

V

ariante alélica -55CT del gen UCP3 en individuos obesos con y sin alteraciones antropométricas y metabólicas en el municipio Maracaibo, estado Zulia

Allelic variant UCP3-55CT gene in obese individuals with and without anthropometric and metabolic alterations in Maracaibo municipality, Zulia state

Naillet Arráiz, MSc, PhD^{1,3}, Valmore Bermúdez, MD, MSc, MPH, PhD¹, Joselyn Rojas, MD, MSc¹, Estevan Marín, Mildred Vivas, Endrina Mujica, BSc¹, Carem Prieto, MSc¹, Andrea Mujica BSc¹, Baldimiro Urdaneta², María Carolina Camacho³, Alegría Levy³, Rafael Marcucci³,
¹Centro de Investigaciones Endocrino-Metabólicas "Dr. Félix Gómez" Facultad de Medicina, Universidad del Zulia
²Escuela de Enfermería, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia
³Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia

11

Resumen

Introducción: La acumulación de grasa corporal tiene una base genética. Dada la importancia de UCP3 en la regulación del balance energético, el objetivo de este estudio fue investigar la posible asociación la variante -55C/T (rs1800849) del gen UCP3 con alteraciones antropométricas y metabólicas en individuos obesos del Municipio Maracaibo, Estado Zulia.

Materiales y Métodos: La población incluyó 95 pacientes obesos y 46 normopeso. El análisis genotípico del gen UCP3 se llevó a cabo por PCR-RFLP. El diagnóstico de SM se realizó según los criterios de IDF/AHA/NHLBI-2009.

Resultados y Discusión: Los valores promedio de IMC y circunferencia abdominal del grupo de individuos obesos fue $34,2 \pm 5,9$ kg/m², y $102,8 \pm 14,2$ cm, respectivamente. Un 54,7% de los individuos obesos exhibieron factores de riesgo múltiple o síndrome metabólico (SM), siendo la disminución de niveles de HDL-C (62%) el factor predominante, seguido de hipertensión arterial (55,8%) e hiperglicemia (52,6%). El genotipo heterocigoto -55C/T fue detectado con mayor frecuencia en el grupo de individuos obesos (22%), comparado con el grupo control (15,2%). La diferencia fue más marcada entre los grupos control y obesos con SM (Ob/SM) ($p=0,028$). No se encontró diferencia significativa en la frecuencia genotípica -55C/T entre grupos de individuos obesos Ob/SM y Ob/NoSM.

Conclusiones: El hallazgo más significativo en este estudio es la asociación de la variante -55C/T del gen UCP3 con obesidad, aunque no se pudo demostrar asociación con parámetros antropométricos y metabólicos individuales. La contribución de este polimorfismo al desarrollo de obesidad y otras variables metabólicas sigue siendo controversial, por lo cual se requiere extender el estudio e incorporar otras variables para evaluar interacciones gen-gen y gen-ambiente.

Palabras clave: obesidad, UCP3, variante -55C/T, rs1800849, alteraciones antropométricas, alteraciones metabólicas

Abstract

Background: The accumulation of body fat has a genetic basis. Given the importance of UCP3 in the regulation of energy balance, the aim of this study was to investigate the association of the UCP3 gene variant-55C/T (rs1800849) with anthropometric and metabolic abnormalities in obese individuals of Maracaibo Municipality, Zulia State.

Materials and Methods: The population included 95 obese and 46 normal weight patients. Diagnosis of Metabolic Syndrome (MS) was done using IDF/AHA/NHLBI-2009 criteria. Genotypic analysis of UCP3 gene was performed by PCR-RFLP.

Results and Discussion: The average values of BMI and abdominal circumference of the obese group was 34.2 ± 5 kg/m² and 102.8 ± 14.2 cm, respectively. 54.7% of obese individuals exhibited multiple risk factors or MS, with decreased levels of HDL-C (62%) the predominant factor, followed by hypertension (55.8%) and hyperglycemia (52.6%). The heterozygous genotype-55C / T was detected more frequently in obese group (22%) compared with the control group (15.2%). The difference was more pronounced among obese with MS group (Ob/MS) and control group ($p = 0.028$). No significant difference in the genotype frequency -55C/T between Ob/MS and Ob /NotMS.

Conclusion: The most significant finding in this study is the association of the UCP3 gene variant-55C/T with obesity, however it was not possible demonstrate association with anthropometric and metabolic parameters individuals. La contribución de este polimorfismo to the development of obesity and other metabolic variables remains controversial, therefore required to extend the study study and incorporate other variables to evaluate gene-gene and gene-environment.

Key words: obesity, UCP3, -55C/T variant, rs1800849, anthropometric abnormalities, metabolic abnormalities

Según cifras de la Organización Mundial de la Salud, más de 400 millones de personas son obesas, mil millones de adultos tienen sobrepeso y se estima que cada año mueren, como mínimo, 2,6 millones de personas a causa de la obesidad y sus comorbilidades, tales como enfermedades cardiovasculares, hipertensión, diabetes y dislipidemias¹. Existen suficientes evidencias que indican que la acumulación de grasa corporal tiene una base genética y hasta el presente, se han descrito más de 430 marcadores genéticos o regiones cromosómicas asociadas al fenotipo obeso²⁻⁶. Los estudios en roedores obesos y expresión de genes en ratones transgénicos han facilitado la identificación de genes que contribuyen al desarrollo del fenotipo obeso, permitiendo posteriormente identificar productos génicos homólogos en humanos^{3,5,6}. Estos genes incluyen miembros de la ruta leptina - melanocortina, citocinas proinflamatorias y proteínas desacoplantes (UCPs).

Las UCPs, también llamadas termogeninas, son proteínas mitocondriales que se localizan en la membrana interna mitocondrial⁷⁻⁹. Estas proteínas desempeñan un importante papel en el proceso de la termogénesis adaptativa participando en la fosforilación oxidativa y en la síntesis de ATP mediante la promoción de protones a través de la membrana mitocondrial interna, que desacoplan la oxidación de sustrato en la mitocondria de la fosforilación oxidativa, con la consiguiente generación de calor que disipa la energía potencial disponible para la síntesis de ATP⁷⁻⁹.

En mamíferos se han identificado 5 UCPs, estructuralmente similares, difieren en la distribución en diferentes tejidos⁸. La UCP1 se expresa en tejido adiposo marrón y está involucrado en la termogénesis. Por otro lado, UCP2 se encuentra ampliamente distribuida en varios tejidos, incluyendo el bazo, riñón, sistema inmunológico, páncreas y el sistema nervioso central, mientras que UCP3 es principalmente restringida al músculo esquelético. Las restantes, UCP4 y UCP5/BMCP1 se expresan principalmente en cerebro⁸.

Las mutaciones o variantes alélicas de las UCPs, que reducen la actividad de estas proteínas podría reducir el gasto de energía al revertir sus acciones de desacoplamiento de la fosforilación oxidativa, contribuyendo de este modo a incremento en la acumulación de grasa corporal. Algunos estudios han orientado su atención a variantes genéticas del gen UCP3, particularmente a la posible asociación de la variante -55C-> T (rs1800849), un cambio de un único nucleótido (SNP) que se localiza en la región promotora del gen UCP3, a una distancia de 6 pb precediendo la secuencia TATA propuesta, asociado a un incremento en

la expresión del ARNm de UCP3 en tejido muscular¹⁰, pero que en diversos estudios de asociación con obesidad, no han alcanzado resultados concluyentes¹¹.

El objetivo de este estudio fue investigar la posible asociación de la variante alélica -55CT localizada en la región promotora del gen UCP3, con alteraciones antropométricas y metabólicas en individuos obesos del Municipio Maracaibo, Estado Zulia.

Población y muestra

En la siguiente investigación la población estuvo representada por 95 pacientes del Centro de Investigaciones Endocrino Metabólicas Dr. "Félix Gómez" (CIEM) de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia, cuyas edades están comprendidas entre 19 y 74 años. Esta muestra es representativa de pacientes con un índice de masa corporal (IMC) comprendido entre 31,97- 64,01 kg/m². Con fines comparativos se seleccionó al azar una muestra de 46 individuos (29 mujeres, 17 hombres) sin alteraciones metabólicas, ni antropométricas, incluidos como grupo control. Los pacientes seleccionados firmaron un consentimiento previa información de los objetivos del estudio y el proyecto fue aprobado por el Comité de Bioética del Centro de Investigaciones Endocrino-Metabólicas "Dr. Félix Gómez", siguiendo los postulados de la Declaración de Helsinki¹².

Evaluación Clínica

La evaluación de parámetros clínicos, antropométricos y de laboratorio se llevó a cabo de acuerdo al protocolo estándar del CIEM, de acuerdo a lineamientos especificados previamente para el Estudio de Prevalencia de Síndrome Metabólico de la ciudad de Maracaibo¹³. Para la obtención del peso corporal, porcentaje de grasa, masa magra en kilogramos y metabolismo basal en kilocalorías se usó una balanza electrónica marca TANITA modelo TBF 300 GS - TBF 300 MA. Para realizar la medición de la talla se utilizó el tallímetro de la balanza DETECTO 140 Kg (Continental Scale Corporation Bridgeview. USA). El índice de masa corporal (IMC) se estimó mediante la fórmula [peso/talla², expresado en kg /m²]¹⁴. La circunferencia abdominal se realizó por medición con cinta métrica, de la región de la circunferencia abdominal comprendida entre bordes costales y cresta ilíaca, de acuerdo al protocolo de los Institutos Nacionales de Higiene de los Estados Unidos¹⁵.

Para el diagnóstico de SM, se utilizó el consenso de IDF/ AHA/NHLBI-2009¹⁶, el cual describe lo siguiente: a) circunferencia abdominal ≥ 90 cm para hombres y ≥ 80 cm para mujeres; b) triacilglicéridos ≥ 150 mg/dl (o antecedentes personales de hipertriacilgliceridemia); c) HDL-C < 40 mg/dL para hombres y < 50 mg/dL para mujeres o

antecedentes personales de este trastorno lipídico; d) presión arterial sistólica ≥ 130 mmHg o diastólica ≥ 85 mmHg (o tratamiento prescrito para una hipertensión previamente diagnosticada); e) glicemia basal ≥ 100 mg/dL (o antecedentes personales de DM2 ya diagnosticada). Se excluyeron pacientes con diagnóstico de hipotiroidismo, hipertiroidismo, enfermedad renal, coagulopatías y trastornos autoinmunes.

Laboratorio

Para la evaluación de parámetros bioquímicos, posterior a 8-12 horas de ayuno fueron extraídas muestras de sangre mediante venopunción, distribuyéndose en dos tubos, uno con EDTA para el aislamiento de ADN genómico, y otro sin anticoagulante para realizar la evaluación bioquímica de laboratorio. Los niveles séricos glicemia basal, colesterol total, triacilglicéridos (TAG) y HDL-C mediante técnica enzimática colorimétrica con equipo automatizado Human Gesellschaft Biochemica and Diagnostica MBH, Magdeburg, Germany. Asimismo se cuantificó la concentración de insulina en ayuno utilizando un Kit comercial basado en el método de ELISA (DRG internacional. Inc. USA. New Jersey), con un límite de detección < 1 mU/L.

Detección genotípica de la variante -55C-> T (rs1800849) del gen UCP3

El ADN genómico fue extraído a partir del sedimento de leucocitos, obtenido a partir de 5 ml de sangre anticoagulada, mediante la técnica "Salting out"¹⁷. La variante -55C-> T fue analizada por reacción en cadena de polimerasa-polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (PCR-RFLP), utilizando oligonucleótidos, condiciones de amplificación y digestión enzimática de los fragmentos, utilizando protocolo previamente descrito¹⁵. Los productos amplificados fueron sometidos a digestión con la enzima Hae III y fueron analizados por electroforesis en cámara horizontal BIO RAD, utilizando geles de agarosa al 2,5%, teñidos con bromuro de etidio, visualizados en transiluminador ultravioleta en sistema Digi-Doc, UVP®.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó en el paquete estadístico SPSS 17 para Windows. Se utilizaron medidas de tendencia central y dispersión (media y error estándar). La distribución normal de las variables se evaluó por pruebas de Kolmogorov-Smirnov. La diferencia de las medias entre grupos fue analizada por ANOVA de un factor (Distribución normal) y la prueba U de Mann-Whitney (Distribución no normal). La correlación entre variables se realizó por correlación de Pearson y Spearman para variables con distribución normal y no normal, respectivamente. Se utilizó la prueba Chi cuadrado para comparación de frecuencias y valores observados y esperados y se demostró que la frecuencia alélica de la variante genética se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg (HWE).

La UCP3 es una proteína de la membrana mitocondrial que desacopla la fosforilación oxidativa de la síntesis de ATP, disipando la energía en forma de calor⁷⁻⁹. En humanos, UCP3 se expresa principalmente en el músculo esquelético, desempeñando un papel importante en la homeostasis de la energía y la oxidación de sustratos⁷⁻⁹. Dada la importancia de UCP3 en la regulación del balance energético y su potencial efecto sobre procesos metabólicos, a través de este estudio se evaluó la posible asociación de la variante alélica -55CT, localizada en la región promotora del gen UCP3 con alteraciones antropométricas y metabólicas en individuos obesos del Municipio Maracaibo, Estado Zulia.

Las características generales, antropométricas y metabólicas de los participantes en el estudio se muestran en la Tabla 1. El peso y talla promedio de los pacientes fue de $88,7 \pm 22,6$ kg y $1,62 \pm 0,97$ mt, respectivamente, datos que resultaron en valores de IMC de $34,2 \pm 5,9$ kg/m², correlacionándose con el alto % de grasa corporal encontrado. No hubo diferencias significativas en estos parámetros entre los grupos del sexo femenino (n=56) y masculino (n=39). En cuanto a la distribución de la grasa corporal se destaca un predominio de obesidad central o abdominal (95,8%), con valor promedio de $102,8 \pm 14,2$ cm, lo cual está de acuerdo con datos reportados que establecen que un IMC > 30 kg/m² predice acumulación de tejido adiposo abdominal¹⁶. Esta distribución de grasa es de gran interés desde el punto de vista de la morbilidad del paciente, debido a que la obesidad abdominal es un componente clave de un conjunto de factores de riesgo que han sido colectivamente definidos como SM¹⁶.

Al considerar los valores promedio de parámetros relacionados con aspectos metabólicos, se encontró hiperglicemia, hipertrigliceridemia, hipertensión arterial, hipercolesterolemia y bajos niveles de HDL-colesterol (Tabla 1), alteraciones consideradas como componentes del SM. La frecuencia de estos factores de riesgo y la agrupación de los mismos como riesgo múltiple definido como SM, fueron evaluadas en el grupo total de individuos obesos y en forma estratificada por grupos de IMC (Tabla 2). Considerando los criterios diagnósticos para SM¹⁶, el 54,7% de los individuos obesos que formaron parte de este estudio presentan factores de riesgo múltiple o síndrome metabólico, siendo la disminución de niveles de HDL-C (62%) el factor predominante, seguido de hipertensión arterial (55,8%) e hiperglicemia (52,6%). Se observó que la hipertensión arterial mostró mayor recurrencia, de acuerdo al incremento

en el IMC. No se encontró diferencia significativa ($p > 0,05$) en la frecuencia de estos factores de riesgo entre los diferentes subgrupos estratificados por rangos de IMC.

La frecuencia genotípica de la variante -55C/T (rs1800849) del gen UCP3 se comparó entre grupos de pacientes obesos con SM (Ob/SM), pacientes obesos que no reunían criterios de diagnóstico de SM (Ob/NoSM) y una población control que no presentaba alteraciones antropométricas ni metabólicas (Tabla 3). El genotipo heterocigoto -55C/T fue detectado en el 20% de la población total evaluada, observándose mayor frecuencia de este genotipo en el grupo de individuos obesos (22%), comparado con el grupo control (15,2%). La diferencia fue más marcada entre los grupos control y Ob/SM ($p = 0,028$). No se encontró diferencia significativa en la frecuencia genotípica -55C/T entre grupos de individuos obesos Ob/SM y Ob/NoSM. Para determinar posibles asociaciones del polimorfismo -55CT (rs1800849) del gen UCP3 con alteraciones antropométricas y metabólicas individuales, se analizó el comportamiento de estas variables entre los grupos portadores de los genotipos -55C/C y -55CT (Tabla 4). Se observó que los valores de las medias de la mayoría de los parámetros evaluados fue superior en los individuos portadores del genotipo -55C/T, excepto para niveles de HDL-colesterol e insulina basal, sin embargo no hubo diferencias significativas entre grupos genotípicos.

El hallazgo más significativo en este estudio es la asociación de la variante -55C/T con obesidad, aunque no se pudo demostrar asociación con parámetros antropométricos y metabólicos individuales a diferencia de otros estudios que han encontrado asociación de esta variante genética con IMC¹⁸⁻²⁰, relación cintura-cadera reportada en poblaciones caucásicas y asiáticas^{18,21,22}, dislipidemias y diabetes^{7,20-22}. La presencia del alelo -55T se ha asociado a un incremento en el IMC^{11,18-20} y también se ha señalado que los portadores del genotipo C/C exhiben mejor respuesta a dietas hipocalóricas con una significativa reducción del IMC, porcentaje de grasa corporal y circun-

ferencia de cintura, así como disminución en los niveles de leptina, comparado con el genotipo C/T²⁰. Sin embargo, la contribución de este polimorfismo al desarrollo de obesidad y otras variables metabólicas sigue siendo controversial, si se considera que otras investigaciones, por ejemplo en una población japonesa, apoya una asociación del alelo -55T con una disminución en el IMC y con altos niveles de HDL-colesterol²⁴, sugiriendo que el efecto de este polimorfismo sobre la acumulación de grasa corporal podría estar sometido a influencia de otras características étnicas o las diferencias conocidas en el estilo de vida por ejemplo entre poblaciones asiáticas y europeas.

Desde el punto de vista metabólico, la asociación del polimorfismo -55C/T con alteraciones en el índice de masa corporal y/o la distribución de grasa corporal, cobra gran significado, tomando en cuenta que cuando esta variante fue identificada, se demostró un incremento en la expresión de UCP3 en músculo esquelético¹⁰ y es bien conocido que esta proteína desempeña un papel clave en la homeostasis de la energía y la oxidación de sustratos, lo cual ha sido ampliamente documentado, por ejemplo, la sobreexpresión del gen UCP3 en ratones transgénicos inducen un fenotipo delgado, a pesar de periodos de hiperfagia y esto se correlaciona con mayor tolerancia a la glucosa, disminución de niveles de glicemia e insulina en ayunas, disminución de niveles de colesterol total y un incremento del 25% en el consumo de oxígeno en reposo²⁵⁻²⁶.

Estos resultados preliminares forman parte de un esfuerzo para dilucidar la contribución de variantes genéticas del gen UCP3 en posibles cambios en la expresión de esta proteína desacoplante y en el desarrollo del fenotipo obeso. Es posible que el polimorfismo -55C/T efectivamente condicione otras características del fenotipo obeso no evidenciadas a través del presente estudio, por lo cual se requiere extender el estudio incrementando el tamaño de la muestra e incorporando otras variables que permitan evaluar interacciones gen-gen y gen- ambiente.

Tabla 1. Principales características antropométricas y metabólicas de los individuos con fenotipo obeso

Variables	Total ±DE
Edad (años)	45,2±11,4
Peso (Kg)	88,7 ± 22,6
Talla (m)	1,62±0,9
Índice de masa corporal (kg/m ²)	34,2±5,9
% de grasa corporal	40,6 ±8,4
Circunferencia abdominal (cm)	102,8±14,2
Glicemia basal (mg/dl)	107,1±33,3
Insulina (mU/L)	21,2±12,1
Colesterol total (mg/dl)	203,9±53,5
Triacilglicéridos (mg/dl)	173,9 ±148,3
LDL-C (mg/dl)	127± 35,6
HDL-C (mg/dl)	42,1±9,8
Presión Arterial Sistólica mmHg	124,4±16,9
Presión Arterial Diastólica mmHg	82,1±12,3

±DE: promedio ± Desviación estándar

Tabla 2. Alteraciones individuales asociadas con síndrome metabólico de acuerdo a grupos de IMC

	30-34,9 n=64 (%) ^a ,(%) ^b	35-39,9 n=16 (%) ^a ,(%) ^b	40-44,9 n=8 (%) ^a ,(%) ^b	45-49,5 n=7 (%) ^a ,(%) ^b	Total n=95 (%) ^b
Hiperglicemia	32 (50),(33,7)	10 (62,5),(10,5)	4 (50),(4,2)	4 (57),(4,2)	50 (52,6)
Hipertrigliceridemia	29 (45,3),(30,5)	7 (43,8),(7,4)	6 (75),(6,3)	1 (1,4),(1)	43 (45,3)
Niveles bajos de HDL-C	39 (61),(41)	11 (68,8),(11,6)	4 (50),(4,2)	5 (71,4),(5,3)	59 (62)
Hipertensión Arterial	32 (50),(33,7)	9 (56,3),(9,5)	6 (75),(6,3)	6 (85,7),(6,3)	53 (55,8)
Síndrome Metabólico ¹⁴	30 (46,9),(31,6)	9 (56,),(9,5)	6 (75),(6,3)	7 (100),(7,4)	52 (54,7)

a: % dentro del grupo del rango señalado de IMC

b % dentro del total n=95

Según criterios de para definición de síndrome metabólico¹⁴

Tabla 3. Frecuencia genotípica del polimorfismo -55CT del gen UCP3 en individuos obesos con síndrome metabólico control y con alteraciones metabólicas

GENOTIPO	GRUPO CONTROL (n=46)		OBESOS GRUPO Ob/SM (n=52)		GRUPO Ob/NoSM (n=43)		TOTAL (n=141)	
	N	%	N	%	N	%	N	%
C/C	39	84,8	40	77	34	79,1	113	80
C/T	7	15,2	12	23	9	20,9	28	20

Sig: Grupos Obesos vs Control: p= 0,048; Ob/SM vs Control P=0,038; Ob/No SM vs Control: P =0,042 Ob/SM vs Ob/No SM: p = NS

Tabla 4. Comparación de parámetros antropométricos y metabólicos entre grupos portadores de genotipos -55C/C y -55T/T del gen UCP3

Variables	-55C/C	-55T/T	Sig (p)
Índice de masa corporal (kg/m ²)	33,5±5,3	35,4±6,1	0,805
% de grasa corporal	33,9±9,4	44,9±3,5	0,238
Circunferencia abdominal (cm)	102,8±9,9	110,8±18,6	0,336
Glicemia basal (mg/dl)	105,9±29,5	108,7±39,3	0,543
Insulina (mU/L)	21,6±12	20,6 ±12,2	0,784
Colesterol total (mg/dl)	207,7±54,5	197,6±51,8	0,708
Triacilglicéridos (mg/dl)	174,2±155	173,4 ±145	0,897
LDL-C (mg/dl)	129,2±35,5	123,4±35,8	0,283
HDL-C (mg/dl)	43,6±10,8	39,5±7,2	0,608
Presión Arterial Sistólica mmHg	122,3±19,3	128,1±19,1	0,590
Presión Arterial Diastólica mmHg	80,3±11	85,1±14	0,246

Agradecimiento

Al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico (CONDES) por el cofinanciamiento del proyecto de investigación CC-0397-10, para el estudio de variaciones genéticas asociadas con la obesidad.

Referencias

1. Organización Mundial de la Salud. Temas de salud: datos sobre la obesidad en el mundo. OMS, 2013. Disponible en <http://www.who.int/topics/obesity>.
2. Spearman JR, O'Rahilly S. Fat: an evolving issue. *Dis Model Mech* 2012;5:569-573.
3. Rojas J, Aguirre M, Velasco M, Bermúdez V. Obesity genetics: a monopoly game of genes. *Am J Ther* 2013;20:399-413.
4. Loos RJ, Bouchard C. Obesity is it a genetic disorder? *J Intern Med* 2003;254:401-425.
5. O'Rahilly S, Farooqi IS, Yeo GS, Challis BG. Minireview: human obesity-lessons from monogenic disorders. *Endocrinology* 2003;144:3757-64.
6. Damcott CM, Sack P, Shuldiner AR. The genetics of obesity. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2009;32:761-786.
7. Liu J, Li J, Li WJ, Wang CM. The Role of Uncoupling Proteins in Diabetes Mellitus. *J Diabetes Res* 2013;2013:585897.
8. Krauss S, Zhang C, Lowell BB. The mitochondrial uncoupling-protein homologues," *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005;6:248-61.
9. Schrauwen P, Hoeks J, Hesselink M. Putative function and physiological relevance of the mitochondrial uncoupling protein-3: Involvement in fatty acid metabolism?. *Prog Lipid Res* 2006;45:17-41.
10. Schrauwen P, Xia J, Walder K, Snitker S, Ravussin E. A novel polymorphism in the proximal UCP3 promoter region: effect on skeletal muscle. UCP3 mRNA expression and obesity in male non-diabetic Pima Indians. *Int J Obes* 1999;23:1242-45.
11. Brondani LA, Assmann TS, de Souza BM, Boucas AP, Canani LH, Crispim DP. Meta-Analysis Reveals the Association of Common Variants in the Uncoupling Protein (UCP) 1-3 Genes with Body Mass Index Variability. *PLoS ONE* 2014;9:e96411.
12. World Medical Association (WMA). Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. 64th WMA General Assembly, 2013. Disponible en <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>. Acceso Octubre 2013.
13. Bermúdez V, Marcano RP, Cano C, Arráiz N, Amell A, Cabrera M, Reyna N, Mengual E, Vega L, Finol F, Luti Y, Sánchez D, Sánchez W, González J, Montes J, Rojas E, Cano J, Cano R, Velasco M, Miranda JL. The Maracaibo City Metabolic Syndrome Prevalence Study: Design and Scope. *Am J Ther* 2010;17:288-94.
14. World Health Organization. The World Health Report 2003. Available at: <http://www.who.int/whr/2003/en/>
15. Health Statistics. NHANES III reference manuals and reports (CDROM). Hyattsville, MD: Centers for Disease Control and Prevention, 1996. Available at: <http://www.cdc.gov/nchs/data/nhanes/nhanes3/cdrom/NHCS/MANUALS/ANTHRO.pdf>
16. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JJ, Donato KA, Fruchart JC, James WP, Loria CM, Smith SC Jr. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and international association for the Study of Obesity. *Circulation*. 2009; 120: 1640-5.
17. Miller S., Dykes D., Polesky H.. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16:1215-8.
18. Cassell PG, Saker PJ, Huxtable SJ, Kousta E, Jackson AE, Hattersley AT, Frayling TM, Walker M, Kopelman PG, Ramachandran A, Snehalatha C, Hitman GA, McCarthy MI. Evidence that single nucleotide polymorphism in the uncoupling protein 3 (UCP3) gene influences fat distribution in women of European and Asian origin. *Diabetologia* 2000;43:1558-64.
19. Halsall DJ, Luan J, Saker P, Huxtable S, Farooqi IS, Keogh J, Wareham NJ, O'Rahilly S. Uncoupling protein 3 genetic variants in human obesity: the c-55t promoter polymorphism is negatively correlated with body mass index in a UK Caucasian population. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001;25:472-7.
20. de Luis DA, Aller R, Izaola O, Sagrado MG, Conde R. Modulation of adipocytokines response and weight loss secondary to a hypocaloric diet in obese patients by -55CT polymorphism of UCP3 gene. *Horm Metab Res* 2008;40:214-8.
21. Salopuro T, Pulkkinen L, Lindström J, Kolehmainen M, Tolppanen AM, Eriksson JG, Valle TT, Aunola S, Ilanne-Parikka P, Keinänen-Kiukkaanniemi S, Tuomilehto J, Laakso M, Uusitupa M. Variation in the UCP2 and UCP3 genes associates with abdominal obesity and serum lipids: the Finnish Diabetes Prevention Study. *BMC Med Genet* 2009;10:94.
22. Herrmann SM, Wang JG, Staessen JA, Kertmen E, Schmidt-Petersen K, Zidek W, Paul M, Brand E: Uncoupling protein 1 and 3 polymorphisms are associated with waist-to-hip ratio. *J Mol Med* 2003;8:327-32.
23. Jia JJ, Zhang X, Ge CR, Jois M. The polymorphisms of UCP2 and UCP3 genes associated with fat metabolism, obesity and diabetes. *Obes Rev* 2009;10:519-26
24. Hamada T, Kotani K, Fujiwara S, Sano Y, Domichi M, Tsuzaki K, Sakane N. The common -55 C/T polymorphism in the promoter region of the uncoupling protein 3 gene reduces prevalence of obesity and elevates serum high-density lipoprotein cholesterol levels in the general Japanese population. *Metabolism* 2008;57:410-5.
25. Azzu V, Brand MD. The on-off switches of the mitochondrial uncoupling proteins. *Trends Biochem Sci* 2010;35: 298-307.
26. Clapham JC, Arch JR, Chapman H, Haynes A, Lister C, Moore GB, Piercy V, Carter SA, Lehner I, Smith SA, Beeley LJ, Godden RJ, Herrity N, Skehel M, Changani KK, Hockings PD, Reid DG, Squires SM, Hatcher J, Trail B, Latcham J, Rastan S, Harper AJ, Cadenas S, Buckingham JA, Brand MD, Abuin A. Mice overexpressing human uncoupling protein-3 in skeletal muscle are hyperphagic and lean. *Nature* 2000;406:415-8.