <p>Retiro de la aceptación de la carta de consentimiento</p>

12.3 UNIVERSO Y POBLACIÓN DE ESTUDIO

El universo de estudio está conformado por sujetos que residan en la ciudad capital, con rango de edad entre los 20 y 65 años, que cumplan con los criterios de inclusión. Las muestras para el estudio serán recolectadas después de la aprobación de la carta de consentimiento informado.

12.4 TAMAÑO DE MUESTRA

Se utilizará la fórmula para el cálculo de tamaño de muestra de contraste de hipótesis para casos y controles de grupos independientes.

$$n = \frac{(Z_{1-\alpha/2}\sqrt{2P(1-P)} + Z_{1-\alpha}\sqrt{P1(1-P) + P2(1-P2)})^2}{(P1 - P2)^2}$$

$$P = \frac{P1 + P2}{2}$$

Nivel de confianza: 95%

Potencia estadística: 85%

P1= Proporción de casos expuestos: 70%

P2= Proporción de controles expuestos: 45%

Potencia %	Tamaño de muestra		
	Casos	Controles	Total
85	47	47	94

Se necesitarán un mínimo de 47 casos y 47 controles para que nuestro estudio sea representativo y que el valor de X^2 no necesite una corrección por continuidad.

12.5 DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio de casos y controles. El presente estudio se llevó a cabo de conformidad con la Declaración de Helsinki y Buenas Prácticas Clínicas (GCP), y el protocolo fue aprobado por el comité de investigación en ética del “Dr. Santiago Ramón y Cajal” Hospital General, ISSSTE (CONBIOETICA 10CE100120130723 y COFEPRIS 13 CEI 10005 128). Todos los participantes firmaron un acuerdo de consentimiento informado.

12.6 POBLACIÓN DE ESTUDIO

Se incluyó un total de 110 voluntarios 55 casos y 55 controles, hombres y mujeres aparentemente sanos, del estado de Durango (México), de 20 a 59 años. Se excluyeron personas con problemas hepáticos graves, que consumieran esteroides u hormonas tiroideas y mujeres embarazadas.

12.7 MATERIALES Y REACTIVOS.

Los siguientes reactivos (grado de biología molecular) se adquirieron de Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, Estados Unidos): bromuro de dodecil trimetil amonio (DTAB), bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB), cloroformo, metanol, agua Milli-Q, y NaCl.

12.8 MÉTODOS

El consumo de leche y los criterios exclusión se determinaron mediante un cuestionario administrado a todos los participantes. El cuestionario incluyó la ingesta total de productos lácteos (incluyendo leche, yogur y queso), la ingesta mínima de leche por día para ser considerado consumo de leche se estableció en 200 mL. de acuerdo con las “Guías Alimentarias y de Actividad Física para Población Mexicana”(93).

12.9 EVALUACIÓN DE LA COMPOSICIÓN CORPORAL.

Los parámetros de peso y composición corporal se obtuvieron utilizando la composición corporal, con los equipos de monitoreo (Omron HBF-516 y Tanita TBF-300A), IMC, grasa corporal, Masa grasa, edad metabólica, tasa metabólica, porcentaje de grasa. La obesidad se consideró con un IMC>25.

12.10 OBTENCIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE.

Las muestras de sangre se obtuvieron mediante venopunción periférica en antebrazo después de que los participantes habían ayunado durante 8-10 horas Las muestras se mantuvieron en tubos Vacutainer™ que contenían EDTA como un anticoagulante y sin anticuagulante.

12.11 ENSAYO DE GENOTIPADO

El ADN genómico se obtuvo a partir de sangre completa utilizando el método DTAB-CTAB 16; Se evaluó la integridad y pureza del ADN. El polimorfismo rs6214 del gen *IGF1* fue analizado por PCR en tiempo real utilizando un sistema StepOne™ (Applied Biosystems, Thermo Fisher Scientific corporation, Foster City, California, Estados Unidos) y la específica Sonda TaqMan® C__11495137_10 para el polimorfismo rs6214 del gen *IGF1* (Secuencia Contexto: TCACATCTAACTATGACAGAAAACA (C / T)GTTAAGTCTGCAGAAGACTGCCTAT).

12.12 DETERMINACIÓN DE GH E IGF-1

La determinación de GH e IGF-1 se realizó por la técnica de Enzyme-Linked-Immunoabsorbent Assay (ELISA) en un equipo “ELISA Reader” modelo “ELIREAD”, utilizando un kit de inmunoensayo tipo sándwich, de ensayo directo doble anticuerpo, de fase sólida, producido por el laboratorio SIGMA-ALDRICH específicamente para determinación de hormona de crecimiento (GH) y para IGF-1 humana.

12.13 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los factores sociodemográficos de los participantes y la ingesta de leche se presentan como porcentajes. La prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg se utilizó para caracterizar la población de control. Se realizó por comparación de las frecuencias de genotipo observadas y esperadas utilizando test X^2 prueba de bondad de ajuste. (X^2 $\alpha=0.05$, 1 d.f.= 3.84). Se reportaron los odds ratios (OR) y los intervalos de confianza (IC) del 95%, calculados utilizando tablas 2x2 mediante la prueba de tres modelos genéticos de herencia, es decir, modelos dominantes, codominantes y recesivos. Se usó Análisis de regresión logística univariada y multivariada, un valor de $p \leq 0.05$ se consideró estadísticamente significativo para todos los cálculos. Las estadísticas descriptivas fueron reportadas como medias. Para el análisis estadístico se utilizó el test de X^2 para la comparación de variables. Se usaron coeficientes de correlación y de asociación. Se definieron como valores elevados de IGF-1 aquellos superiores a la media (169.4 ng/mL) y para GH (0.40 ng/mL). El valor de corte fue derivado de los criterios de Rosenthal y Rubin(94, 95). Las variables edad, IMC, grasa visceral, grasa magra, % grasa, IGF-1, fueron

categorizadas para facilitar su análisis estadístico. Se consideraron las diferencias estadísticamente significativas si $p < 0,05$. Se utilizó el paquete estadístico “SPSS (IBM Corp. Lanzado en 2013. IBM SPSS Statistics para Windows, Versión 23.0. Armonk, NY: IBM Corp.)”(96).

13 RESULTADOS

13.1 Objetivos 1, 2 y 3

El análisis de la distribución de las variables de la población se muestra en la Tabla 4. La distribución de las variables IMC, peso, % grasa, grasa magra, grasa visceral, IGF-1 y GH se muestran en la Tabla 5. No se encontraron diferencias significativas en las variables de musculo (grasa magra) ($p = 0.051$). Sin embargo, las variables las cuales muestran diferencias entre los grupos son IMC ($p = 0.0003$), peso ($p = 0.001$), % de grasa ($p = 0.009$), GH ($p = 0.0001$), IGF-1 ($p = 0.0002$) y grasa visceral ($p = 0.011$).

La Tabla 6 muestra el análisis logístico univariado de la asociación entre el polimorfismo de IGF-1 rs6214 C>T de acuerdo a modelos de herencia y los niveles de GH e IGF-1. Se observó que la presencia del alelo mutado se relaciona directamente con los niveles de IGF-1 en los modelos de herencia codominante, dominante y recesivo (OR = 10.6, 95% IC (2.3-18.63), $p = 0.0021$), (OR = 3.41, 95% IC (1.31-8.56), $p = 0.008$), (OR = 6.75, 95% IC (1.57-28.9]), $p = 0.009$). Así como también el consumo de leche se asoció directamente con los niveles de IGF-1 (OR = 17.09, 95% IC (3.63-19.10), $p = 0.0003$)

Los resultados mostraron que existe una correlación negativa entre el consumo de leche y el IMC, % grasa y masa grasa, es decir que a mayor consumo de leche, menor son los niveles de estas variables, además de presentar una correlación positiva con el IGF-1, lo cual indica que el consumo de leche aumenta los niveles por arriba de media de IGF-1, así como una correlación negativa entre el IGF-1 y el IMC (Tabla 7).

En la Tabla 8 se muestra el análisis logístico de la asociación entre la obesidad y la composición corporal de los sujetos en relación con GH e IGF-1. Donde se observa

que la GH no tiene relación con ninguna de las variables de composición corporal ni obesidad, sin embargo el IGF-1 muestra una asociación directa con la masa magra (OR = 1.10, 95% IC (1.45-2.68), p = 0.014)

Tabla 4.- Análisis descriptivo de la población

Variable	Media ± SD
Peso	70.3 ± 13.8
edad	36 ± 13
IMC*	26.1 ± 4.7
% grasa	29.4 ± 10.75
Masa magra	49.2 ± 10.07
Grasa visceral	7.07 ± 4.03
GH**	0.71 ± 0.18
IGF-1***	169.4 ± 42.65

*IMC= Índice de Masa Corporal; **GH= Hormona del Crecimiento; ***IGF-1= Factor de Crecimiento similar a la Insulina; SD =Desviación Estándar

Tabla 5.- Análisis de comparación de los grupos basados en el consumo de leche

Variable	consumen leche	sin consumo de leche	p Valor χ^2
IMC (Kg/m ²) >25, N	18	37	0.0003
Peso (kg) >70.3, N	20	35	0.001
% GRASA >30, N	22	34	0.009
Grasa magra > 35, N	19	10	0.051
Grasa visceral >5, N	32	44	0.011
GH (ng/mL), Media \pm SD	0.678 \pm 0.08	0.793 \pm 0.16	0.0001
IGF-1 (ng/mL) Media \pm SD	220.7 \pm 50.5	118.4 \pm 32.8	0.0002

*SD = Desviación Estándar; *IMC= Índice de Masa Corporal; **GH= Hormona del Crecimiento; ***IGF-1= Factor de Crecimiento similar a la Insulina

Tabla 6.- Análisis logístico entre los niveles de GH e IGF-1 en relación con la ingesta de leche y la presencia del polimorfismo IGF-1 C> T (rs6214)

	GH*			IGF-1**		
	OR ⁺	IC ₉₅ ⁺⁺	p valor	OR ⁺	IC ₉₅ ⁺⁺	p valor
Consumo de leche						
No	Ref.			Ref.		
Si	1.0	0.49-2.18	0.904	17.0	3.63-19.10	0.0003
	4			9		
Modelo						
Codominante						
CC	Ref.			Ref.		
CT	2.8	0.7-11.40	0.13	2.5	0.9-6.68	0.065
	5					
TT	2.6	0.33-14.45	0.33	10.	2.3-18.63	0.0021
	5			6		
Modelo Dominante						
CC	Ref.			Ref.		
TT + CT	1.8	0.8-6.42	0.10	3.4	1.31-8.56	0.008
	5			1		
Modelo Recesivo						
CC+CT	Ref.			Ref.		
TT	1.8	0.22-16.05	0.55	6.7	1.57-28.9	0.009
	9			5		
C Alelo						
T Alelo	2.2	0.7-6.18	0.12	3.0	1.5-5.9	0.001
	0			5		

GH*=Hormona de crecimiento; IGF-1**= factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1; OR⁺=odds ratio; IC⁺⁺= intervalo de confianza

Tabla 7.- Análisis de correlación bivariadas entre las variables

Variables	consume leche		IMC***		% Grasa		Masa Magra		Grasa Visceral	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
Consume leche		1	-0.278	0.000	-0.210	0.006	0.101	0.190	-0.117	0.130
IMC***	-0.278	0.000	1		0.480	0.000	0.195	0.011	0.648	0.000
GH*	-0.042	0.588	0.101	0.193	-0.018	0.817	0.101	0.193	0.053	0.494
IGF-1**	0.237	0.002	-0.147	0.056	-0.102	0.187	0.065	0.040	0.038	0.620

GH*=Hormona de crecimiento; IGF-1**= factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1; IMC***= Índice de Masa Corporal; r= coeficiente de correlación de Pearson; p = valor de significancia

Tabla 8.- Análisis logístico de la asociación entre la obesidad y la composición corporal de los sujetos en relación a GH e IGF-1

	Masa grasa total			Masa magra			Grasa visceral			Obesidad		
	OR ⁺	IC ₉₅ ⁺⁺	p valor	OR ⁺	IC ₉₅ ⁺⁺	p valor	OR ⁺	IC ₉₅ ⁺⁺	p valor	OR ⁺	IC ₉₅ ⁺⁺	p valor
<i>GH*</i>	2.18	0.60-7.82	0.22	0.68	0.19-2.34	0.54	0.6	0.11-3.02	0.022	0.66	0.15-2.80	0.57
<i>IGF-1**</i>	0.68	0.28-1.65	0.39	1.10	1.45-2.68	0.014	0.69	0.26-1.83	0.45	0.62	0.25-1.52	0.19

GH*=Hormona de crecimiento; IGF-1**= factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1; OR⁺= odds ratio ; IC⁺⁺= intervalo de confianza

13.2 RESULTADOS OBJETIVOS 1 Y 4

La distribución de variables, sexo, edad e IMC con respecto a la ingesta de leche se muestra en la Tabla 9. No se encontraron diferencias significativas con respecto a la ingesta de productos lácteos en términos de edad y sexo. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el IMC y la ingesta de leche entre las personas en los rangos de 18.5-24.9 y 25-29.99 del IMC ($p = 0.039$ y 0.045 , respectivamente).

Además, cuando agrupamos a las personas en <25 IMC y > 25 se observó una asociación más significativa ($p = 0.0001$). De manera similar, los parámetros de composición corporal parecen estar relacionados con la ingesta de leche; Se observaron asociaciones significativas ($p < 0.05$) entre la ingesta de leche y la masa de grasa corporal ($p = 0.0006$), grasa visceral ($p = 0.022$) y masa magra ($p = 0.0017$).

Ambos grupos, la ingesta de leche y la población no ingerida de leche coincidieron con el equilibrio de Hardy-Weinberg para el polimorfismo IGF-1 ($\chi^2 0.05, 1 \text{d.f.} = 3.84$).

La Tabla 10 muestra un análisis logístico univariado de la asociación entre el polimorfismo IGF-1 rs6214 C> T, según los modelos de herencia y los parámetros de composición corporal. Se observaron asociaciones invertidas estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre la presencia del alelo mutado en genotipos heterocigotos y / o homocigotos y el contenido de grasa. De hecho, el único alelo T en sí mismo está relacionado de manera significativa e inversa con la obesidad (OR = 0.40, IC del 95% (0.21-0.75), $p = 0.004$) y directamente con la masa magra (OR = 2.16, IC del 95% (1.18-3.94), $p = 0.011$) (tabla 10).

También se encontró que la ingesta de leche se asociaba inversamente con la masa grasa corporal (OR = 0.20, IC 95% (0.08-0.50), $p = 0.0006$), grasa visceral (OR = 0.29, IC 95% (0.10-0.84), $p = 0.022$), obesidad (OR = 0.32, IC 95% (0.11-0.80), $p = 0.0001$), y directamente asociado con masa magra (OR = 5.09, IC 95% (1.83-14.10), $p = 0.002$).

Finalmente, la Tabla 11 muestra un análisis multivariado que incluye los genotipos IGF-1 rs6214 en diferentes modelos de herencia y la ingesta de leche en relación con la obesidad. Los resultados muestran una asociación invertida significativa entre el genotipo TT (OR = 0.25, IC 95% (0.04-0.87), $p = 0.048$), la combinación de genotipos TT + CT en relación con el genotipo CC (modelo dominante) (OR = 0.38, IC del 95% (0.16-0.90), $p = 0.025$) e ingesta de leche (OR = 0.28, IC del 95% (0.10-0.74), $p = 0.011$).

Tabla 9.- Características de la población basada en el consumo de leche

	Consume leche (N= 62)	No consume de leche (N= 37)	X² p valor**
Edad, N (%)			
20-29	29 (29.29)	7 (7.07)	0.254
30-39	12 (12.12)	7 (7.07)	0.345
40-49	11 (11.11)	12 (12.12)	0.567
50-59	10 (10.10)	11 (11.11)	0.132
Sexo, N (%)			
Men	32 (32.32)	12 (12.12)	0.063
Women	30 (30.30)	25 (25.25)	0.075
IMC*, N (%)			
18.5-24.99	28 (28.28)	6 (6.6)	0.039
25-29.99	20 (20.20)	16 (16.16)	0.045
30-34.99	8 (8.08)	10 (10.10)	0.674
35-39.99	5 (5.05)	3 (3.03)	0.765
> 40	1 (1.01)	2 (2.02)	0.675
≥ 25	34 (34.34)	31 (31.31)	0.0001
Composición corporal %, Media (SD)			
Masa grasa corporal	27.58 (13.21)	36.95 (9.40)	0.0006
Masa magra	52.70 (10.62)	50.36 (9.62)	0.0017
Grasa Visceral	7.56 (3.61)	9.68 (4.20)	0.022

*IMC = Índice de Masa Corporal; SD = desviación estándar; **P< 0.05 es considerada como estadísticamente significativa

Tabla 10.- Análisis logístico de la asociación entre obesidad y composición corporal de los sujetos en relación al consume de leche y la presencia del polimorfismo rs6214 IGF-1 C>T.

	Masa Grasa Corporal			Masa Magra			Grasa Visceral			*Obesidad		
	OR*	IC ₉₅ **	valor p	OR*	IC ₉₅ **	valor p	OR*	IC ₉₅ **	valor p	OR*	IC ₉₅ **	valor p***
Consume de leche												
No	Ref.			Ref.			Ref.			Ref.		
Yes	0.20	0.08-0.50	0.0006	5.09	1.83-14.10	0.002	0.29	0.10-0.84	0.022	0.32	0.11-0.80	0.0001
Modelo Codominante												
CC	Ref.			Ref.			Ref.			Ref.		
CT	0.94	0.39-2.25	0.900	2.88	1.19-6.92	0.025	0.71	0.26-1.88	0.48	0.50	0.19-1.30	0.154
TT	0.22	0.05-0.90	0.033	3.3	0.91-11.87	0.120	0.40	0.1-1.51	0.17	0.19	0.05-0.66	0.009
Modelo Dominante												
CC	Ref.			Ref.			Ref.			Ref.		
TT + CT	0.71	0.32-1.60	0.410	2.68	1.19-6.0	0.016	0.61	0.25-1.50	0.28	0.38	0.16-0.90	0.029
Modelo Recesivo												
CC+CT	Ref.			Ref.			Ref.			Ref.		
TT	0.23	0.06-0.86	0.028	1.80	0.53-6.09	0.330	0.47	0.13-1.62	0.23	0.26	0.08-0.84	0.023
C Alelo	Ref.			Ref.			Ref.			Ref.		
T Alelo	0.57	0.31-1.05	0.073	2.16	1.18-3.94	0.011	0.62	0.32-1.20	0.15	0.40	0.21-0.75	0.004

*OR = Odds Ratio; **IC = intervalo de confianza 95%, ***P < 0.05 es considerada como estadísticamente significativo; †obesidad=BM1>25

Tabla 11.- Análisis de regresión logística multivariada de la obesidad

Variable	OR*	IC₉₅**	valor p ***
Genotipo			
IGF-1 (rs6214)			
CC	Ref.	----	----
CT	2.08	0.49-8.72	0.314
TT	0.25	0.04-0.87	0.048
CT+TT	0.38	0.16-0.90	0.025
CC+CT	Ref.	----	----
TT	0.46	0.11-1.96	0.30
Milk intake			
No	Ref.	----	----
Yes	0.28	0.10-0.74	0.011

*OR = Odds Ratio; **IC = intervalo de confianza 95%; *** P < 0.05 es considerada como estadísticamente significativa; +obesidad=BM1>25

14 DISCUSIÓN

Los resultados muestran asociación entre el consumo de leche y los niveles de IGF-1 arriba de la media de la población, esto puede ser debido a los contenidos elevados de IGF-1 en la leche. Marín-Quiroga *et al.*, en 2015 analizaron tres tipos de leches de vaca comerciales, concluyeron que la leche entera comercial presentaba niveles más elevados a comparación de otros tipos de leches (97) y según Colier *et al.* desde 1991 reportaron que los niveles de IGF-1 en la leche no se ve afectado por la pasteurización (98).

La falta de diferencias significativas en el consumo de leche en función de la edad en la población (Tabla 9) estudiada se debe a que el consumo de leche en México sigue siendo similar a lo largo de la vida de las personas, a diferencia de las costumbres en otros países (99). La mayoría de las personas dentro del rango de IMC normal tenían entre 20 y 30 años; Según lo informado por ENSANUT (2016), el IMC tiende a aumentar con la edad.

Nuestros resultados muestran que el porcentaje más alto de participantes (28.28%) con rango de peso normal (18-24.9 IMC) se encuentra en el grupo de personas cuya ingesta de leche fue de al menos 1 vaso por día (grupo de ingesta de leche). Por el contrario, en el grupo sin consumo de leche hubo un porcentaje muy bajo de personas con peso normal (6,6%), lo que da la idea de que la ingesta de leche es un factor protector para la obesidad, que se confirmó a través de un análisis logístico univariado (Tabla 10) (OR = 0.32, CI95% (0.11-0.8), p = 0.0001) y el análisis logístico multivariado (Tabla 11) (OR = 0.28, CI95% (0.10-0.74), p = 0.011). Esto concuerda con los resultados anteriores presentados por Bell-Serrat y sus colaboradores (100), que demostraron que el consumo de productos lácteos se correlaciona con los valores de IMC dentro del rango normal. Nuestros resultados también son consistentes con otros estudios, incluidos los resultados de Rodríguez *et al.* (2010) donde se demostró una relación entre el consumo de productos lácteos y los valores de IMC dentro del rango de peso normal (OR = 0.23, IC95% (0.08-0.66)) (101). Además, se ha informado menos grasa corporal y menos grasa del tronco (102), así

como una correlación negativa con el riesgo metabólico (-0.044 ± 0.01 , $p = 0.009$) (OR = 0.531, IC95% (0.302–0.931) (103, 104).

Estudios de intervención en pacientes que contaban con un IMC > 27 kg/m², los cuales consumieron una dieta isoenergética solo con leche perdieron significativamente más peso (9.4 kg) que los que consumieron la dieta convencional (1.7 kg) y un 81% más de grasa en el tronco en comparación con los de bajo consumo de lácteos (105, 106).

La asociación entre la ingesta de leche y un IMC dentro del rango normal podría deberse a ciertos componentes de la leche, como las proteínas de la leche (107-109), calcio (110, 111) y ácido linoleico conjugado (CLA) (112, 113); debido a que se han relacionado con una estimulación de la lipólisis y una reducción de la lipogénesis (114), al aumento en los niveles de colesterol HDL y un decremento en el colesterol LDL, y al incremento de gasto de energía y la disminución de la masa grasa mediante la reducción del número de células adiposas (115). Se ha reportado que la ingesta de productos lácteos se relaciona con una menor prevalencia de sobrepeso u obesidad y un menor IMC, así como una menor circunferencia de la cintura y un pliegue cutáneo subescapular más pequeño (116). Una baja ingesta de calcio en la dieta se ha asociado con la estimulación de la lipogénesis y la reducción de la lipólisis debida a cambios en el flujo de calcio intracelular, mientras que las dietas que incluyen mayores contenidos de calcio promueven la termogénesis y la adiposidad reducida en modelos humanos y animales (117).

Se han propuesto ciertos mecanismos en donde la ingesta de productos lácteos interviene en la reducción de grasa, disminuyendo la disponibilidad de energía por medio del incremento de la saciedad y por una mayor pérdida de grasa fecal debido al incremento de calcio y al aumentando de la utilización de energía por medio de la lipólisis, oxidación y síntesis de lípidos (118-120).

Existe evidencia que sugiere que el aumento de la ingesta de calcio se asocia con alteraciones en el metabolismo energético, en donde varios órganos pueden verse afectados como pueden ser el músculo y el hígado (120).

Una mayor ingesta de calcio en la dieta o productos lácteos se asocia con un aumento de la oxidación de las grasas. Se ha demostrado que una mayor ingesta de calcio auto-seleccionada se asoció con tasas más altas de oxidación de grasa en 35 sujetos no obesos durante 24 h (121, 122).

Los mecanismos por los cuales el calcio dietético puede regular el metabolismo energético pueden ser, que el calcio interviene para regular, los niveles de las hormonas, paratiroidea 3 (PTH) y 1, 2, 5 dihidroxivitamina D (1,2,5 (OH) 2D). Con un bajo consumo de calcio en la dieta, el calcio sérico se reduce, y esta reducción estimula la liberación de PTH. La PTH actúa para activar la 1-hidroxilasa renal que convierte la 2,5-hidroxivitamina D (2,5OHD) en el metabolito activo, 1, 2, 5 (OH) 2D. PTH y 1, 2, 5 (OH) 2D actúan de manera coordinada sobre el intestino, los riñones y el hueso para aumentar los niveles de calcio en suero (123). El aumento de las concentraciones de PTH en ayunas influye en el aumento de los niveles de masa grasa corporal (124-126) una mayor ingesta de calcio podría reducir la 1,2,5-dihidroxivitamina D, por lo tanto, el calcio intracelular, que a su vez puede estimular la lipólisis e inhibir la lipogénesis en adipocitos (127) y aumentar la sensibilidad a la insulina en adipocitos y células musculares (128). Además, la disminución de las concentraciones de calcio intracelular puede reducir la presión arterial al disminuir el tono del músculo liso vascular y la resistencia vascular periférica (127).

Otros componentes de productos lácteos además del calcio que se proponen para alterar el balance energético, son, la composición de aminoácidos, en particular, la abundancia de leucina puede tener un efecto positivo sobre la síntesis de proteínas y el mantenimiento de la masa magra (129, 130). La estimulación de la síntesis de proteínas puede conducir a un reparto de la energía de la masa grasa en masa magra. El uso de proteína de suero, en comparación con la carne roja, en una dieta alta en proteínas y rica en grasas en ratas redujo la ganancia de peso en un 4%, lo que sugiere que la composición de la proteína de suero promueve un balance energético menos positivo que la composición de la carne roja (131).

Se ha demostrado que los niveles de Ca intracelular modulan la actividad lipolítica en los adipocitos humanos, proporcionando así un mecanismo biológico plausible por el

cual el Ca en la dieta podría influir en el peso corporal y el gasto energético (132, 133).

La ingesta de Ca en la dieta está asociada inversamente con los niveles de Ca intracelular, un fenómeno conocido como la "paradoja del calcio" (134). Se ha demostrado en adipocitos humanos y de ratones cultivados que un bajo nivel de Ca intracelular (asociado con un alto consumo de Ca en la dieta) promueve la lipólisis, mientras que un alto nivel de Ca intracelular (asociado con un bajo consumo de Ca) estimula la lipogénesis y la acumulación de grasa. También se ha propuesto que las hormonas calcitróficas, como la hormona paratiroidea y la 1,25 dihidroxivitamina D, podrían influir en el metabolismo de los lípidos en el adipocito, independientemente del Ca dietético (135)

Otro componente de los productos lácteos, el ácido linoleico conjugado, puede afectar el peso corporal. El consumo de CLA se ha asociado con un aumento del colesterol HDL y una disminución del colesterol LDL (115, 136-138), así como un mayor gasto de energía y expresión de proteínas desacopladas, modulación de adipocinas y citocinesis, y menos masa grasa resultante de la menor presencia de células grasas (115, 136).

El CLA puede reducir la grasa corporal al aumentar el gasto de energía, estudios han sugerido que el CLA aumenta el gasto de energía, debido al mayor consumo de oxígeno y por el aumento de la expresión de las proteínas de desacoplamiento por CLA, que son indicadores del gasto de energía (139). El CLA reduce la grasa corporal reduciendo la masa de células adiposas y los números de células, debido a la inhibición de las actividades de la esteroil-CoA desaturasa, potenciando la apoptosis de preadipocitos y adipocitos y modulando la lipólisis, inhibiendo la lipoproteína lipasa en las células adiposas, debido a que la lipoproteína lipasa es la enzima clave para la captación de grasa, la inhibición de la lipoproteína lipasa adiposa produce una reducción de la captación de grasa (140). La esteroil-CoA desaturasa es la enzima limitante de la velocidad para convertir ácidos grasos saturados en ácidos grasos monoinsaturados, el principal sustrato para el depósito de grasa en el tejido adiposo (141).

Se ha informado que el CLA reduce la masa de tejido adiposo y el número de células por el aumento de la apoptosis de preadipocitos y adipocitos (142), esto puede ser debido a la interacción entre el CLA y el receptor- γ activado por el proliferador de peroxisoma (PPAR- γ). PPAR- γ es la superfamilia de receptores nucleares que controla el metabolismo de los lípidos en el tejido adiposo y regula la diferenciación, proliferación y lipogénesis de los adipocitos (LXR α , aP2 o CD36) (143).

Otros estudios sugirieron que el CLA puede afectar la PPAR- γ a través del factor nuclear-kB (NFkB) que controla la señalización celular importante, incluida la proteína quinasa activada por mitógeno / quinasa regulada por señal extracelular, y el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α)(144).

Se ha demostrado que el CLA trans-10, cis-12, activa NFkB tanto en células vasculares estromales como en adipocitos, pero con diferentes funciones. El CLA activa el NFkB en las células vasculares del stromal, lo que resulta en la secreción de interleucina-6, interleucina-8 y TNF- α . Posteriormente, en los adipocitos, estas citoquinas activan la NFkB y también activan la quinasa relacionada con la señal extracelular (ERK), que fosforila la NFkB y otros factores de transcripción que incluyen PPAR- γ , lo que resulta en una expresión reducida del gen adipogénico (145).

El CLA puede reducir la grasa corporal modulando las adipocinas y las citoquinas. Se ha demostrado que el CLA reduce la expresión y la secreción de la leptina (146). La reducción de los niveles de leptina por el CLA puede explicarse por el hecho de que el CLA puede reducir la cantidad total de tejido adiposo (147), por lo tanto puede ayudar a mejorar la sensibilidad a la insulina y parece ser un mediador clave en muchas patologías crónicas, incluida la obesidad (148).

Por último, el CLA aumenta la oxidación de ácidos grasos en el músculo esquelético (149). Esto fue sugerido por una mayor actividad de la carnitina palmitoil transferasa I (CPT I, la enzima limitante de la velocidad para la β -oxidación de ácidos grasos) en el músculo esquelético (147). Aunado a la asociación que existe entre la leche y el IGF-1, se realizó un estudio correlacional para ver su comportamiento y se obtuvo

que el consumo de leche tiene una correlación positiva ($r= 0.237$; $p= 0.002$) con los niveles arriba de la media de IGF-1, lo que indicaría que al aumentar el consumo de leche aumentaría los niveles de IGF-1, sustentando estos resultados con el odds ratio obtenido, el cual muestra el consumo de leche como un factor que induce a presentar niveles de IGF-1 arriba de la media (OR=17.09; IC.95%=3.63-19.10; $p=0.003$). Se ha reportado que el consumo de leche en infantes (>500 mL/día) puede aumentar los niveles de IGF-1 e incrementarlos en un rango del 9% al 20% ($p<0.05$) (150), al igual que en adultos el consumo de leche aumenta los niveles de IGF-1 en un 10% (151). Ciertas teorías establecen que el aumento en los niveles de IGF-1 en personas que consumen leche es debido a que la leche de vaca contiene IGF-1 que es estructuralmente idéntico al IGF-1 humano (1), además de estudios en ratas sugieren una absorción intacta (152). Nuestros estudios sugieren que existe una correlación negativa entre el IMC y los niveles de IGF-1 arriba de la media ($r=-0.147$ $p=0.056$), estos resultados concuerdan con estudios previos donde demuestran que niveles deficientes de IGF-1 se asocian con IMC elevado (153). Esto pudiera ser debido a que los IGF's pueden activar la ruta Raf-1/MEK/ERK resultando en la proliferación celular (154) provocando así un gasto energético mayor y por consecuente una reducción en la masa grasa.

El presente estudio sugiere que la presencia del polimorfismo rs6214 del gen IGF-1 se asocia con valores de IMC saludables ($<24,99$) y altos niveles de masa magra, además de que la presencia en al menos en uno de los alelos mutados en cualquier de los modelos de herencia está relacionado con niveles elevados de IGF-1. Se ha reportado que varios polimorfismos del *IGF1* como el rs6214 el cual está asociado con niveles elevados de IGF-1 circulante. Dicho polimorfismo está ubicado en una región 3' no traducida, el cual no causa ningún cambio de aminoácido en sí mismo. Sin embargo, puede tener funciones reguladoras o podría estar vinculado con alelos funcionales (155) lo que podría estar incrementando el papel y la estructura de los ARN, incluida la regulación y traducción de los ARN mensajeros en proteínas (156, 157). Este mecanismo induce una mayor expresión de IGF-1, que a

su vez promueve la síntesis de proteínas en el músculo esquelético y su regulación durante el crecimiento (112, 158).

Estudios realizados encontraron que el polimorfismo rs6214 podría aumentar las concentraciones de IGF-1, al aumentar la expresión del ARNm del IGF-1 (87, 159). En este sentido, un estudio realizado por Velloso (2008) informó una asociación entre los altos niveles de IGF-1, responsable de la presencia de polimorfismo, y el aumento de la masa muscular (47), lo que podría explicar los resultados obtenidos en el presente estudio. La interacción entre el consumo de leche y la presencia de polimorfismo de IGF-1 en relación con la obesidad puede deberse a CLA, el cual es un proliferador de peroxisomas (160-164), el cual tiene un importante rol en la alteración de la expresión genética (164-166) estimulando las acciones biológicas del IGF-1: supervivencia y división celular (166, 167). A la inversa, los resultados obtenidos por Yang *et al.*(168), que asociaron la presencia del polimorfismo rs6214 con una masa musculo esquelética apendicular baja, difieren de nuestros resultados, probablemente como resultado de las diferencias entre las poblaciones de estudio; Yang *et al.* trabajaron con una población china de adultos mayores (entre 70 y 75 años), mientras que nuestro estudio utilizó un rango de edad de 20 a 59 años. La pérdida de masa muscular en adultos mayores es un fenómeno natural, por lo tanto, el polimorfismo no puede asociarse directamente con una masa musculo esquelética apendicular baja.

15 CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente estudio nos permiten sugerir que las personas que portan el alelo mutado (T) del polimorfismo rs6214 del gen *IGF1* y consumen leche regularmente, se mantienen dentro del rango de peso normal (18-24.99), así como favorecer la presencia de niveles arriba de la media de IGF-1, presentar masa magra elevada y bajo % grasa y grasa visceral e incluso se presenta IMC menor.

En consecuencia, la ingesta de leche y la presencia del variante alelo del polimorfismo rs6214 de IGF-1 podrían ser factores relevantes en la prevalencia de obesidad entre los habitantes de Durango, México.

16 BIBLIOGRAFÍA

1. Daxenberger A, Sauerwein H, Breier BH. Increased milk levels of insulin-like growth factor 1 (IGF-1) for the identification of bovine somatotropin (bST) treated cows. *Analyst*1998;123(12):2429-35.
2. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT). Mexico 2016 [cited 2016 31 Octubre]; Available from: http://promocion.salud.gob.mx/dgps/descargas1/doctos_2016/ensanut_mc_2016-310oct.pdf.
3. Organisation for Economic Co-operation and Development. FRANCIA2017 [cited 2019 5 noviembre]; Available from: http://oment.uanl.mx/descarga/obesity-update-2017_ocde.pdf.
4. Moreno GM. Definición y clasificación de la obesidad. *Revista Médica Clínica Las Condes*2012;23(2):124-8.
5. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2019 [cited 2019 28 mayo].
6. (OMS) OMDIS. Obesidad y sobrepeso febrero de 2018; Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
7. Organization WH. World health statistics 2016: monitoring health for the SDGs sustainable development goals: World Health Organization; 2017.
8. Gakidou E, Afshin A, Abajobir AA, Abate KH, Abbafati C, Abbas KM, et al. Global, regional, and national comparative risk assessment of 84 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet*2017;390(10100):1345-422.
9. Ismael Campos Nonato LCN, Luz Dinorah González Castell, Lucía Hernández Barrera TSL, Teresita González de Cosío Martínez JÁRD. Epidemiología de la obesidad y sus principales comorbilidades en México. In: Juan Ángel Rivera Dommarco, M. Arantxa Colchero MLF, Teresita González de Cosío Martínez CAAS, Gonzalo Hernández Licona SB, editors. *La obesidad en México Estado de la política pública y recomendaciones para su prevención y control*. Cuernavaca: Instituto Nacional de Salud Pública. México2018. p. 31-40.
10. Villalpando S, Shamah-Levy T, Rojas R, Aguilar-Salinas CA. Trends for type 2 diabetes and other cardiovascular risk factors in Mexico from 1993–2006. *salud pública de méxico*2010;52:S72-S9.
11. Compare G. Viz Hub: The Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors Study (Data Visualizations).
12. Monfil CC. Obesidad infanto-juvenil. *Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia*2015.
13. Prieto IR. Obesidad y genes asociados. *Trastornos de la conducta alimentaria*2012(16):1813-30.
14. Cordido F, Penalva A, Dieguez C, Casanueva FF. Massive growth hormone (GH) discharge in obese subjects after the combined administration of GH-releasing hormone and GHRP-6: evidence for a marked somatotroph secretory capability in obesity. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*1993;76(4):819-23.
15. Clasey JL, Weltman A, Patrie J, Weltman JY, Pezzoli S, Bouchard C, et al. Abdominal visceral fat and fasting insulin are important predictors of 24-hour GH release independent of age, gender, and other physiological factors. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*2001;86(8):3845-52.
16. Álvarez-Castro P, Sangiao-Alvarellos S, Brandón-Sandá I, Cordido F. Función endocrina en la obesidad. *Endocrinología y Nutrición*2011;58(8):422-32.

17. Manuel Moreno G. Definición y clasificación de la obesidad. *Revista Médica Clínica Las Condes* 2012;23(2):124-8.
18. Formiguera X, Cantón A. Obesity: epidemiology and clinical aspects. *Best practice & research Clinical gastroenterology* 2004;18(6):1125-46.
19. Rajala MW, Scherer PE. Minireview: the adipocyte—at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. *Endocrinology* 2003;144(9):3765-73.
20. Kahn B, Flier JS. Obesity and insulin resistance *J Clin Invest* 2000;106:473-81.
21. Hotamisligil G. The role of TNF α and TNF receptors in obesity and insulin resistance. *Journal of internal medicine* 1999;245(6):621-5.
22. Griffin ME, Marcucci MJ, Cline GW, Bell K, Barucci N, Lee D, et al. Free fatty acid-induced insulin resistance is associated with activation of protein kinase C θ and alterations in the insulin signaling cascade. *Diabetes* 1999;48(6):1270-4.
23. Williams PT, Krauss RM. Associations of age, adiposity, menopause, and alcohol intake with low-density lipoprotein subclasses. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 1997;17(6):1082-90.
24. Coggon D, Reading I, Croft P, McLaren M, Barrett D, Cooper C. Knee osteoarthritis and obesity. *International journal of obesity* 2001;25(5):622.
25. Young T, Palta M, Dempsey J, Skatrud J, Weber S, Badr S. The occurrence of sleep-disordered breathing among middle-aged adults. *New England Journal of Medicine* 1993;328(17):1230-5.
26. Spiegelman BM, Flier JS. Obesity and the regulation of energy balance. *cell* 2001;104(4):531-43.
27. Sansbury BE, Hill BG. Regulation of obesity and insulin resistance by nitric oxide. *Free Radic Biol Med* 2014;73:383-99.
28. Elmquist JK, Ahima RS, Elias CF, Flier JS, Saper CB. Leptin activates distinct projections from the dorsomedial and ventromedial hypothalamic nuclei. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95(2):741-6.
29. Stanley BG, Kyrkouli SE, Lampert S, Leibowitz SF. Neuropeptide Y chronically injected into the hypothalamus: a powerful neurochemical inducer of hyperphagia and obesity. *Peptides* 1986;7(6):1189-92.
30. Suzuki K, Simpson KA, Minnion JS, Shillito JC, Bloom SR. The role of gut hormones and the hypothalamus in appetite regulation. *Endocrine journal* 2010;57(5):359-72.
31. Harper M-E, Green K, Brand MD. The efficiency of cellular energy transduction and its implications for obesity. *Annu Rev Nutr* 2008;28:13-33.
32. Tseng Y-H, Cypess AM, Kahn CR. Cellular bioenergetics as a target for obesity therapy. *Nature Reviews Drug Discovery* 2010;9(6):465.
33. Muniz FJS, editor. La obesidad un grave problema de Salud Pública. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*; 2016.
34. Daza CH. La obesidad: un desorden metabólico de alto riesgo para la salud. *Colombia Médica* 2002;33(2):72-80.
35. Ponce G, De León P, Acosta H, Elena M, Torres MAA, Soria AAN, et al. Obesidad y tejido adiposo. *Revista Salud Pública y Nutrición* 2010;11(2).
36. Aguilar-Salinas CA. Mesa redonda XXV. Adiposidad abdominal como factor de riesgo para enfermedades crónicas. *salud pública de méxico* 2007;49:311-6.
37. Marcela RJ. Características biológicas del tejido adiposo: el adipocito como célula endocrina. *Revista Médica Clínica Las Condes* 2012;23(2):136-44.
38. Argente J, Ga M-M, Hernández M. Mesa Redonda: El tejido adiposo como glándula endocrina. *Obesidad y síndrome metabólico. Bol Pediatr* 2006;46(198):9.
39. Langhans W. Role of the liver in the metabolic control of eating: what we know—and what we do not know. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 1996;20(1):145-53.

40. St-Onge M-P, Goree LLT, Gower B. High-milk supplementation with healthy diet counseling does not affect weight loss but ameliorates insulin action compared with low-milk supplementation in overweight children. *The Journal of nutrition*2009;139(5):933-8.
41. Striegel-Moore RH, Thompson D, Affenito SG, Franko DL, Obarzanek E, Barton BA, et al. Correlates of beverage intake in adolescent girls: the National Heart, Lung, and Blood Institute Growth and Health Study. *The Journal of pediatrics*2006;148(2):183-7.
42. Berkey CS, Rockett HR, Willett WC, Colditz GA. Milk, dairy fat, dietary calcium, and weight gain: a longitudinal study of adolescents. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*2005;159(6):543-50.
43. Barr SI. Calcium and Body Fat in Peripubertal Girls: Cross-sectional and Longitudinal Observations. *Obesity*2007;15(5):1302-10.
44. Gibson RA, Makrides M, Smithers LG, Voevodin M, Sinclair AJ. The effect of dairy foods on CHD: a systematic review of prospective cohort studies. *British journal of Nutrition*2009;102(9):1267-75.
45. Givens D. Milk and meat in our diet: good or bad for health? *Animal*2010;4(12):1941-52.
46. Velloso C. Regulation of muscle mass by growth hormone and IGF-I. *British journal of pharmacology*2008;154(3):557-68.
47. Velloso CP. Regulation of muscle mass by growth hormone and IGF-I. *British journal of pharmacology*2008 Jun;154(3):557-68.
48. Arce V, Tresguerres J, Devesa J. Hormona de crecimiento. *FISIOLOGÍA HUMANA*2000. p. 847.
49. Qiu H, Yang J-K, Chen C. Influence of insulin on growth hormone secretion, level and growth hormone signalling. *Sheng li xue bao:[Acta physiologica Sinica]*2017;69(5):541-56.
50. Gerland K, Bataillé-Simoneau N, Baslé M, Fourcin M, Gascan H, Mercier L. Activation of the Jak/Stat signal transduction pathway in GH-treated rat osteoblast-like cells in culture. *Molecular and cellular endocrinology*2000;168(1-2):1-9.
51. Laron Z. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1): a growth hormone. *Molecular Pathology*2001;54(5):311.
52. Vaessen N, Heutink P, Janssen JA, Witteman JC, Testers L, Hofman A, et al. A polymorphism in the gene for IGF-I: functional properties and risk for type 2 diabetes and myocardial infarction. *Diabetes*2001;50(3):637-42.
53. Rodgers BD, Roalson EH, Thompson C. Phylogenetic analysis of the insulin-like growth factor binding protein (IGFBP) and IGFBP-related protein gene families. *General and comparative endocrinology*2008;155(1):201-7.
54. Pandini G, Frasca F, Mineo R, Sciacca L, Vigneri R, Belfiore A. Insulin/insulin-like growth factor I hybrid receptors have different biological characteristics depending on the insulin receptor isoform involved. *Journal of Biological Chemistry*2002;277(42):39684-95.
55. Bach L, Hsieh S, Sakano K-I, Fujiwara H, Perdue J, Rechler M. Binding of mutants of human insulin-like growth factor II to insulin-like growth factor binding proteins 1-6. *Journal of Biological Chemistry*1993;268(13):9246-54.
56. Bolster DR, Jefferson LS, Kimball SR. Regulation of protein synthesis associated with skeletal muscle hypertrophy by insulin-, amino acid-and exercise-induced signalling. *Proceedings of the Nutrition Society*2004;63(2):351-6.
57. Cho H, Thorvaldsen JL, Chu Q, Feng F, Birnbaum MJ. Akt1/PKB α is required for normal growth but dispensable for maintenance of glucose homeostasis in mice. *Journal of Biological Chemistry*2001;276(42):38349-52.
58. Kimball SR, Shantz LM, Horetsky RL, Jefferson LS. Leucine regulates translation of specific mRNAs in L6 myoblasts through mTOR-mediated changes in availability of eIF4E and phosphorylation of ribosomal protein S6. *Journal of Biological Chemistry*1999;274(17):11647-52.

59. Stitt TN, Drujan D, Clarke BA, Panaro F, Timofeyva Y, Kline WO, et al. The IGF-1/PI3K/Akt pathway prevents expression of muscle atrophy-induced ubiquitin ligases by inhibiting FOXO transcription factors. *Molecular cell*2004;14(3):395-403.
60. Mammucari C, Milan G, Romanello V, Masiero E, Rudolf R, Del Piccolo P, et al. FoxO3 controls autophagy in skeletal muscle in vivo. *Cell metabolism*2007;6(6):458-71.
61. Laron Z. Hormona de crecimiento y factor de crecimiento insulinoide tipo 1: ¿Benefician o perjudican el envejecimiento? *Revista española de geriatría y gerontología: Organo oficial de la Sociedad Española de Geriatría y Gerontología*2006;41(3):147-9.
62. Conchillo M, Prieto J, Quiroga J. Factor de crecimiento semejante a la insulina tipo I (IGF-I) y cirrosis hepática. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*2007;99(3):156-64.
63. Oliveira CRP, Moreno RAM, Oliveira MHdA, Barreto Filho JAS. Papel emergente do eixo GH/IGF-I no controle cardiometabólico. 2011.
64. Gonzalez PN, Kristensen E, Morck DW, Boyd S, Hallgrímsson B. Effects of growth hormone on the ontogenetic allometry of craniofacial bones. *Evolution & development*2013;15(2):133-45.
65. Litsas G. Growth hormone therapy and craniofacial bones: a comprehensive review. *Oral diseases*2013;19(6):559-67.
66. Litsas G. Growth hormone and craniofacial tissues. An update. *The open dentistry journal*2015;9:1.
67. Ruiz Gutiérrez DA. Hormona de crecimiento recombinante (rhGH) y crecimiento craneofacial. 2019.
68. Green H, Morikawa M, Mxon T. A dual effector theory of growth-hormone action. *Differentiation*1985;29(2):195-8.
69. Druckmann R, Rohr U. IGF-1 in gynaecology and obstetrics: update 2002. *Maturitas*2002;41:65-83.
70. Mezquita Raya P, Muñoz Torres M. Importancia del IGF-I en el metabolismo óseo. *Revista Española de Enfermedades Metabólicas Óseas*2003;12(6):117-9.
71. Rosen CJ, Conover C. Growth hormone/insulin-like growth factor-I axis in aging: a summary of a National Institutes of Aging-Sponsored Symposium. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*1997;82(12):3919-22.
72. Daci E, Van Cromphaut S, Bouillon R. Mechanisms influencing bone metabolism in chronic illness. *Hormone research in paediatrics*2002;58(Suppl. 1):44-51.
73. Laron Z, Blum W, Chatelain P, Ranke M, Rosenfeld R, Savage M, et al. Classification of growth hormone insensitivity syndrome. *The Journal of pediatrics*1993;122(2):241.
74. Bachrach LK, Marcus R, Ott SM, Rosenbloom AL, Vasconez O, Martinez V, et al. Bone mineral, histomorphometry, and body composition in adults with growth hormone receptor deficiency. *Journal of Bone and Mineral Research*1998;13(3):415-21.
75. Kaji H, Sugimoto T, Nakaoka D, Okimura Y, Kaji H, Abe H, et al. Bone metabolism and body composition in Japanese patients with active acromegaly. *Clinical endocrinology*2001;55(2):175-81.
76. Langlois JA, Rosen CJ, Visser M, Hannan MT, Harris T, Wilson PW, et al. Association between insulin-like growth factor I and bone mineral density in older women and men: the Framingham Heart Study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*1998;83(12):4257-62.
77. Vignal A, Milan D, SanCristobal M, Eggen A. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics Selection Evolution*2002;34(3):275.
78. Wernicke S. On the algorithmic tractability of single nucleotide polymorphism (SNP) analysis and related problems: diplom. de; 2014.
79. Li W-H, Gojobori T, Nei M. Pseudogenes as a paradigm of neutral evolution. *Nature*1981;292(5820):237.

80. Martínez-Arias R, Calafell F, Mateu E, Comas D, Andrés A, Bertranpetit J. Sequence variability of a human pseudogene. *Genome research*2001;11(6):1071-85.
81. De R, Bush WS, Moore JH. Bioinformatics challenges in genome-wide association studies (GWAS). *Clinical Bioinformatics: Springer*; 2014. p. 63-81.
82. Sadee W. Measuring cis-acting regulatory variants genome-wide: new insights into expression genetics and disease susceptibility. *Genome medicine*2009;1(12):116.
83. Ramírez-Bello J, Pérez-Méndez O, Ramírez-Fuentes S, Carrillo-Sánchez S, Vargas-Alarcón G, Fragoso J. Genetic and genomic studies in the hypertension: an actualization of the genomic studies. *Archivos de cardiología de Mexico*2011;81(3):240-50.
84. Hunt R, Sauna ZE, Ambudkar SV, Gottesman MM, Kimchi-Sarfaty C. Silent (synonymous) SNPs: should we care about them? *Single Nucleotide Polymorphisms: Springer*; 2009. p. 23-39.
85. Ramírez-Bello J, Jiménez-Morales M. Implicaciones funcionales de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en genes codificantes de proteínas y no codificantes en enfermedades multifactoriales. *Gaceta Médica de México*2017;153(2):238-50.
86. Zhao J, Xiong D-H, Guo Y, Yang T-L, Recker RR, Deng H-W. Polymorphism in the insulin-like growth factor 1 gene is associated with age at menarche in caucasian females. *Human Reproduction*2007;22(6):1789-94.
87. Vella A, Bouatia-Naji N, Heude B, Cooper JD, Lowe CE, Petry C, et al. Association analysis of the IGF1 gene with childhood growth, IGF-1 concentrations and type 1 diabetes. *Diabetologia*2008;51(5):811-5.
88. Lu L, Wang F, He L, Xue Y, Wang Y, Zhang H, et al. Interaction between IGF1 polymorphisms and the risk of acute lymphoblastic leukemia in Chinese children. *Cellular physiology and biochemistry*2015;36(4):1346-58.
89. Metlapally R, Ki C-S, Li Y-J, Tran-Viet K-N, Abbott D, Malecaze F, et al. Genetic association of insulin-like growth factor-1 polymorphisms with high-grade myopia in an international family cohort. *Investigative ophthalmology & visual science*2010;51(9):4476-9.
90. Feik E, Baierl A, Hieger B, Führlinger G, Pentz A, Stättner S, et al. Association of IGF1 and IGFBP3 polymorphisms with colorectal polyps and colorectal cancer risk. *Cancer Causes & Control*2010;21(1):91-7.
91. Ong J, Salomon J, te Morsche RH, Roelofs HM, Witteman BJ, Dura P, et al. Polymorphisms in the insulin-like growth factor axis are associated with gastrointestinal cancer. *PloS one*2014;9(3):e90916.
92. Rzehak P, Grote V, Lattka E, Weber M, Gruszfeld D, Socha P, et al. Associations of IGF-1 gene variants and milk protein intake with IGF-I concentrations in infants at age 6 months—results from a randomized clinical trial. *Growth Hormone & IGF Research*2013;23(5):149-58.
93. Guías Alimentarias y de Actividad Física para Población Mexicana Mexico2015; Available from: <http://guiasalimentacionyactividadfisica.org.mx/ps>.
94. Rosenthal R, Rubin DB. A simple, general purpose display of magnitude of experimental effect. *Journal of educational psychology*1982;74(2):166.
95. Rosenthal R, Rubin DB. The counternull value of an effect size: A new statistic. *Psychological Science*1994;5(6):329-34.
96. CORP. I. IBM SPSS Statistics para windows. 23.0 ed. Armonk,NY2013.
97. Marín-Quiroga A, Villanueva-Fierro I, Rodríguez-Pérez MA, Lares-Asseff IA, Cháirez-Hernández I, Proal-Nájera JB. Asociación del contenido del factor de crecimiento insulínico tipo 1 con leche entera, semi-descremada y descremada en México. *Agrociencia*2015;49(2):113-23.
98. Collier RJ, Miller M, Hildebrandt J, Torkelson A, White T, Madsen K, et al. Factors affecting insulin-like growth factor-I concentration in bovine milk. *Journal of dairy science*1991;74(9):2905-11.

99. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquería. Mexico 2017 [cited 2017 15 diciembre]; Available from: http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/Brochure%20leche_Diciembre2017.pdf.
100. Bel-Serrat S, Mouratidou T, Jiménez-Pavón D, Huybrechts I, Cuenca-García M, Mistura L, et al. Is dairy consumption associated with low cardiovascular disease risk in European adolescents? Results from the HELENA Study. *Pediatric obesity*2014;9(5):401-10.
101. Rodríguez-Rodríguez E, Perea JM, López-Sobaler AM, Ortega RM. An adequate calcium intake could help achieve weight loss in overweight/obese women following hypocaloric diets. *Annals of nutrition & metabolism*2010;57(2):95-102.
102. Zemel M, Richards J, Mathis S, Milstead A, Gebhardt L, Silva E. Dairy augmentation of total and central fat loss in obese subjects. *Int J Obes*2005;29(4):391.
103. Drehmer M, Pereira MA, Schmidt MI, Alvim S, Lotufo PA, Luft VC, et al. Total and full-fat, but not low-fat, dairy product intakes are inversely associated with metabolic syndrome in adults. *J Nutr*2015;146(1):81-9.
104. Bermúdez V, Martínez MS, Chávez-Castillo M, Olivar LC, Morillo J, Mejías JC, et al. Relationship between alcohol consumption and components of the metabolic syndrome in adult population from Maracaibo City, Venezuela. *Ad prev med*2015;2015.
105. Summerbell CD, Watts C, Higgins JP, Garrow JS. Randomised controlled trial of novel, simple, and well supervised weight reducing diets in outpatients. *BMJ (Clinical research ed)*1998;317(7171):1487-9.
106. Zemel M, Richards J, Mathis S, Milstead A, Gebhardt L, Silva E. Dairy augmentation of total and central fat loss in obese subjects. *International journal of obesity*2005;29(4):391.
107. Abreu S, Moreira P, Moreira C, Mota J, Moreira-Silva I, Santos P-C, et al. Intake of milk, but not total dairy, yogurt, or cheese, is negatively associated with the clustering of cardiometabolic risk factors in adolescents. *Nutr Res*2014;34(1):48-57.
108. Astrup A, Raben A, Geiker N. The role of higher protein diets in weight control and obesity-related comorbidities. *Int J Obes*2015;39(5):721.
109. Gilbert J-A, Bendtsen NT, Tremblay A, Astrup A. Effect of proteins from different sources on body composition. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*2011;21:B16-B31.
110. Booth AO, Huggins CE, Wattanapenpaiboon N, Nowson CA. Effect of increasing dietary calcium through supplements and dairy food on body weight and body composition: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Br J Nutr*2015;114(7):1013-25.
111. Villarroel P, Villalobos E, Reyes M, Cifuentes M. Calcium, obesity, and the role of the calcium-sensing receptor. *Nutr Rev*2014;72(10):627-37.
112. Yang B, Chen H, Stanton C, Ross RP, Zhang H, Chen YQ, et al. Review of the roles of conjugated linoleic acid in health and disease. *J Funct Foods*2015;15:314-25.
113. Bendtsen LQ, Lorenzen JK, Bendtsen NT, Rasmussen C, Astrup A. Effect of dairy proteins on appetite, energy expenditure, body weight, and composition: a review of the evidence from controlled clinical trials. *Adv Nutr*2013;4(4):418-38.
114. Fernández Fernández E, Martínez Hernández JA, Martínez Suárez V, Villares M, Manuel J, Collado Yurrita LR, et al. Documento de Consenso: importancia nutricional y metabólica de la leche. *Nutr Hosp*2015;31(1):92-101.
115. Kim JH, Kim Y, Kim YJ, Park Y. Conjugated linoleic acid: potential health benefits as a functional food ingredient. *Ann Rev food Sci Technol*2016;7:221-44.
116. Keast D, Hill Gallant K, Albertson A, Gugger C, Holschuh N. Associations between yogurt, dairy, calcium, and vitamin D intake and obesity among US children aged 8–18 years: NHANES, 2005–2008. *Nutrients*2015;7(3):1577-93.
117. Zemel MB, Zhao F. Role of whey protein and whey components in weight management and energy metabolism. *Journal of hygiene research*2009 Jan;38(1):114-7.

118. Papakonstantinou E, Flatt WP, Huth PJ, Harris RB. High dietary calcium reduces body fat content, digestibility of fat, and serum vitamin D in rats. *Obesity research*2003;11(3):387-94.
119. Jacobsen R, Lorenzen J, Toubro S, Krog-Mikkelsen I, Astrup A. Effect of short-term high dietary calcium intake on 24-h energy expenditure, fat oxidation, and fecal fat excretion. *International journal of obesity*2005;29(3):292.
120. Teegarden D. The influence of dairy product consumption on body composition. *The Journal of nutrition*2005;135(12):2749-52.
121. Melanson E, Sharp T, Schneider J, Donahoo W, Grunwald G, Hill J. Relation between calcium intake and fat oxidation in adult humans. *International journal of obesity*2003;27(2):196.
122. Gunther CW, Lyle RM, Legowski PA, James JM, McCabe LD, McCabe GP, et al. Fat oxidation and its relation to serum parathyroid hormone in young women enrolled in a 1-y dairy calcium intervention. *The American journal of clinical nutrition*2005;82(6):1228-34.
123. Teegarden D. The influence of dairy product consumption on body composition. *J Nutr*2005 Dec;135(12):2749-52.
124. McCarty M, Thomas C. PTH excess may promote weight gain by impeding catecholamine-induced lipolysis-implications for the impact of calcium, vitamin D, and alcohol on body weight. *Medical hypotheses*2003;61(5-6):535-42.
125. Gunther C, Legowski P, Lyle R, Weaver C, McCabe L, McCabe G, et al. Parathyroid hormone is associated with decreased fat mass in young healthy women. *International journal of obesity*2006;30(1):94.
126. Parikh SJ, Edelman M, Uwaifo GI, Freedman RJ, Semega-Janneh M, Reynolds J, et al. The relationship between obesity and serum 1, 25-dihydroxy vitamin D concentrations in healthy adults. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*2004;89(3):1196-9.
127. Zemel MB. Calcium modulation of hypertension and obesity: mechanisms and implications. *Journal of the American College of Nutrition*2001;20(sup5):428S-35S.
128. Lee S, Clark SA, Gill RK, Christakos S. 1, 25-Dihydroxyvitamin D₃ and pancreatic beta-cell function: vitamin D receptors, gene expression, and insulin secretion. *Endocrinology*1994;134(4):1602-10.
129. Layman DK. The role of leucine in weight loss diets and glucose homeostasis. *The Journal of nutrition*2003;133(1):261S-7S.
130. Layman DK, Baum JI. Dietary protein impact on glycemic control during weight loss. *The Journal of nutrition*2004;134(4):968S-73S.
131. Belobrajdic DP, McIntosh GH, Owens JA. A high-whey-protein diet reduces body weight gain and alters insulin sensitivity relative to red meat in wistar rats. *The Journal of nutrition*2004;134(6):1454-8.
132. Zemel MB, Shi H, GREER B, DIRIENZO D, ZEMEL PC. Regulation of adiposity by dietary calcium. *The FASEB Journal*2000;14(9):1132-8.
133. Xue B, Greenberg AG, Kraemer FB, Zemel MB. Mechanism of intracellular calcium ([Ca²⁺]_i) inhibition of lipolysis in human adipocytes. *The FASEB Journal*2001;15(13):2527-9.
134. Zemel MB. Regulation of adiposity and obesity risk by dietary calcium: mechanisms and implications. *Journal of the American College of Nutrition*2002;21(2):146S-51S.
135. Shi H, Norman AW, Okamura WH, Sen A, Zemel MB. 1 α , 25-Dihydroxyvitamin D₃ modulates human adipocyte metabolism via nongenomic action. *The FASEB Journal*2001;15(14):2751-3.
136. Park Y, Pariza MW. Mechanisms of body fat modulation by conjugated linoleic acid (CLA). *Food Res Int*2007;40(3):311-23.
137. Chen S-C, Lin Y-H, Huang H-P, Hsu W-L, Houg J-Y, Huang C-K. Effect of conjugated linoleic acid supplementation on weight loss and body fat composition in a Chinese population. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif)*2012;28(5):559-65.

138. Ferlay A, Bernard L, Meynadier A, Malpuech-Brugère C. Production of trans and conjugated fatty acids in dairy ruminants and their putative effects on human health: A review. *Biochimie*2017;141:107-20.
139. Choi JS, Jung MH, Park HS, Song J. Effect of conjugated linoleic acid isomers on insulin resistance and mRNA levels of genes regulating energy metabolism in high-fat-fed rats. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif)*2004;20(11-12):1008-17.
140. Park Y, Storkson JM, Liu W, Albright KJ, Cook ME, Pariza MW. Structure-activity relationship of conjugated linoleic acid and its cognates in inhibiting heparin-releasable lipoprotein lipase and glycerol release from fully differentiated 3T3-L1 adipocytes. *The Journal of nutritional biochemistry*2004;15(9):561-8.
141. Cohen P, Miyazaki M, Socci ND, Hagge-Greenberg A, Liedtke W, Soukas AA, et al. Role for stearyl-CoA desaturase-1 in leptin-mediated weight loss. *science*2002;297(5579):240-3.
142. Hargrave KM, Meyer BJ, Li C, Azain MJ, Baile CA, Miner JL. Influence of dietary conjugated linoleic acid and fat source on body fat and apoptosis in mice. *Obesity research*2004;12(9):1435-44.
143. Ntambi J, Choi Y, Kim Y. Regulation of stearyl-CoA desaturase by conjugated linoleic acid. *Advances in Conjugated linoleic acid*1999;1:340-7.
144. Brown JM, Boysen MS, Chung S, Fabiyi O, Morrison RF, Mandrup S, et al. Conjugated Linoleic Acid Induces Human Adipocyte Delipidation AUTOCRINE/PARACRINE REGULATION OF MEK/ERK SIGNALING BY ADIPOCYTOKINES. *Journal of Biological Chemistry*2004;279(25):26735-47.
145. Chung S, Brown JM, Provo JN, Hopkins R, McIntosh MK. Conjugated linoleic acid promotes human adipocyte insulin resistance through NFκB-dependent cytokine production. *Journal of Biological Chemistry*2005;280(46):38445-56.
146. Inoue N, Nagao K, Hirata J, Wang Y-M, Yanagita T. Conjugated linoleic acid prevents the development of essential hypertension in spontaneously hypertensive rats. *Biochemical and biophysical research communications*2004;323(2):679-84.
147. Nagao K, Inoue N, Wang Y-M, Shirouchi B, Yanagita T. Dietary conjugated linoleic acid alleviates nonalcoholic fatty liver disease in Zucker (fa/fa) rats. *The Journal of nutrition*2005;135(1):9-13.
148. Hotamisligil GS, Spiegelman BM. Tumor necrosis factor α : a key component of the obesity-diabetes link. *Diabetes*1994;43(11):1271-8.
149. Wahle KW, Heys SD, Rotondo D. Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health? *Progress in lipid research*2004;43(6):553-87.
150. Wiley AS, Joshi SM, Lubree HG, Bhat DS, Memane NS, Raut DA, et al. IGF-I and IGFBP-3 concentrations at 2 years: associations with anthropometry and milk consumption in an Indian cohort. *European journal of clinical nutrition*2018 2018/04/01;72(4):564-71.
151. Barrea L, Di Somma C, Macchia PE, Falco A, Savanelli MC, Orio F, et al. Influence of nutrition on somatotrophic axis: Milk consumption in adult individuals with moderate-severe obesity. *Clin Nutr*2017;36(1):293-301.
152. Hoeflich A, Meyer Z. Functional analysis of the IGF-system in milk. *Best prac research Clinical Endocrinol Metabol*2017;31(4):409-18.
153. Koca TT, Berk E, Seyithanoğlu M, Koçyiğit BF, Demirel A. Relationship of leptin, growth hormone, and insulin-like growth factor levels with body mass index and disease severity in patients with fibromyalgia syndrome. *Acta Neurol Belg*2018:1-5.
154. Iams WT, Lovly CM. Molecular pathways: clinical applications and future direction of insulin-like growth factor-1 receptor pathway blockade. *Clin Cancer Res*2015;21(19):4270-7.
155. Xu G-P, Chen W-X, Xie W-Y, Wu L-F. The association between IGF1 Gene 3'-UTR polymorphisms and cancer risk: A Meta-analysis. *Medicine*2018;97(51).

156. Sadee W, Wang D, Papp A, Pinsonneault J, Smith R, Moyer R, et al. Pharmacogenomics of the RNA world: structural RNA polymorphisms in drug therapy. *Clin Pharmacol Ther*2011;89(3):355-65.
157. Buroker NE. Computational EPAS1 rSNP analysis, transcriptional factor binding sites and high altitude sickness or adaptation. *J Proteom Genom Res*2016;1(4):31.
158. Grounds MD. Reasons for the degeneration of ageing skeletal muscle: a central role for IGF-1 signalling. *Biogerontology*2002;3(1-2):19-24.
159. Lu L, Wang F, He L, Xue Y, Wang Y, Zhang H, et al. Interaction between IGF1 polymorphisms and the risk of acute lymphoblastic leukemia in Chinese children. *Cell Physiol Biochem*2015;36(4):1346-58.
160. Belury MA. Dietary conjugated linoleic acid in health: physiological effects and mechanisms of action. *Ann Rev Nutr*2002;22(1):505-31.
161. Belury MA, Moya-Camarena SY, Liu K-L, Heuvel JPV. Dietary conjugated linoleic acid induces peroxisome-specific enzyme accumulation and ornithine decarboxylase activity in mouse liver. *J Nutr Biochem*1997;8(10):579-84.
162. Sandoval A, Manzur F, Gómez D, Gómez C. Receptores nucleares y metabolismo de lípidos: implicaciones cardiovasculares. *Rev Colomb Cardiol*2009;16:29-34.
163. Ramiah SK, Meng GY, Ebrahimi M. Upregulation of peroxisome proliferator-activated receptors and liver fatty acid binding protein in hepatic cells of broiler chicken supplemented with conjugated linoleic acids. *Itali J Animal Sci*2015;14(3):3846.
164. Ramiah S, Meng G, Ebrahimi M. Physiological and pathophysiological aspects of peroxisome proliferator-activated receptor regulation by fatty acids in poultry species. *World Poultry Sci J*2016;72(3):551-62.
165. Lemberger T, Desvergne B, Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: a nuclear receptor signaling pathway in lipid physiology. *Ann Rev Cell Dev Biol*1996;12(1):335-63.
166. Zhao XR, Gonzales N, Aronowski J. Pleiotropic Role of PPAR γ in Intracerebral Hemorrhage: An Intricate System Involving Nrf2, RXR, and NF- κ B. *CNS Neurosci Ther*2015;21(4):357-66.
167. Lennon AM, Ramaugé M, Dessouroux A, Pierre M. MAP Kinase Cascades Are Activated in Astrocytes and Preadipocytes by 15-Deoxy- Δ 12-14-prostaglandin J2 and the Thiazolidinedione Ciglitazone through Peroxisome Proliferator Activator Receptor γ -independent Mechanisms Involving Reactive Oxygenated Species. *J Biol Chem*2002;277(33):29681-5.
168. Yang C-W, Li T-C, Li C-I, Liu C-S, Lin C-H, Lin W-Y, et al. Insulinlike growth factor-1 and its binding protein-3 polymorphisms predict circulating IGF-1 level and appendicular skeletal muscle mass in Chinese elderly. *Journal of the American Medical Directors Association*2015;16(5):365-70.