

Originales

EFFECT OF THE +2138INSCAGACC POLYMORPHISM IN THE MELANOCORTIN RECEPTOR 3 GENE ON OBESITY RISK IN THE SPANISH POPULATION

Objective: The melanocortin 3 receptor gene (MC3R) has been implicated in the regulation of energy homeostasis and body weight. Our aim was to determine whether the +2138InsCAGACC polymorphism in that gene is associated with obesity risk in the Spanish population.

Material and method: A case-control study was carried out, including 303 obesity cases paired by sex and age with 606 controls. Anthropometrical data, lifestyle, and the +2138InsCAGACC polymorphism in the MC3R gene were determined.

Results: The allele frequency for the +2138InsCAGACC variant for the total population was 0.29 and was slightly less frequent in cases than in controls. Thus, in the raw analysis, +2138InsCAGACC carriers showed a lower obesity risk, at the limit of statistical significance (odds ratio [OR] = 0.73; 95% confidence interval [CI], 0.53-1.01; $p = 0.056$), which hardly changed after adjustment for potential confounders. Analysis of the association between this polymorphism and body weight revealed a statistically significant association with lower weight. This association was specific for the obese group; thus +2138InsCAGACC carriers had a lower mean weight than non-carriers (99.8 ± 22.7 vs 94.2 ± 20.7 kg; $p = 0.04$).

Conclusions: The +2138InsCAGACC polymorphism is associated with lower body weight in obese people and tends to be associated with a lower risk of obesity. Further studies are required to confirm these findings.

Key words: Melanocortin. Receptor. Obesity. Polymorphism.

Efecto del polimorfismo +2138InsCAGACC en el gen del receptor 3 de la melanocortina en el riesgo de obesidad en población española

FRANCESC FRANCÉS^a, JOSÉ VICENTE SORLÍ^{a,b}, MARISA GUILLÉN^a, OLGA PORTOLÉS^c Y DOLORES CORELLA^a

^aUnidad de Investigación en Epidemiología Genética y Molecular. Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública. Universitat de València. Valencia. España.

^bCentro de Salud de Atención Primaria de Xirivella. Valencia. España.

^cDepartamento de Lenguajes y Sistemas Informáticos. Universitat Jaume I. Castellón de la Plana. España.

Objetivo: El receptor 3 de la melanocortina (MC3R) ha sido implicado en la regulación de la homeostasis energética y en el peso corporal. Nuestro objetivo es conocer si el polimorfismo +2138InsCAGACC en dicho gen se asocia con el riesgo de obesidad en población española.

Material y método: Se ha realizado un estudio de casos y controles con 303 casos de obesidad y 606 controles apareados por sexo y edad. Se determinaron variables antropométricas y del estilo de vida y el polimorfismo +2138InsCAGACC en el gen del MC3R.

Resultados: La frecuencia alélica para la variante +2138InsCAGACC para el total de la población fue de 0,29, y resultó ligeramente menos frecuente en el grupo de casos que en el de controles. Así, en el análisis bruto, los portadores de la variante +2138InsCAGACC presentan un menor riesgo de obesidad, en el límite de la significación estadística (*odds ratio* [OR]= 0,73; intervalo de confianza [IC] del 95%, 0,53-1,01; $p = 0,056$), que apenas se modificó al controlar por posibles variables de confusión. Al analizar la asociación entre este polimorfismo y el peso corporal, se encontró una asociación estadísticamente significativa con un menor peso. Esta asociación fue específica del grupo de personas obesas, de forma que los portadores de la variante +2138InsCAGACC presentaron un menor peso medio que los no portadores ($99,8 \pm 22,7$ frente a $94,2 \pm 20,7$ kg; $p = 0,04$).

Conclusiones: El polimorfismo +2138InsCAGACC se asocia con menor peso corporal en personas obesas y tiende a asociarse a un menor riesgo de obesidad. Son necesarios más estudios en otras poblaciones para confirmar estos hallazgos.

Palabras clave: Melanocortina. Receptor. Obesidad. Polimorfismo.

INTRODUCCIÓN

A pesar de que la obesidad es un problema creciente en nuestro medio, para cuya prevención se están articulando importantes estrategias tanto en el ámbito nacional como en el internacional^{1,2}, todavía hay un

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por la Generalitat Valenciana (grupos 2004-43) y por el Instituto de Salud Carlos III (CIBER/06/03/0035).

Correspondencia: Dr. F. Francès Bozal.
Departamento de Medicina Preventiva. Facultad de Medicina.
Avda. Blasco Ibañez, 15. 46010 Valencia. España.
Correo electrónico: ffrances@uv.es

Manuscrito recibido el 26-6-2006 y aceptado para su publicación el 7-11-2006.

escaso conocimiento sobre los mecanismos moleculares de regulación de la ingesta de alimentos, del gasto de energía y del balance resultante³. Un mejor conocimiento, no sólo de las bases moleculares de ésta, sino también de las diferencias individuales en la susceptibilidad genética a un mayor riesgo de obesidad, podrá contribuir en un futuro a su mejor prevención y tratamiento^{4,5}.

Entre los mecanismos moleculares reguladores de la homeostasis energética se encuentra el sistema melanocortínico⁶. La melanocortina es fruto del procesamiento postranscripcional de la proopiomelanocortina (POMC). Es conocido desde antiguo que la administración de melanocortina a animales de experimentación induce una disminución de la ingesta⁷. El sistema melanocortínico del cerebro engloba las neuronas que expresan POMC, *Agouti-related peptides* (AGRP) o receptores de melanocortina. Las neuronas que expresan POMC y AGRP se expresan en el núcleo arquato y el hipotálamo. Se conocen diferentes tipos de receptores de melanocortina⁸⁻¹⁰. Entre ellos, los dos más estudiados son el receptor 3 de la melanocortina (MC3R) y el receptor 4 de la melanocortina (MC4R). Se ha demostrado que los modelos murinos carentes de MC4R y MC3R experimentan un aumento de masa corporal¹¹. Durante algún tiempo resultaron confusas las contribuciones específicas de cada receptor, pero varios trabajos indicaban que el MC4R estaría implicado en el control del apetito, mientras que el MC3R lo estaría en el gasto energético^{12,13}; sin embargo, recientes trabajos vuelven a incidir en resaltar la contribución del MC3R en la ingesta de alimentos¹⁴. En cuanto al estudio molecular, la mayoría de los trabajos se han centrado en el MC4R¹⁵⁻¹⁷, y son muy escasos los que han analizado la asociación entre variaciones en el gen MC3R y el riesgo de obesidad. El gen del MC3R se encuentra en el brazo largo del cromosoma 20 (20q13.2), no contiene intrones y codifica para una proteína de 360 aminoácidos¹⁸. Lembertas et al (1997)¹⁹ realizaron un estudio de ligamiento en el Quebec Family Study y encontraron un ligamiento significativo entre distintas medidas de obesidad y la región cromosómica 20p12-20q13.3, lugar en el que se encuentra el gen del MC3R. Posteriormente investigadores del mismo grupo analizaron la asociación entre tres polimorfismos en el gen MC3R y medidas de obesidad, y hallaron que sólo el polimorfismo correspondiente a una inserción de seis nucleótidos CAGACC en posición +2138 se asoció significativamente con varias medidas de adiposidad²⁰. Nuestro objetivo ha sido estimar la posible asociación de este polimorfismo y el riesgo de obesidad y medidas antropométricas en una amplia muestra de población mediterránea española mediante un diseño de casos y controles.

MATERIAL Y MÉTODO

Sujetos del estudio

Se ha llevado a cabo un amplio estudio de casos y controles de base poblacional en obesos y no obesos procedentes de una región mediterránea española. Los casos de obesidad

procedían tanto de la población general como de la unidad de endocrinología de un hospital. Para evitar el sesgo de selección en la utilización de controles hospitalarios, todos los controles no obesos fueron seleccionados de la población general en la misma área geográfica. De acuerdo con los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS)²¹, se definió obesidad como la presencia de un índice de masa corporal (IMC) ≥ 30 . Con este criterio se seleccionó a 303 pacientes adultos obesos (202 mujeres y 101 varones) de edades comprendidas entre 18 y 70 años con una media de edad de $45,7 \pm 13,2$ años. A dos terceras partes (66,7%) de estos sujetos se los seleccionó de la población general valenciana, mientras que a un tercio (33,3%) se lo reclutó en la Unidad de Endocrinología del Hospital General de Valencia. Los pacientes obesos fueron seleccionados aleatoriamente entre los pacientes obesos referidos consecutivamente desde junio de 2002 hasta julio de 2003, y que no presentaran anomalías tiroideas ni enfermedades hepáticas, renales, cardíacas o síndrome de Cushing²². También se excluyó a las mujeres embarazadas o lactantes. Estos criterios de exclusión también se aplicaron a los casos procedentes de la población general, así como a los correspondientes controles no obesos. Se identificó a los sujetos obesos procedentes de la población general entre los sujetos participantes en un estudio previo encaminado a investigar la prevalencia de factores de riesgo cardiovascular genéticos y ambientales en esta población mediterránea²³. Para cada caso, se seleccionó un control apareado por sexo y edad (± 3 años). Todos los participantes eran caucásicos no emparentados. El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Universidad de Valencia y se obtuvo el consentimiento informado de todos los participantes.

Datos antropométricos, clínicos y del estilo de vida

Las medidas antropométricas se obtuvieron por métodos estándar: el peso, en ropa interior, mediante escalas digitales; la talla, sin zapatos, con un estadiómetro fijo. Se calculó el IMC (peso [kg] dividido por altura [m] al cuadrado). Durante la visita médica se obtuvo una muestra de sangre venosa que se utilizó para la extracción del ADN. Los datos relativos a sexo, edad, etnia, educación, consumo de alcohol y tabaco y actividad física se obtuvieron mediante un cuestionario autoadministrado como se describió previamente²³. El nivel educacional se dividió en 4 categorías: iletrado, primaria, secundaria y universitaria. Se definió como fumador habitual al que consumía al menos un cigarrillo diario. Igualmente se clasificó como consumidores de alcohol a quienes ingirieran alguna cantidad de alcohol. La actividad física fue estimada a partir de la realización en tiempo libre de deportes físicos, y se clasificó a los sujetos como sedentarios (sin ejercicio físico regular) o activos.

Extracción de ADN y clasificación de genotipo

El ADN genómico fue aislado de los leucocitos por métodos estándar²³. Las muestras de ADN se sometieron a amplificación mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en un termociclador Eppendorf (Eppendorf®, Hamburg). El llamado polimorfismo *PstI* en el gen del MC3R fue descrito por vez primera mediante técnicas de *Southern blot* por Lembertas et al¹⁹, como marcador en el gen de MC3R. En el diseño original, tras la digestión con *PstI* se generaron dos fragmentos de 4,4 y 3,6 kb, junto a

TABLA 1. Características demográficas, antropométricas y del estilo de vida de casos y controles por sexo

	Casos (n = 303)			Controles (n = 606)		
	Varones (n = 101)	Mujeres (n = 202)	p*	Varones (n = 202)	Mujeres (n = 404)	p*
Edad (años)	47,5 ± 13,7	45,6 ± 13,2	0,331	46,3 ± 13,1	44,5 ± 12,6	0,162
Peso (kg)	100,8 ± 21	94,3 ± 21,9	0,031	74,7 ± 9,3	60,5 ± 8	< 0,001
IMC	34,4 ± 5,6	38,0 ± 8	< 0,001	25,5 ± 2,7	24,1 ± 3	< 0,001
Perímetro cintura (cm)	110,6 ± 16,4	110,2 ± 17	0,887	93,1 ± 7,2	81,2 ± 10,1	< 0,001
Perímetro cadera (cm)	109,9 ± 11,4	122,4 ± 15,5	< 0,001	98 ± 5,7	95,3 ± 8,3	0,004
Fumadores, n (%)	39 (38,6)	54 (26,7)	0,108	83 (41,1)	139 (34,4)	0,132
Consumo de alcohol, n (%)	81 (80,2)	86 (42,6)	< 0,001	172 (85,1)	232 (57,4)	< 0,001
Ejercicio físico, n (%)	36 (36,4)	58 (28,7)	0,282	89 (44)	166 (41,1)	0,699
Nivel de estudios			0,110			< 0,001
Sin estudios, n (%)	0	12 (6,3)		1 (0,5)	5 (1,4)	
Primarios, n (%)	80 (81,6)	162 (84,4)		120 (62,8)	236 (63,8)	
Secundarios, n (%)	11 (11,2)	13 (6,8)		25 (13,1)	102 (27,6)	
Universitarios, n (%)	7 (7,1)	5 (2,6)		45 (23,6)	27 (7,3)	

*Valor de p en el test de comparación entre varones y mujeres (t de Student para la comparación de medias y χ^2 para la comparación de porcentajes).
IMC: índice de masa corporal.

una banda constante de 900 pb. Boucher et al²⁰ localizaron en 2002 el polimorfismo causal de este marcador *PstI*, en posición +2138, y lo describieron como una inserción de la secuencia CAGACC en esta posición, cuya última citosina, junto con la secuencia siguiente, generaba el sitio de restricción *PstI* descrito previamente. Con esta información recientemente aportada, la amplificación de la región de interés en el gen del receptor 3 de la melanocortina se realizó mediante un cebador *forward* 5'-CCGCTCAGTGGGTAA-ATGTAG-3' como describen Boucher et al²⁰, mientras que el cebador *reverse* fue rediseñado para mejorar el rendimiento de la PCR, y su secuencia es 5'-TTCCTAGGGA-AACGGATGC-3'. Así pues, la mezcla final de reacción (volumen final de 25 μ l) contenía: 75 ng ADN, 0,1 μ mol de cada cebador, 2,5 mmol de MgCl₂, 10 mmol de Tris-HCl (pH = 9) y 0,5 unidades de Taq polimerasa (Promega, Madison, Estados Unidos). Las condiciones de la PCR fueron: desnaturalización a 95 °C durante 5 min, hibridación a 66,7 °C durante 30 s seguido de elongación a 72 °C durante 40 s, realizados en 39 ciclos, con una extensión final de 5 min a 72 °C. Los productos amplificados fueron digeridos mediante 0,8 unidades de *PstI* (Promega, Madison, Estados Unidos) durante 8 h a 37 °C. La presencia de la inserción CAGACC genera la aparición de un sitio de restricción de la enzima de restricción *PstI* que produce dos fragmentos de 646 y 429 pares de bases, respectivamente. La ausencia de la inserción genera un fragmento no digerido de 1.069 pb. Los fragmentos resultantes fueron separados en un gel de agarosa al 2% (Metaphor[®]).

Análisis estadístico

Para determinar diferencias entre frecuencias observadas y esperadas se utilizó el test de la χ^2 , asumiendo el equilibrio de Hardy-Weinberg, así como para determinar diferencias en porcentajes. Asimismo, se determinó la distribución normal para todas las variables continuas. Primero se estudió cada polimorfismo en 3 categorías de genotipo (salvaje, heterocigoto y homocigoto variante) y posteriormente se agruparon en 2 categorías con heterocigotos y homocigotos variantes, debido al modelo dominante de herencia observado en esta variante genética. Las comparaciones de medias entre los 3 grupos se realizaron mediante test de ANOVA. Tras agrupar los genotipos según modelos de herencia dominante o recesiva, las comparaciones de medias de dos

grupos se realizaron mediante la prueba de la t de Student para grupos independientes. La influencia de covariables en la comparación de medias se controló mediante regresión lineal múltiple. Las *odds ratio* (OR) y el intervalo de confianza (IC) del 95% se calcularon mediante regresión logística. Se realizaron modelos brutos y ajustados por edad, origen del caso, educación, tabaco, alcohol, actividad física y genotipo. Los cálculos estadísticos se realizaron con el programa SPSS v 12.1 (SPSS Inc, Chicago, Ill).

RESULTADOS

La tabla 1 muestra las características demográficas, antropométricas y de estilo de vida para los casos y los controles por sexo. Se ha estudiado a 909 personas (303 casos y 606 controles); había 202 mujeres obesas y 101 varones obesos, con una edad media de 45,5 ± 13,2 años, sin diferencias significativas entre varones y mujeres. Para todos ellos se determinó su genotipo en la variante +2138InsCAGACC en el gen del MC3R. La tabla 2 muestra los genotipos obtenidos y las frecuencias alélicas de los diferentes alelos. La distribución genotípica se encontraba en equilibrio de Hardy-Weinberg tanto para casos como para controles (p = 0,808 y p = 0,747, respectivamente). Tras asumir un modelo codominante, la distribución de genotipos del polimorfismo analizado no mostró diferencias estadísticamente significativas entre casos y controles (p = 0,121). No obstante, cuando se asumió un modelo dominante, la distribución de genotipos mostró diferencias cercanas a la significación estadística entre ambos grupos. Así, la variante +2138InsCAGACC, en homocigosis o en heterocigosis, mostró tendencia a ser más prevalente entre los controles que entre los casos (el 51,7 frente al 43,9%, respectivamente; p = 0,056), lo que confiere un carácter protector frente a la obesidad en el límite de la significación estadística. Cuando se cuantificó el riesgo de obesidad asociado a la condición de portador de la variante genética estudiada mediante la estimación de la OR, se obtuvo una OR de 0,73 con un IC del 95% de 0,53-1,01; p =

TABLA 2. Distribución de genotipos y frecuencia alélica del polimorfismo +2138Ins CAGACC en casos obesos y controles no obesos

Genotipos	Total (n = 909)	Casos (n = 303)	Controles (n = 606)	p
+2138Ins CAGACC				
Modelo codominante				0,241
wt/wt, n (%)	459 (50,5)	166 (54,9)	293 (48,3)	
Ins/wt, n (%)	366 (40,3)	112 (37)	254 (42)	
Ins/Ins, n (%)	84 (9,2)	25 (8,1)	59 (9,8)	
Modelo dominante				0,056
wt/wt, n (%)	459 (50,5)	166 (54,9)	293 (48,3)	
Portadores Ins, n (%)	450 (49,5)	137 (45,1)	313 (51,7)	
Frecuencia alélica e intervalo de confianza del 95%				
wt	0,71 (0,68-0,73)	0,73 (0,70-0,77)	0,69 (0,67-0,72)	
Ins	0,29 (0,27-0,32)	0,27 (0,23-0,30)	0,31 (0,28-0,33)	

Ins: inserción +2138InsCAGACC; wt: alelo salvaje.

TABLA 3. Riesgo de obesidad asociado con el polimorfismo +2138InsCAGACC. Medias brutas y ajustadas

Polimorfismo	No ajustado, ^a OR (IC del 95%)	p	Ajustado, ^b OR (IC del 95%)	p
MC3R+2138InsCAGACC		0,242		0,287
Modelo codominante				
wt/wt	1		1	
Ins/wt	0,78 (0,56-1,08)	0,129	0,75 (0,53-1,08)	0,124
Ins/Ins	0,73 (0,41-1,29)	0,280	0,79 (0,42-1,48)	0,461
Modelo dominante				
wt/wt	1		1	
Portador Ins	0,73 (0,53-1,01)	0,056	0,73 (0,51-1,03)	0,075

^aModelo de regresión logística bruto.

^bModelo de regresión logística multivariante ajustado por edad, sexo, origen, educación, consumo de alcohol y tabaco y ejercicio físico. IC: índice de confianza; Ins: inserción +2138InsCAGACC; OR: *odds ratio*; wt: alelo salvaje.

TABLA 4. Asociación de la variante +2138 InsCAGACC con medidas antropométricas en la población total y en casos y controles

	Total (n = 909)			Casos (n = 303)			Controles (n = 606)		
	wt/wt	Portadores Ins	p	wt/wt	Portadores Ins	p	wt/wt	Portadores Ins	p
Peso (kg)	77,29 ± 23,4	74,03 ± 19,2	0,030	99,8 ± 22,7	94,2 ± 20,7	0,044	64,6 ± 10,9	65,7 ± 10,5	0,262
Talla (m)	1,62 ± 0,1	1,62 ± 1,0	0,986	1,62 ± 0,1	1,60 ± 0,10	0,130	1,62 ± 0,09	1,63 ± 0,95	0,332
IMC	29,29 ± 8,5	28,13 ± 6,9	0,048	37,9 ± 8,3	36,5 ± 6,6	0,119	24,5 ± 2,9	24,7 ± 3,0	0,424
Perímetro cintura (cm)	97,65 ± 19,4	96,16 ± 16,5	0,506	111,5 ± 17,7	109,5 ± 14,2	0,434	85,6 ± 10,9	86,9 ± 10,6	0,337
Perímetro cadera (cm)	106,76 ± 16,9	105,58 ± 15,1	0,514	119 ± 16,0	117,9 ± 15,1	0,632	96 ± 7,9	97 ± 6,8	0,302

IMC: índice de masa corporal; Ins: inserción +2138InsCAGACC; wt: alelo salvaje.

0,056. Esta estimación bruta apenas modificó su magnitud y su significación estadística tras ajustar por edad, sexo, origen del caso, hábito tabáquico, hábito alcohólico, actividad física y nivel educacional (tabla 3). Cuando se realizó el mismo análisis estratificado en varones y en mujeres, en ambos se obtuvieron OR menores que uno asociadas al polimorfismo estudiado, aunque sin alcanzar en ningún caso la significación estadística.

Dado que estos resultados en las estimaciones del riesgo de obesidad se encontraron en el límite de la significación estadística, se decidió completar el estudio analizando la posible asociación entre el polimorfismo +2138InsCAGACC en el gen del MC3R y medidas antropométricas (tabla 4). Al considerar conjuntamente casos y controles, se encontraron diferencias estadísti-

camente significativas de peso entre los no portadores y los portadores de la inserción ($77,3 \pm 23,4$ kg en no portadores frente a $74 \pm 17,3$ kg en portadores; $p = 0,030$), en línea con la asociación apuntada anteriormente de un menor riesgo de obesidad posiblemente asociado a esta variante. Estas diferencias también se hallaron de manera significativa en el IMC, que fue superior en los no portadores de la variante +2138InsCAGACC en el gen de la MC3R. Aunque el perímetro de la cintura fue también superior en los no portadores de la variante analizada, las diferencias de medias no alcanzaron significación estadística ($p = 0,068$). Cuando estos resultados se ajustaron por las posibles variables de confusión (sexo, edad, origen, consumo de alcohol, consumo de tabaco, nivel de estudios y ejercicio físico), las diferencias de medias de peso e IMC mantuvieron

la significación estadística y no se observaron cambios hacia la significación en las medidas de cintura y cadera. Tampoco se encontró heterogeneidad estadísticamente significativa por sexo en estas asociaciones, ya que para todas las variables analizadas el término de interacción genotipo*sexo tuvo un valor de $p = 0,704$. Cuando se estudió la asociación entre las variables antropométricas y la variante +2138InsCAGACC, estratificando en función del estado de caso o control (tabla 4), un resultado interesante fue que las asociaciones observadas al analizar a la población en su conjunto se restringían a los casos de obesidad. Así, en las personas obesas, pero no en controles, los portadores de la variante +2138InsCAGACC presentaron un peso medio inferior (-5,6 kg) que los no portadores ($p = 0,044$). Estas diferencias permanecieron estadísticamente significativas incluso tras ajustar por edad, sexo, origen, consumo de alcohol, consumo de tabaco, nivel de estudios y ejercicio físico.

DISCUSIÓN

En este amplio estudio de casos y controles, llevado a cabo en una población mediterránea española, hemos encontrado un ligero efecto protector de la variante +2138InsCAGACC en el gen MC3R sobre el riesgo de obesidad, en el límite de la significación estadística. Se trata del primer estudio realizado en España que analice el efecto de dicho polimorfismo en el riesgo de obesidad y sobre parámetros antropométricos. También en el ámbito internacional han sido muy escasos los estudios que han analizado el efecto de este polimorfismo, quizá debido a que no se trata de un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) fácilmente analizable por técnicas de alto rendimiento de genotipificación basadas en fluorescencia, sino que requiere métodos más laboriosos como el utilizado en este trabajo. Aunque Lembertas et al¹⁹ en 1997 analizaron el marcador PstI dentro del gen MC3R en su estudio de ligamiento en el Quebec Family Study, la localización concreta de este polimorfismo y su caracterización como +2138InsCAGACC no tuvo lugar hasta la publicación de Boucher et al²⁰ 5 años más tarde. Tras una extensa revisión bibliográfica y en las bases de datos de polimorfismos, la publicación de Boucher et al²⁰ en el Quebec Family Study ha sido el único trabajo en el que reportan datos sobre las frecuencias genotípicas y alélicas para este polimorfismo. Así, en el Quebec Family Study, la prevalencia de homocigotos para la variante +2138InsCAGACC fue del 4,6% frente al 9,2% encontrado en población mediterránea española. La frecuencia alélica para la variante +2138InsCAGACC fue también ligeramente más alta en población mediterránea que en población canadiense (0,29 frente a 0,21). En el Quebec Family Study²⁰ no realizan un estudio de casos y controles, por lo que no podemos comparar nuestros resultados obtenidos en la estima-

ción del riesgo de obesidad. Sin embargo, sí que realizan un estudio de asociación entre este polimorfismo y distintas medidas de obesidad.

Boucher et al²⁰ reportaron un comportamiento diferencial de la variante genética estudiada en función del IMC. Así, en individuos con normopeso, los portadores en homocigosis de la inserción tuvieron valores superiores de masa grasa y porcentaje de masa corporal. Por el contrario, en el grupo de individuos con sobrepeso, los portadores en homocigosis de la inserción estudiada presentaron un menor índice de masa corporal, un menor porcentaje de grasa corporal y un menor depósito de grasa subcutánea. Estos resultados estarían de acuerdo con nuestros hallazgos al haber encontrado una asociación significativa entre la variante inserción y menor peso en individuos obesos pero no en los controles. En nuestro trabajo no hemos podido obtener medidas sobre porcentaje de masa corporal, por lo que no podemos realizar comparaciones en este sentido. Hay otros trabajos que han analizado otros polimorfismos en el gen del MC3R, y reportaron asociaciones estadísticamente significativas entre diversas variantes y medidas de obesidad²⁴⁻²⁷. Recientemente Feng et al²⁴ han demostrado que niños que son doble heterocigotos para las variantes Thr6Lys y Val81Ile en el gen del MC3R poseen un mayor IMC, mayor masa y porcentaje de masa grasa que los heterocigotos o los no portadores de ninguna de estas variantes. Además, esos autores mediante estudios de expresión in vitro han analizado el efecto de estas variantes genéticas en los niveles de expresión, y concluyen que los homocigotos dobles presentan un menor nivel de expresión, lo que indica que esto se traduciría en una mayor eficiencia en el almacenamiento energético ante la misma ingesta calórica que subsiguientemente originaría un incremento de la adiposidad observada. En nuestro estudio no hemos analizado las variantes Thr6Lys y Val81Ile, pero el trabajo de Boucher et al²⁰ aporta datos acerca de un ligero desequilibrio de ligamiento estadísticamente significativo entre la variante Val81Ile y la variante +2138InsCAGACC en población canadiense. En su trabajo, Boucher et al²⁰ no indican si el desequilibrio de ligamiento entre ambos polimorfismos fue positivo o negativo. En caso de ser un desequilibrio negativo y que la variante 81Ile se asociara con la no inserción en el polimorfismo +2138InsCAGACC también en población española, este hecho podría explicar en parte el efecto observado en nuestro estudio, ya que se podría suponer que los portadores de la variante +2138InsCAGACC tendrían asociada una mayor expresión del MC3R en comparación con los no portadores y la subsiguiente menor eficiencia en el almacenamiento energético que se traduciría en un menor peso.

Sin embargo, ya que se trata del primer estudio realizado en España con este polimorfismo, son necesarios más estudios en esta población para confirmar nuestros hallazgos y valorar su contribución al desarrollo y prevención de la obesidad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Neira M, De Onis M. Preventing obesity: a public health priority in Spain. *Lancet*. 2005;365:1386.
2. Spiegel AM, Alving BM. Executive summary of the Strategic Plan for National Institutes of Health Obesity Research. *Am J Clin Nutr*. 2005;82 Suppl 1:S211-4.
3. Muoio DM, Newgard CB. Obesity-related derangements in metabolic regulation. *Annu Rev Biochem*. 2006;75:367-401.
4. Prentice AM. Early influences on human energy regulation: thrifty genotypes and thrifty phenotypes. *Physiol Behav*. 2005;86:640-5.
5. Lyon HN, Hirschhorn JN. Genetics of common forms of obesity: a brief overview. *Am J Clin Nutr*. 2005;82 Suppl 1:S215-7.
6. Butler AA. The melanocortin system and energy balance. *Peptides*. 2006;27:281-90.
7. Panskepp J, Reilly P, Bishop P, Meeker RB, Vilberg TR, Kastin AJ. Effects of alpha-MSH on motivation, vigilance and brain respiration. *Pharmacol Biochem Behav*. 1976;5:59-64.
8. Gantz I, Miwa H, Konda Y, Shimoto Y, Tashiro T, Watson SJ, et al. Molecular cloning, expression, and gene localization of a fourth melanocortin receptor. *J Biol Chem*. 1993;268:15174-9.
9. Gantz I, Tashiro T, Bancroft C, Konda Y, Shimoto Y, Miwa H, et al. Localization of the genes encoding the melanocortin-2 (adrenocorticotrophic hormone) and melanocortin-3 receptors to chromosomes 18p11.2 and 20q13.2-q13.3 by fluorescence in situ hybridization. *Genomics*. 1993;18:166-7.
10. Gantz I, Konda Y, Tashiro T, Shimoto Y, Miwa H, Munzert G, et al. Molecular cloning of a novel melanocortin receptor. *J Biol Chem*. 1993;268:8246-50.
11. Butler AA, Kesterson RA, Khong K, Cullen MJ, Pellemounter MA, Dekoning J, et al. A unique metabolic syndrome causes obesity in the melanocortin-3 receptor-deficient mouse. *Endocrinology*. 2000;141:3518-21.
12. Butler AA, Cone RD. The melanocortin receptors: lessons from knockout models. *Neuropeptides*. 2002;36:77-84.
13. Branson R, Potoczna N, Kral JG, Lentos KU, Hoehe MR, Horber FF. Binge eating as a major phenotype of melanocortin 4 receptor gene mutations. *N Engl J Med*. 2003;348:1096-103.
14. Marks DL, Hruby V, Brookhart G, Cone RD. The regulation of food intake by selective stimulation of the type 3 melanocortin receptor (MC3R). *Peptides*. 2006;27:259-64.
15. Heid IM, Vollmert C, Hinney A, Doring A, Geller F, Lowel H, et al. Association of the 103I MC4R allele with decreased body mass in 7937 participants of two population based surveys. *J Med Genet*. 2005;42:e21.
16. Rutanen J, Pihlajamaki J, Karhapaa P, Vauhkonen I, Kuusisto J, Moilanen Mykkanen L, et al. The Val103Ile polymorphism of melanocortin-4 receptor regulates energy expenditure and weight gain. *Obes Res*. 2004;12:1060-6.
17. Geller F, Reichwald K, Dempfle A, Illig T, Vollmert C, Herpertz S, et al. Melanocortin-4 receptor gene variant I103 is negatively associated with obesity. *Am J Hum Genet*. 2004;74:572-81.
18. Magenis RE, Smith L, Nadeau JH, Johnson KR, Mountjoy KG, Cone RD. Mapping of the ACTH, MSH, and neural (MC3 and MC4) melanocortin receptors in the mouse and human. *Mamm Genome*. 1994;5:503-8.
19. Lembertas AV, Perusse L, Chagnon YC, Fisler JS, Warden CH, Purcell-Huynh DA, et al. Identification of an obesity quantitative trait locus on mouse chromosome 2 and evidence of linkage to body fat and insulin on the human homologous region 20q. *J Clin Invest*. 1997;100:1240-7.
20. Boucher N, Lanouette CM, Larose M, Perusse L, Bouchard C, Chagnon YC. A +2138InsCAGACC polymorphism of the melanocortin receptor 3 gene is associated in human with fat level and partitioning in interaction with body corpulence. *Mol Med*. 2002;8:158-65.
21. World Health Association. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation on Obesity, Geneva, 3-5 June, 1997. Geneva, Switzerland: World Health Association, 1998 (WHO TRS 984).
22. Corella D, Qi L, Sorli JV, Godoy D, Portoles O, Coltell O, et al. Obese subjects carrying the 11482G>A polymorphism at the perilipin locus are resistant to weight loss after dietary energy restriction. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90:5121-6.
23. Corella D, Guillén M, Saiz C, Portoles O, Sabater A, Folch J, et al. Associations of LPL and APOC3 gene polymorphisms on plasma lipids in a Mediterranean population: interaction with tobacco smoking and the APOE locus. *J Lipid Res*. 2002;43:416-27.
24. Feng N, Young SF, Aguilera G, Puricelli E, Adler-Wailes DC, Sebring NG, et al. Co-occurrence of two partially inactivating polymorphisms of MC3R is associated with pediatric-onset obesity. *Diabetes*. 2005;54:2663-7.
25. Schalin-Jantti C, Valli-Jaakola K, Oksanen L, Martelin E, Laitinen K, Krusius T. Melanocortin-3-receptor gene variants in morbid obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2003;27:70-4.
26. Lee YS, Poh LK, Loke KY. A novel melanocortin 3 receptor gene (MC3R) mutation associated with severe obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:1423-6.
27. Rached M, Buronfosse A, Begeot M, Penhoat A. Inactivation and intracellular retention of the human I183N mutated melanocortin 3 receptor associated with obesity. *Biochim Biophys Acta*. 2004;1689:229-34.