

**Paulina Estrella
Ibarra**

**Diferencias en la expresión de miARN en tejido adiposo asociados a
obesidad y resistencia a la insulina.**

2022



**Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales**

**Diferencias en la expresión de miARN en tejido adiposo
asociados a la acumulación de grasa corporal y resistencia a la
insulina.**

Tesis

**Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Doctor en Ciencias Biológicas**

Presenta:

Paulina Estrella Ibarra

**Dirigido por:
Dr. Pablo García Solís**

**Co-dirigido por:
Dr. Andrés Cruz Hernández**

Querétaro, Qro. a



Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Ciencias Naturales

Doctorado en Ciencias Biológicas

Diferencias en la expresión de miARN en tejido adiposo asociados a la acumulación de grasa corporal y resistencia a la insulina.

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
Doctor en Ciencias Biológicas

Presenta:

Paulina Estrella Ibarra

Dirigido por:

Dr. Pablo García Solís

Dr. Andrés Cruz Hernández

Sinodales

Dr. Pablo García Solís
Co-Director

Firma

Dr. Andrés Cruz Hernández
Co-Director

Firma

Dr. Juan Carlos Solís Sáenz
Vocal

Firma

Dra. Olga Patricia García Obregón
Suplente

Firma

Dr. Jorge Luis Chávez Servín
Suplente

Firma

Centro Universitario, Querétaro, Qro.
Fecha 04 de Julio del 2022
México

RESUMEN

Los microARN (miARN) forman parte de los mecanismos epigenéticos que regulan la expresión génica. Cambios en la expresión de miARN en tejido adiposo (TA) podrían explicar los mecanismos moleculares de su disfunción asociados a la ganancia de grasa corporal. El objetivo de este estudio fue analizar la expresión de miR-193b, miR-378, miR-Let7-d y miR-222 en tejido adiposo visceral humano (VAT) y su asociación con obesidad, resistencia a la insulina (RI) y su papel en la regulación de genes que regulan la homeostasis del TA incluidas las adipocitocinas, el homólogo de fosfatasa y tensina (PTEN) y la proteína tumoral 53 (p53). Se invitó a participar a hombres y mujeres de 18-60 años de edad sometidos a cirugía electiva en el Hospital General de Querétaro. Se tomaron medidas antropométricas y de composición corporal, se hicieron determinaciones bioquímicas y de adipocitocinas. Se obtuvo TAV de sujetos con peso normal (NP), con sobrepeso y obesidad (SOB/OB) con y sin RI. Se utilizó la técnica stem-loop RT-qPCR para evaluar las diferencias en la expresión de miARN entre grupos de estudio. Se utilizaron las bases de datos miRTarBase 4.0, miRWalk y DIANA-TarBase v8 para determinar genes blancos experimentalmente validados de los miARN analizados. Se utilizó una qPCR para evaluar del ARNm de PTEN, p53, leptina (LEP) y adiponectina (ADIPOQ). La expresión de miR-222 fue menor en sujetos con RI. miR-222 y miR-378 se correlacionaron negativamente con el HOMA-IR. La expresión de ARNm de PTEN y p53 fue menor en sujetos SOB/OB con y sin RI, en comparación con el grupo NP y sus niveles se asociaron positivamente con la expresión de miR-222. Por otro lado, p53 y PTEN se asociaron positivamente con los niveles séricos de leptina. El miR-193b y miR-378 se correlacionaron negativamente con la leptina sérica pero no con los niveles de ARNm. miR-Let-7d se correlacionó negativamente con la adiponectina sérica pero no con los niveles de ARNm. Por lo tanto, niveles más bajos de miR-222 están asociados con RI y la expresión de PTEN y p53 en TAV, la implicación de estos genes en la homeostasis del TA necesita más investigación.

Palabras clave: microARN, obesidad, resistencia a la insulina, tejido adiposo visceral

SUMMARY

MicroRNA (miRNA) are part of epigenetic mechanisms that controls gene expression. Changes in miRNA expression in adipose tissue (AT) could explain molecular mechanisms of AT dysfunction associated to body fat gain. The aim of this study was to analyze the expression of miR-193b, miR-378, miR-Let7-d and miR-222 in human visceral adipose tissue (VAT) and their association with obesity, insulin resistance (IR) and its role in regulation of genes controlling adipose tissue homeostasis, including adipocytokines, the phosphatase and tension homologue (PTEN) and tumor protein 53 (p53). Men and women between 18 -60 years old undergoing elective surgery at the General Hospital of Querétaro were invited to participate. Anthropometric and body composition measures were taken, biochemical and adipocytokines determinations were analyzed. A VAT sample was obtained from normal weight (NW), overweight and obese (OW/OB) subjects with and without IR. Stem-loop RT-qPCR was used to evaluate miRNA expression levels. miRTarBase 4.0, miRWalk and DIANA-TarBase v8 were used for prediction of validated target gene of the miRNA analyzed. A qPCR was used to evaluate PTEN, p53, leptin (LEP) and adiponectin (ADIPOQ) mRNA. miR-222 was lower in IR subjects, miR-222 and miR-378 negatively correlated with HOMA-IR. PTEN and p53 are miR-222 direct targets according to databases. mRNA expression of PTEN and p53 was lower in OW/OB subjects with and without IR, compared to NW group and its levels positively associated with miR-222. Additionally, p53 and PTEN are positively associated with serum leptin levels. On the other hand, miR-193b and miR-378 negatively correlated with serum leptin but not with the mRNA levels. Moreover, miR-Let-7d negatively correlated with serum adiponectin but not with adiponectin mRNA levels. Lower miR-222 levels are associated with IR, and PTEN and p53 expression, the implication of these genes in adipose tissue homeostasis needs more research.

Key words: epigenetics, microRNA, obesity, insulin resistance, visceral adipose tissue

DEDICATORIAS

A mis padres Felipe Manuel y María del Pilar

A mi hermano Felipe Estrella

A los amigos que han sido parte de mi formación profesional y personal

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología-CONACyT por su apoyo en la realización de mis estudios de Doctorado.

A mis directores de tesis, Dr. Pablo García Solís y Dr. Andrés Cruz Hernández por aceptar ser mi guía, agradezco la confianza y apoyo para la realización de este proyecto.

A mi comité tutorial, Dr. Juan Carlos Solís Sáenz, Dra. Olga Patricia García Obregón y Dr. Jorge Luis Chávez Servín por sus contribuciones y observaciones al proyecto.

A mis compañeros de laboratorio Ana Karen Torres Arreola y Francisco Campos Maldonado, sin su apoyo no se habría podido llevar a cabo este proyecto.

A la M en C. Mariela Camacho Barrón, gracias por su apoyo en las actividades del laboratorio.

FINANCIAMIENTOS

Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología-CONACyT.

Por el apoyo con la beca de manutención.

Fondo de Proyectos Especiales de Rectoría FOPER-UAQ

Por el financiamiento otorgado para llevar a cabo el presente proyecto.

Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología (SMNE)

Por el financiamiento otorgado para llevar a cabo el presente proyecto.

INDICE

INTRODUCCIÓN	12
ANTECEDENTES.....	13
1. Obesidad: Definición y prevalencia.....	13
2. Tejido adiposo.....	13
2.1 Diferencias fisiológicas entre el TAS y TAV	14
2.2 Diferencias celulares entre el TAS y TAV	15
2.3 Diferencias en células inmunes entre el TAS y TAV.....	15
2.4 Diferencias endocrinas entre el TAS y TAV.....	19
3. Resistencia a la insulina	20
3.1 Mecanismo molecular de la resistencia a la insulina	20
4. MicroARN	21
4.1 Definición miARN.....	21
4.2 Expresión de miARN.....	22
4.3 Biogénesis de los miARN	22
5. MicroARN: Relación con obesidad y resistencia a la insulina.	24
5.1 miR-193	26
5.2 miR- 378	26
5.3 miR-126	26
5.4 miR-1934	26
5.5 Familia de miR-130.....	27
5.6 Familia de Let-7	27
5.7 Familia de miR-515.....	27
5.8 Familia de miR-221	28
5.9 miR-223	29
OBJETIVOS.....	30
Objetivo general	30

Objetivos específicos.....	30
HIPÓTESIS.....	30
MATERIALES Y METODOS.....	31
Sujetos y lugar de estudio	31
Diseño experimental	32
Evaluación antropométrica y composición corporal.....	33
Determinaciones bioquímicas.....	34
Adipocitocinas y resistencia a la insulina.....	34
Extracción de ARN total.....	34
Transcripción reversa y qPCR	35
Predicción de genes blanco de miARN	38
Análisis estadísticos	38
RESULTADOS.....	39
Características metabólicas entre los grupos de estudio.....	39
Expresión de miARN en TAV entre los grupos de estudio	41
Análisis de la expresión de genes blanco de los miARN (PTEN y p53)	43
Asociación entre la expresión de PTEN y p53 con leptina	45
Expresión de adipocitocinas y su asociación con la expresión de mi ARN	47
DISCUSIÓN	49
CONCLUSIÓN	54
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55

Índice de tablas

Tabla 1. Expresión alterada de miarn en tab de sujetos con obesidad.....	25
Tabla 2. Secuencias e información de los primers.....	37
Tabla 3. Características metabólicas entre grupos estudios (n= 29)	40
Tabla 4. Asociación entre la expresión de miarn y adipocitocinas (n= 29)	48

Índice de Figuras

Figura 1. Diferencias en células inmunes el Tas y Tav.....	16
Figura 2. Diferencias en células inmunes el Tas y Tav y su asociación con RI	18
Figura 3. Biogénesis de los miARN	24
Figura 4. Reclutamiento de los participantes	33
Figura 5. Descripción esquemática de la RT-PCR de miARN	36
Figura 6. Comparación de la expresión de miarn en TAV humano de participantes con normopeso (NP), sobrepeso y obesidad (SOB/OB) con y sin resistencia a la insulina (RI).....	42
Figura 7. Expresión de mARN de PTEN y p53 en VAT y su relación con los niveles de expresión de mir-222	44
Figura 8. Correlaciones entre mARN y concentraciones séricas de leptina con los niveles de mARN de PTEN y p53.....	46
Figura 9. Expresión de mARN de ADIPOQ y LEP en VAT.....	47

INTRODUCCIÓN

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, el sobrepeso y la obesidad se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud (OMS, 2020). De acuerdo a datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018-19 (ENSANUT 2018-19), la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad en población adulta es del 75.2%. La obesidad desencadena una serie de alteraciones en la estructura y función del tejido adiposo, estos cambios promueven el desarrollo de resistencia a la insulina (RI) (Lafontan, 2014). En México, estudios han reportado prevalencias de RI en mujeres del 9-16% y en hombres del 12-15% (Murguía-Romero et al., 2015).

La epigenética incluye una serie de mecanismos que regulan la expresión génica, esta se define como “cambios heredables en la expresión génica, sin que existan cambios en la secuencia del ADN” (Anderson et al., 2012). Los miARN, son parte de los mecanismos epigenéticos, estos se definen como moléculas de ARN no codificante de cadena sencilla, de una longitud de 21-24 nucleótidos, de expresión endógena, que regulan la expresión génica a un nivel post-transcripcional. Los miARN normalmente se unen por complementariedad de bases a un ARN mensajero blanco (mARN), la interacción miARN-mARN resulta en la inhibición de la traducción del mARN o en su degradación. Un miARN puede regular la expresión de hasta mil genes y un solo gen puede ser regulado por diferentes miARN (Kim, 2005).

Estudios han reportado miARN diferencialmente expresados en tejido adiposo en individuos con obesidad (Heneghan et al., 2011; Arner et al., 2015). Algunos de estos miARN regulan la expresión genes asociados al desarrollo de RI (Kulyté et al., 2014). El objetivo de este estudio fue analizar la expresión de miR-193b, miR-378, miR-Let7-d y miR-222 en tejido adiposo visceral humano (VAT) y su asociación con obesidad, RI y su papel en la regulación de genes que controlan la homeostasis del TA incluidas las adipocitocinas, PTEN y p53.

ANTECEDENTES

1. Obesidad: Definición y prevalencia.

De acuerdo la Organización Mundial de la Salud (OMS), el sobrepeso y la obesidad se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. Según datos de la OMS, la obesidad a nivel mundial se ha duplicado desde 1980, en el 2016 más de 1900 millones de adultos mayores de 18 años tenían sobrepeso (39%) y alrededor de 650 millones tenían obesidad (13%) (OMS, 2020). De acuerdo a datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018-19 (ENSANUT 2018-19), la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad en población adulta es del 75.2%. En mujeres, la prevalencia de sobrepeso es del 36.6% y la de obesidad del 40.2%, mientras que en hombres la prevalencia de sobrepeso es del 42.5% y de obesidad del 30.5% (ENSANUT 2018-19).

2. Tejido adiposo

El tejido adiposo blanco (TAB) está formado por adipocitos y por la fracción del estroma vascular que a su vez está conformada por pre-adipocitos, células endoteliales, fibroblastos, macrófagos, leucocitos y nervios (Harwood, 2012). De acuerdo a su distribución, el TAB se divide en subcutáneo (TAS) y visceral (TAV). El TAS se encuentra debajo de la piel en el área abdominal, femoral y glútea. El TAV está localizado alrededor de los órganos vitales, dentro del peritoneo y la caja torácica (Harwood, 2012). Alrededor del 80% del TAB se localiza en el TAS mientras que el TAV representa de un 10-20% en mujeres y de un 5-8% en hombres (Ibrahim, 2010).

2.1 Diferencias fisiológicas entre el TAS y TAV

Actividad de la lipoproteína lipasa (*LPL*): Una determinante del tamaño del adipocito es la cantidad de triglicéridos (TG) que almacena, esto depende de la síntesis endógena de ácidos grasos (AG), contribuyendo con un 20% y la capacidad de los adipocitos de tomar ácidos grasos libres (AGL) de la circulación. Los AG circulantes se encuentran en su mayoría incorporados a lipoproteínas, la *LPL* es la encargada de su hidrólisis e incorporación a los adipocitos (Walker et al., 2014). Se ha reportado que en los adipocitos subcutáneos la actividad de la *LPL* es mayor que en adipocitos viscerales (Tchernof et al., 2006).

Lipólisis estimulada por catecolaminas: Los adipocitos viscerales son más sensibles a la lipólisis estimulada por catecolaminas en comparación a los adipocitos subcutáneos (Hoffstedt et al., 1997). La obesidad se asocia a un incremento en la lipólisis en adipocitos del TAV, esto se atribuye al aumento de la actividad de receptores β adrenérgicos (β -2 y β -3) y a la disminución de la actividad receptores α 2-adrenérgicos (Arner, 1995). Los AGL liberados del TAV, son directamente drenados al hígado y contribuyen con el desarrollo de RI (Arner, 1995; Boden y Shulman, 2002). A nivel de TAS, se ha observado una disminución de la lipólisis en los adipocitos de sujetos obesos en relación aquellos normopeso, esto se atribuye a una disminución de la actividad de receptores β adrenérgicos (β -2 y β -3) y a un aumento en la actividad del receptor α 2-adrenérgico (Mauriege et al., 1991; Jocken et al., 2008). Este fenómeno se ha descrito como “resistencia a las catecolaminas” y se cree que podría estar favoreciendo la preservación masa grasa al evitar la lipólisis en el TAS (Reilly y Saltiel, 2017).

Sensibilidad a la insulina: El TAS es más sensible a la acción de la insulina que el TAV, esto determinado por la capacidad que tiene la hormona de inhibir la lipólisis (Bouder et al., 1983). Se ha reportado que individuos con obesidad y diabetes mellitus 2 (DM2) presentan mayor RI en el tejido adiposo en comparación con individuos con obesidad con tolerancia normal a la glucosa (Gastaldelli et al., 2017).

2.2 Diferencias celulares entre el TAS y TAV

Hipertrofia: Los adipocitos del TAS presentan un diámetro mayor que los adipocitos del TAV (Gyllenhammer et al., 2016; Muir et al., 2016). La hipertrofia del TAB es una característica de todos los individuos con obesidad, el incremento en el índice de masa corporal (IMC) y la masa grasa total se asocia a un aumento en el diámetro del adipocito tanto en TAV como TAS (Drolet et al., 2008; Veilleux et al., 2011).

Hiperplasia: El TAS tiene mayor capacidad de hiperplasia que el TAV (Drolet et al., 2008). Es posible que la hiperplasia del TAB se desarrolle en formas más severas de obesidad. Se ha reportado que en individuos que ganaron un 25% de su peso corporal, no se observaron cambios en el número de adipocitos subcutáneos (Salans et al., 1971; Arner y Spalding, 2010). Por otro lado, se ha demostrado que el número de adipocitos subcutáneos se asocia con mayor sensibilidad a la insulina (Rydén et al., 2014).

2.3 Diferencias en células inmunes entre el TAS y TAV

Los macrófagos y linfocitos T son las células del sistema inmune que se encuentran en mayor proporción en la fracción del estroma vascular del TAB. Existen diferencias en la composición de células del sistema inmune entre TAS y TAV (**Figura 1**). A su vez, cambios en la composición de estas células en el TAB son determinantes de la inflamación crónica de bajo grado, la cual favorece el desarrollo de RI (Dam et al., 2016). Los cambios en las células inmunes entre TAV y TAS y su asociación con obesidad y RI se resumen en la **Figura 2**.

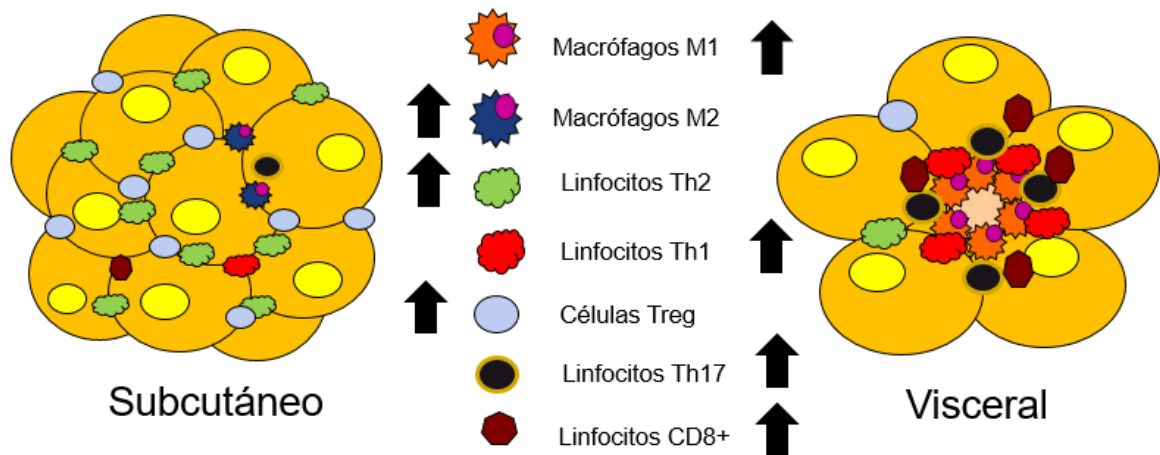


Figura 1. Diferencias en células inmunes el TAS y TAV

Cambios en el número y tipo de células inmunes en tejido adiposo visceral y subcutáneo

Macrófagos: Independientemente del IMC y la presencia de RI, el TAV se caracteriza por tener mayor número de macrófagos que el TAS; sin embargo, la obesidad y RI se asocian a un aumento en el número de macrófagos tanto a nivel de TAS como TAV (Harman-Boehm et al., 2007; McLaughlin et al., 2008). La hipertrofia de los adipocitos causa su muerte por hipoxia y posterior necrosis, esto induce la infiltración de macrófagos al TAB los cuales forman estructuras tipo corona alrededor del adipocito muerto (Cinti et al., 2005; Murano et al., 2008). Los macrófagos se dividen de acuerdo a su fenotipo en macrófagos clásicamente activados “M1” o alternamente activados “M2”. Los macrófagos “M1” se caracterizan por secretar citosinas proinflamatorias, mientras que los macrófagos “M2” se asocian con la remodelación del tejido y la resolución de la inflamación (Dam et al., 2016). En individuos con obesidad existe una mayor proporción de macrófagos M1, los cuales se encuentran en mayor proporción en el TAV en relación al TAS (Aron-Wisniewsky et al., 2009). Macrófagos residentes en TAS y TAV con fenotipo M1 se asocian con RI (Wentworth et al., 2010).

Linfocitos T: En el TAB se han identificado diferentes tipos de linfocitos T, que incluyen a los linfocitos colaboradores CD4+ (principalmente los subtipos Th1, Th2 y Th17), linfocitos citotóxicos (CD8+) y células Treg. Los linfocitos Th1, Th17 y CD8+ se caracterizan por tener un perfil proinflamatorio e inducen la polarización de macrófagos “M1”, mientras que los linfocitos Th2 y las células Treg poseen un perfil antiinflamatorio e inducen el fenotipo de macrófagos “M2” (Dam et al., 2016).

Células Treg: Las células Treg se caracterizan por secretar IL-10 y factor de crecimiento transformante β (TFG β), lo que ayuda a inhibir la actividad de linfocitos proinflamatorios (Dam et al., 2016). El TAS posee mayor número de linfocitos Treg que el TAV (Gyllenhammer et al., 2016; McLaughlin et al., 2014). Contrario a lo que se podría pensar, en sujetos obesos se ha reportado un incremento de marcadores específicos de células Treg tanto en el TAV como en el TAS, esto podría deberse a un mecanismo compensatorio del incremento en la proporción de linfocitos Th1 y CD8+ (Zeyda et al., 2011; Travers et al., 2015). Por otro lado, se ha reportado que el número de células Treg se asocia de manera positiva con el HOMA- β (Gyllenhammer et al., 2016).

Linfocitos Th1: En comparación con el TAS, el TAV posee mayor número de linfocitos Th1 (O'Rourke et al., 2009; Tracey McLaughlin et al., 2014) . La frecuencia de Th1 es 10 a 20 veces mayor que la de linfocitos Th2, tanto en TAS como TAV (McLaughlin et al., 2014). Se ha demostrado un incremento en la expresión de marcadores de linfocitos Th1 tanto en TAV como TAS de sujetos con obesidad (Zeyda et al., 2011).

Linfocitos Th2: El TAS posee mayor número de linfocitos Th2 que el TAV (Tracey McLaughlin et al., 2014; Gyllenhammer et al., 2016) . Se ha demostrado que en sujetos obesos hay un incremento en el número de linfocitos Th2 en el TAV, pero no en TAS cuando se compara con sujetos normopeso. Al igual que en células Treg, el incremento de Th2 podría actuar como un mecanismo compensatorio del proceso inflamatorio del TAB (Zeyda et al., 2011). Aunque no se han evaluado diferencias en el número de Th2 entre sujetos obesos con y sin RI, se ha demostrado que la

proporción de células Th2 se asocia de manera inversa con marcadores de RI (McLaughlin et al., 2014).

Linfocitos Th17: En comparación con el TAS, el TAV posee mayor número de linfocitos Th17 (O'Rourke et al., 2009; Tracey McLaughlin et al., 2014). Se ha encontrado que tanto en TAV como TAS existe un incremento en las poblaciones de células Th17 en sujetos con obesidad en comparación con sujetos normopeso, el incremento es aún mayor si los sujetos además de tener obesidad presentan diagnóstico de DM2 (Bertola et al., 2012; Dalmas et al., 2014).

Linfocitos CD8+: En comparación con el TAS, el TAV posee mayor número de linfocitos CD8+ (O'Rourke et al., 2009; Tracey McLaughlin et al., 2014). Se ha demostrado que la obesidad induce un incremento en la proporción de linfocitos CD8+ en TAV y TAS, lo cual contribuye al reclutamiento de macrófagos (Duffaut et al., 2009; Nishimura et al., 2009).

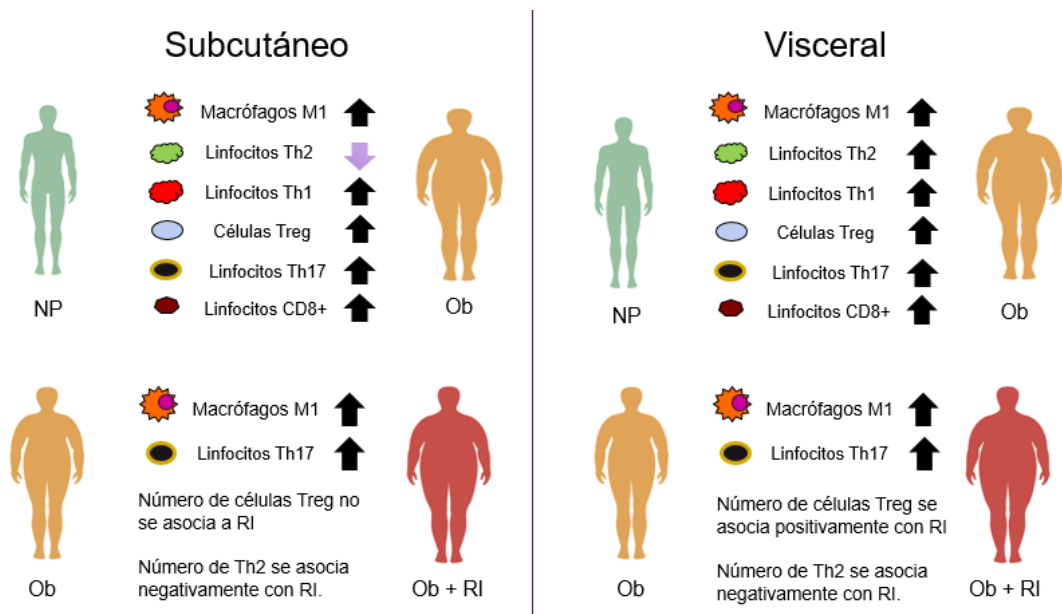


Figura 2. Diferencias en células inmunes el TAS y TAV y su asociación con RI

Cambios en el número y tipo de células inmunes en tejido adiposo visceral y subcutáneo asociados a obesidad y resistencia a la insulina. (NP, normopeso; Ob, Obesidad; Ob + RI, obesidad y resistencia a la insulina).

2.4 Diferencias endocrinas entre el TAS y TAV

El TAB es reconocido como un órgano endócrino, produce y secreta citocinas y hormonas, denominadas adipocitocinas. Entre las adipocitocinas, que han sido identificadas se encuentran la leptina, adiponectina, resistina, lipocalina-2, la proteína transportadora de retinol 4 (RBP4), vaspina, visfatina, omentina, apelina, el factor de necrosis tumoral α (TNF- α), interleucina (IL-6), la proteína quimiotáctica de monocitos (MPC-1), por mencionar algunas. El patrón de expresión de algunas de estas adipocitocinas, es variable y no siempre su expresión se limita al TAB (Vázquez-Vela et al., 2008; Harwood, 2012;).

La obesidad se caracteriza por una alteración de la función endocrina del TAB, incrementa la expresión de MCP-1, leptina, resistina, RBP4, visfatina, apelina, TNF- α , IL-6 y disminuye la expresión de adiponectina (T. McLaughlin et al., 2008; Zou y Shao, 2008). La función que ejercen algunas de estas adipocitocinas dentro del organismo, sigue siendo tema de investigación. La disminución de la RBP4, se asocia a un incremento de la expresión del transportador de glucosa 4 (GLUT4) (Vázquez-Vela et al., 2008). Se ha demostrado que en individuos con obesidad hay un aumento en los niveles séricos de resistina y sus concentraciones se asocian directamente con RI (Azuma et al., 2003; L. Liu et al., 2016). La visfatina se expresa predominantemente en el TAV, tiene funciones que mimetizan la acción de la insulina, su rol en la RI asociada a la obesidad, aún no está claro (Zou y Shao, 2008). La apelina, incrementa la contractibilidad cardíaca y disminuye la presión sanguínea, se cree que su producción es regulada positivamente por la insulina (Vázquez-Vela et al., 2008). La IL-6 es una citocina implicada en el desarrollo de la RI, interrumpe la cascada de señalización de la insulina al disminuir la expresión del sustrato receptor de insulina 1 (IRS1) e inhibir su fosforilación en tirosinas (Rotter et al., 2013). La MCP-1 es una quimiocina, sintetizada por el TAB, que promueve la infiltración de monocitos a este tejido en donde son activados para convertirse en macrófagos los cuales liberan citocinas proinflamatorias que inducen RI (Reilly y Saltiel, 2017).

La hiperleptinemia es una manifestación característica de la obesidad, causada por una “resistencia a la leptina” (Saínz et al., 2015). Mayores concentraciones de leptina se asocian a mayor riesgo de síndrome metabólico, hipertensión arterial, alteración en el perfil de lípidos y niveles de glucosa (Galletti et al., 2012; Leon-Cabrera et al., 2013). La adiponectina, posee funciones antiinflamatorias y antiaterogénicas, además, aumenta la sensibilidad a la insulina (Freitas Lima et al., 2015). En sujetos con obesidad se ha reportado una reducción de los niveles plasmáticos de adiponectina debido a una reducción de la expresión génica a nivel del TAS. La hipoadiponectemia se asocia con mayor riesgo de RI, DM2 y enfermedades cardiovasculares (Koenig et al., 2006; Guenther et al., 2014; Lindberg et al., 2016).

3. Resistencia a la insulina

La RI se caracteriza por una disfunción de la acción de esta hormona, provocando un incremento en sus concentraciones con la finalidad de mantener los niveles de glucosa normal. La RI favorece el desarrollo de DM2 (Saini, 2010). No existen datos de la prevalencia nacional de RI; sin embargo, algunos estudios que se han llevado a cabo en distintas zonas del país reportan una prevalencia del 9-12% en hombres y aproximadamente del 16% en mujeres (Murguía-Romero et al., 2015; Guerrero-Romero et al., 2016).

3.1 Mecanismo molecular de la resistencia a la insulina

Las citocinas proinflamatorias como TNF- α e IL-6, derivadas de los macrófagos M1 infiltrados en el TAB y de los adipocitos, promueven su lipólisis, incrementando los niveles de AGL en el torrente sanguíneo (Lafontan, 2014). El incremento de los AGL y diacilglicerol, favorecen la fosforilación de residuos de serina/treonina del IRS mediante un mecanismo dependiente de la activación de isoformas nuevas de PKC como PKC δ y PKC θ , esto reduce la habilidad del IRS de unirse al receptor de

insulina, dañando la cascada de señalización de la insulina (Saini, 2010). Los AGL tienen la capacidad de unirse a receptores tipo TOLL4, activando a los macrófagos, los cuales liberan citosinas proinflamatorias (Lafontan, 2014). Citosinas como TNF- α , IL-6 e IL1 β , encienden vías de señalización dentro del adipocito, que incluyen la activación de JNK1 (por sus siglas en inglés stress-responsive c-Jun NH2-terminal kinase), IKK (cinasa inhibidora de IK β), ERK (cinasa regulada por señales extracelulares) y la MAPK p38 (proteína cinasa activada por mitógenos), que finalmente fosforilan al IRS, en residuos de serina y treonina (Castoldi et al., 2016).

4. MicroARN

4.1 Definición miARN

La epigenética se define como cambios heredables en la expresión génica, sin que existan cambios en la secuencia del ADN. Los cambios epigenéticos se caracterizan por ser reversibles, son afectados por factores ambientales y son específicos de tejido. Entre los mecanismos epigenéticos se encuentra la metilación del ADN, la modificación de las proteínas histonas y los microARN (miARN) (Milagro et al., 2012). Los miARN son moléculas de ARN no codificante de cadena sencilla de una longitud de 21-24 nucleótidos, de expresión endógena y son parte de los mecanismos de regulación de la expresión génica que actúan a nivel post-transcripcional (Kim, 2005). Para que un ARN pequeño sea considerado un miARN, debe cumplir con los siguientes criterios (Ambros et al., 2003).

Criterios de expresión

- A. Detección de un transcrito de ARN de 22 nucleótidos, puede realizarse mediante un método de hibridación (Northern blott).
- B. Identificación de la secuencia de 22 nucleótidos en una biblioteca hecha de ARN fraccionado.

Criterios de biogénesis

- A. Predicción de una secuencia precursora que contenga la secuencia de 22 nucleótidos y que tenga la capacidad de formar estructuras de tipo horquilla.

- B. Conservación filogenética de la secuencia de 22 nucleótidos y su secuencia precursora que forma estructura tipo horquilla.
- C. Detección de la acumulación de la secuencia precursora en ausencia de la función de DICER.

Para que un ARN pequeño sea considerado como un miARN deben cumplirse los criterios tanto de expresión como de biogénesis. Idealmente un miARN debe cumplir el criterio de expresión A y los criterios de biogénesis B y C. En ausencia del criterio C, el criterio de expresión A y el criterio B de biogénesis es suficiente para realizar la identificación de un miARN (Ambros et al., 2003).

4.2 Expresión de miARN

Los miARN representan el 1% del genoma humano, aproximadamente el 30% de los genes son regulados por miARN (Bartel, 2004; Lewis et al., 2005). Un solo miARN tiene capacidad de regular hasta mil genes y un solo gen puede ser regulado por varios miARN (Bartel 2004, Bartel 2009). De acuerdo a la base miRBase, actualmente se tienen identificados 38,589 miARN, de los cuales alrededor 2,685 corresponden a secuencias maduras de miARN de humanos (MiRBase v 21).

Los genes de los miARN pueden localizarse en regiones intrónicas e intergénicas, la mayoría se localizan en regiones intergénicas. En los seres humanos la mayoría de los miARN se transcriben como unidades de transcripción independientes, algunos miARN se encuentran formando “clusters” en el genoma y se transcriben como una sola unidad y son regulados por el mismo promotor; por lo tanto, se transcriben como una unidad policistriónica. Los miARN localizados en regiones intrónicas se liberan durante el proceso de splicing (Bartel 2004; Kim 2005).

4.3 Biogénesis de los miARN

Biogénesis en animales: Los miARN se transcriben como transcritos primarios (pri-miARN) por la ARN polimerasa II. Los transcritos primarios tienen una longitud de varias kilobases y tienen la capacidad de formar estructuras tipo horquilla. Al igual

que los ARN mensajeros (ARNm), los miARN sufren de un procesamiento que consiste en la adición de la caperuza de 7-metilguanosina en el extremo 5' y la adición de la una cola de poli-A en el extremo 3'. Dentro del núcleo, el pri-miARN es procesado por complejo de proteínas denominado “microprocesador”. El microprocesador se encuentra formado por una ARN nucleasa tipo III (Drosha) y dos proteínas DGCR8 que tienen la función de estabilizar a Drosha y ayudan con el reconocimiento de pri-miARN. El microprocesador libera una estructura de alrededor de 70 nucleótidos conocida como miARN precursor (pre-miARN) (Inui et al., 2010; Kim, 2005). El pre-miARN es exportado al citosol por la exportina-5 y sufre un segundo procesamiento por una ARN nucleasa de tipo III (Dicer), esto da lugar a un miARN maduro de doble cadena con una longitud de aproximadamente de 22 pares de bases. La proteína Dicer se encuentra altamente conservada entre especies, se han reportado 2 diferentes isotipos de Dicer, Dicer-1 que se requiere para el corte del pre-miARN y Dicer-2 necesaria para la formación de ARN interferente (siARN). Una de las cadenas de la secuencia madura del miARN, se carga a la proteína Argonauta formando el complejo silenciador inducido por ARN (RISC, por sus siglas en inglés “RNA-induced silencing complex”) (Bartel 2004; Kim 2005). En humanos se han identificado 4 miembros de la subfamilia de la proteína Ago, siendo Ago 2 la única con actividad silenciadora (Ipsaro y Joshua-Tor, 2015). El miARN reconoce por complementariedad de bases la región 3'UTR del ARNm. A diferencia de las plantas en donde la complementariedad de bases entre el miARN y el ARNm es perfecta, en los animales el miARN tiene una región específica denominada “semilla” que comprende de los nucleótidos 2-7 y 2-8 en el extremo 5' que se une a la región 3'UTR del ARNm (Kim, 2005; Huntzinger y Izaurralde, 2011). A través de RISC, el miARN inhibe la traducción de ARNm o promueve su degradación (**Figura 3**) (Kim, 2005; Huntzinger y Izaurralde, 2011).

Biogénesis en plantas: A diferencia de los animales, en plantas no se han encontrado homólogos de DROSHA. El procesamiento de pri-miARN a pre-miARN y de pre-miARN al miARN maduro es llevado a cabo por Dicer-1, dentro del núcleo. Otra diferencia, es la 2'-O-metilación en el extremo 3' del dúplex de miARN, esto le

confiere estabilidad y protección contra las nucleasas para que pueda ser exportado de núcleo al citosol (Bartel 2004; Kim 2005).

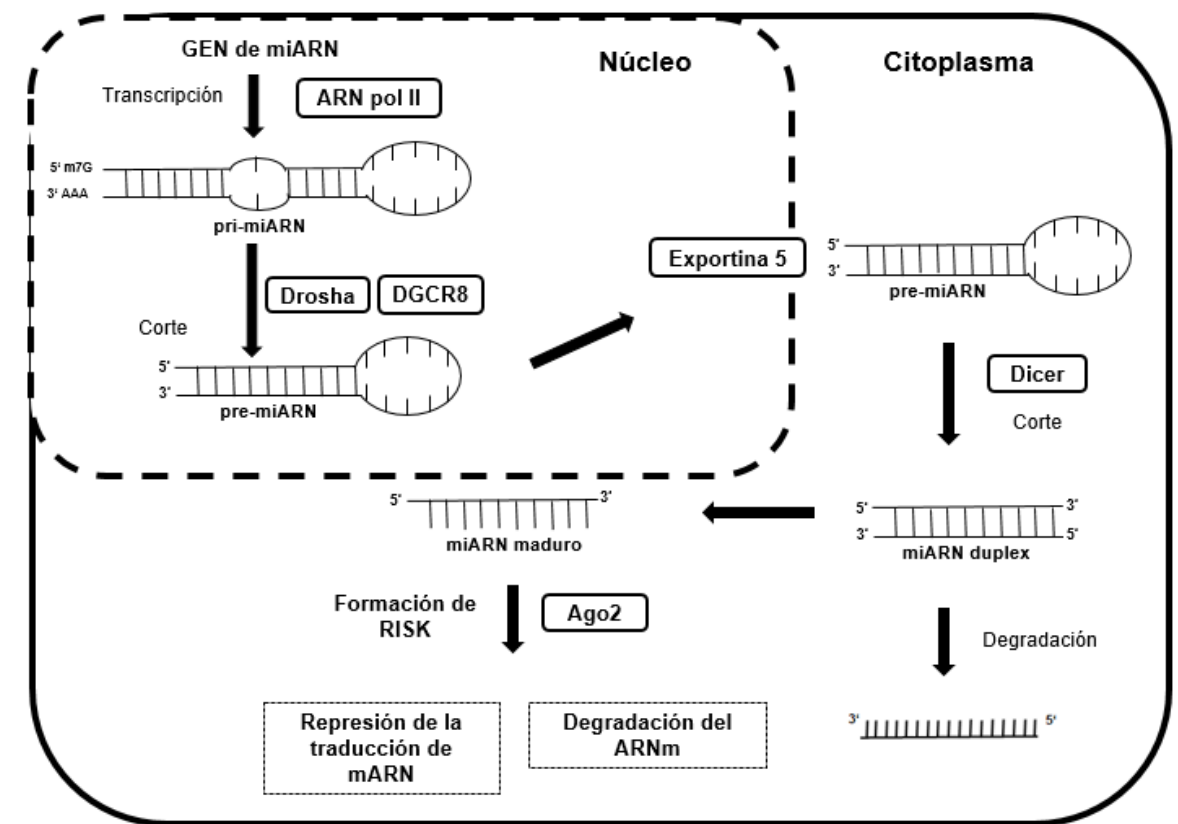


Figura 3. Biogénesis de los miARN

Tomado de (Estrella Ibarra et al. 2021)

5. MicroARN: Relación con obesidad y resistencia a la insulina.

Diferentes estudios han demostrado miARN diferencialmente expresados en TAB con obesidad en comparación con sujetos normopeso (**Tabla 1**). Se han identificado blancos regulados por miARN implicados en el desarrollo de RI.

Tabla 1. Expresión alterada de miARN en TAB de sujetos con obesidad

Autor	Tipo de TAB	Grupos de estudio	miARN sobre-expresados	miARN reprimidos
Martinelli et al. 2010	TAS	Control (IMC < 30, n=9) Obesidad (IMC >40, n= 10)	miR-519d, miR-498, miR-150	miR-659, miR-371-3p
Ortega et al. 2010	TAS	Control (IMC < 30, n=6) Obesidad sin DM2 (IMC >40, n= 13). Obesidad con DM2 (IMC >40, n= 7).	Obesidad sin DM2 vs control	
			miR-185, miR-139-5p, miR-484, miR-130b	miR-221, miR-125b, miR-99a miR-1229
			Obesidad sin DM2 vs obesidad con DM2	
miR-484, miR-130b, miR-K12-7	miR-221, miR-125b, miR-199a-5p, miR-1229			
Heneghan et al. 2011	TAV	Control (IMC < 25, n=10) Obesidad (IMC >40, n= 19).	-	miR-17-5p, miR-132
Arner et al. 2012	TAS	Control (IMC < 30, n=20) Obesidad (IMC > 30, n= 30).	-	miR-26a, miR-92a, miR-30c, miR-126, miR-143, miR-145, miR-193a-5p, miR-652, miR-let7a, miR-let 7d
Meerson et al. 2013	TAS	Control (IMC < 30, n=9) Obesidad (IMC>37, n= 10).	miR-221, miR-146a, miR-494, miR-146b	miR-139, miR-193a, miR-193b-5p, miR-500
L. Liu et al. 2016	TAV	Control (IMC < 30, n=6) Obesidad (IMC >30, n= 6).		miR-1934
Deiuliis et al. 2016	TAV	Control (IMC < 25, n=21) Obesidad (IMC >25, n= 14).	miR-223	

IMC, índice de masa corporal (kg/m²); DM2; diabetes tipo 2; SAT: tejido adiposo subcutáneo; VAT: tejido adiposo visceral; TAB: tejido adiposo blanco.
Tomado de (Estrella Ibarra et al. 2021)

5.1 miR-193

La familia del miR-193 está formada por 1 miembro. Se ha reportado que la expresión del miR-193b está reprimida en el TAS en individuos con obesidad (Meerson et al., 2013; Kulyté et al., 2014). Los principales genes blancos del miR-193b implicados en la obesidad y el desarrollo de RI son la adiponectina, IL-6 y MCP-1 (Arner et al., 2012; Belarbi et al., 2015). La sobreexpresión de miR-193b reduce la secreción de IL-6 en adipocitos subcutáneos humanos (Arner et al., 2012). La sobreexpresión del miR-193b también ha demostrado aumentar la secreción de adiponectina en adipocitos subcutáneos humanos, se ha demostrado que miR-193b reprime la expresión del NF- κ B, un co-represor del gen de adiponectina (Park et al., 2004; Belarbi et al., 2015). El miR-193b regula negativamente la expresión de factores de transcripción que participan en la activación de MCP1. En los adipocitos subcutáneos humanos se ha demostrado que el miR-193b disminuye la secreción de MCP1 (Belarbi et al., 2015).

5.2 miR- 378

La familia de miR-378 consta de 5 miembros, se ha reportado que este miARN está sobre-expresado en TAS de individuos con obesidad. El gen de la adiponectina es un blanco directo del miR-378, (Ishida et al., 2014; Ortega et al., 2010).

5.3 miR-126

La familia de miR-126 consta de 1 miembro, la expresión de este miARN está reprimida en TAS en individuos con obesidad. La MCP1 es un blanco directo del miR-126b, (Kulyté et al., 2014; Santovito et al., 2014; Belarbi et al., 2015).

5.4 miR-1934

La expresión del miR-1934 esta reprimida en TAV de individuos con obesidad. El miR-1934 inhibe la expresión de la IL-6, la IL1 β y la MCP-1 (Liu et al., 2016).

5.5 Familia de miR-130

La familia del miR-130 está formada por 4 miembros. La expresión de miR-130a y miR-130b está reprimida en TAS en individuos con obesidad (Lee et al., 2011; Ortega et al., 2010). El factor de transcripción PPAR γ es un blanco directo del miR-130a y miR-130b (Lee et al., 2011). PPAR γ es conocido como el regulador maestro de la adipogénesis. La activación del PPAR γ reprime la transcripción de genes proinflamatorios como TNF α , IL-6 e IL1- β , además regula positivamente la expresión de la adiponectina (Sharma y Staels, 2007). En individuos con obesidad incrementa la expresión del PPAR γ en TAS (Redonnet et al., 2002; Lee et al., 2011) Sin embargo, en personas con obesidad con complicaciones metabólicas disminuye la expresión de este factor de transcripción (Dubois et al. 2006; Kursawe et al. 2010). Cambios en la expresión de PPAR γ pueden actuar como un mecanismo adaptativo del inicio de obesidad y su expresión puede verse afectada por otras alteraciones metabólicas (Redonnet et al., 2002; Dubois et al., 2006).

5.6 Familia de Let-7

La familia de Let-7 está formada por 10 miembros producto de 13 secuencias precursoras. La expresión de miembros de la familia de Let-7 está reprimida en TAS en sujetos obesos (Arner et al., 2012). La familia de Let-7 regula diversos genes implicados en las respuestas inflamatorias como IL-6 e IL-1 β (Brennan et al., 2017). En células de carótida humana y células espumosas de ratón, el tratamiento con Let-7d disminuye la expresión de IL-1 β e IL-6 inducida por TNF α (Brennan et al. 2017). De igual forma, la transfección con Let-7c en células mesenquimales resultó en una disminución de la expresión de IL-6 (Sung et al., 2013).

5.7 Familia de miR-515

MiR 519, pertenece a la familia de miR-515, la cual consta de 51 miembros. El miR-519 está sobre-expresado en TAS en individuos con obesidad mórbida (Martinelli et al., 2010). El factor de transcripción PPAR α es un blanco directo del miR-519d (Sung et al., 2013). El PPAR α regula la expresión de diferentes genes involucrados en la

β -oxidación como la *carnitina palmitoil-transferasa* y la *acil-CoA oxidasa*, su activación promueve oxidación de AGL lo que reduce la RI (Ferré, 2004).

5.8 Familia de miR-221

La familia de miR-221 consiste en dos miembros el miR-221 y el miR-222. Se ha reportado que tanto el miR-221 como el miR-222 están sobreexpresados en TAS de sujetos con obesidad (Ortega et al., 2010; E. Arner et al., 2012). El receptor de adiponectina 1 (ADIPORI) es un blanco directo del miR-221 (Meerson et al., 2013; Lustig et al., 2014). ADIPORI se expresa abundantemente en el músculo esquelético y la adiponectina ejerce sus efectos mediante la unión a este receptor. En el músculo la adiponectina disminuye la RI al promover la oxidación de AGL (Yoon et al., 2006; Ghoshal & Bhattacharyya, 2015). La sirtuina 1 (SIRT1) es otro blanco directo del miR-221 (Peng et al. 2017). La SIRT1 pertenece a la familia de deacetilasas de histonas dependientes de NAD⁺, esta proteína aumenta la sensibilidad a la insulina en el TA, incrementa la expresión de adiponectina y además inhibe la expresión de genes proinflamatorios como la IL-6, el TNF α , la MCP1, la JNK y la IL1- β (Qiao y Shao, 2006; Yoshizaki et al., 2009; Cao et al., 2016).

El miR-222 está implicado en la sensibilidad a la insulina al asociarse a la represión de la expresión del GLUT4, este transportador permite la entrada de glucosa al interior a la célula y se localiza en músculo y en adipocitos. La transfección del miR-222 en adipocitos 3T3-L1 disminuye la expresión de GLUT4, mientras que el silenciamiento de este miARN disminuye la toma de glucosa estimulada por insulina en un 40% (Shi et al., 2014). La expresión de GLUT4 puede ser un indicador de la capacidad del adipocito de responder a la acción de la insulina. Individuos obesos con DM2 presentan una reducción de la expresión de GLUT4 en tejido adiposo subcutáneo (Kouidhi et al., 2013).

5.9 miR-223

La familia de miR-223 está conformada por un único miembro, este miARN está sobre-expresado en TAS de individuos con obesidad. El GLUT4 es un blanco directo de miR-223, (Chuang et al., 2015; Deiuliis et al., 2016).

OBJETIVOS

Objetivo general

Analizar las diferencias en la expresión de miARN asociadas a la acumulación de grasa corporal y resistencia a la insulina.

Objetivos específicos

1. Analizar las diferencias de miR-222, miR-193b, miR-378 y miR-Let-7d en tejido adiposo visceral entre sujetos normopeso, sujetos con sobrepeso y obesidad con y sin resistencia a la insulina.
2. Predecir a través de análisis bioinformático blancos de los miARN involucrados en la homeostasis del tejido adiposo.
3. Determinar la asociación de la expresión de miARN analizados con adipocitocinas.
4. Analizar la expresión de blancos de miARN involucrados en la vía de señalización de la resistencia a la insulina.

HIPÓTESIS

Existen diferencias en la expresión de miR-222, miR-193b, miR-378 y miR-Let-7d en tejido adiposo visceral entre sujetos normopeso, sujetos con sobrepeso y obesidad con y sin resistencia a la insulina.

MATERIALES Y METODOS

Sujetos y lugar de estudio

Se invitó a participar a mujeres y hombres de 18 a 55 años de edad, los cuales fueron intervenidos por cirugía electiva (funduplicatura de Nissen y colecistectomía abierta o laparoscopia) en el Hospital General del Estado de Querétaro. Todos los participantes recibieron información tanto oral como escrita de los procedimientos del estudio y se les dio a firmar una carta de consentimiento informado. Este estudio se hizo de acuerdo a los lineamientos de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial donde se señalan a detalle principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. El protocolo fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ) y el Comité Estatal de Investigación del Estado de Querétaro.

Criterios de inclusión

Se incluyeron adultos de 18 a 55 años de edad que fueron intervenidos por cirugía electiva, que aceptaran participar en el estudio y firmaran la carta de consentimiento informado.

Criterios de exclusión

Se excluyeron aquellos individuos que tomaron suplementos de vitaminas y/o minerales en los últimos 3 meses, que tuvieran una discapacidad física o mental que no permita la evaluación antropométrica, que padecieran de alguna enfermedad de tipo crónico diagnosticada como diabetes mellitus, hipertensión arterial, cáncer, enfermedades hepáticas o renales. Individuos con obesidad mórbida ($IMC > 40\text{kg/m}^2$). También se excluyeron personas que realizan actividad física intensa, personas que tuvieran una pérdida de peso mayor al 10% en los últimos 3 meses, personas que estuvieran bajo tratamiento para bajar de peso, mujeres

menopaúsicas, embarazadas, en periodo de lactancia o bajo un tratamiento hormonal.

Tamaño de la muestra

Muestreo no probabilístico por conveniencia. El tamaño de la n, fue determinado basándose en estudios previos que han comparado cambios en la expresión de miARN utilizando biopsias de tejido adiposo (Heneghan et al., 2011; Crujeiras et al., 2017).

Diseño experimental

De un total de 103 participantes que fueron invitados a participar en el estudio, 29 participantes fueron seleccionados para el análisis de miARN (**Figura 4**). Los participantes fueron divididos en tres grupos de estudio; sujetos normopeso sin resistencia a insulina (NR, n= 10), sujetos con sobrepeso y obesidad sin resistencia a la insulina (SOB/OB sin RI, n= 10) y sujetos con sobrepeso y obesidad con resistencia a la insulina (SOB/OB con RI, n= 9). A todos los participantes se les aplicó una historia clínica, un cuestionario de actividad física y nivel socioeconómico. Se tomaron medidas antropométricas que incluyeron el peso, la talla, circunferencia de cintura y circunferencia de cadera. La determinación de composición corporal se hizo mediante bioimpedancia eléctrica. Se tomó una muestra de sangre en ayunas para la determinar los niveles de glucosa, insulina, colesterol HDL, colesterol LDL, colesterol total, leptina, adiponectina, TNF- α , IL-6 y CRP. Finalmente, se recolectó una muestra de tejido adiposo de epiplón para los análisis de miARN y el análisis de genes blanco.

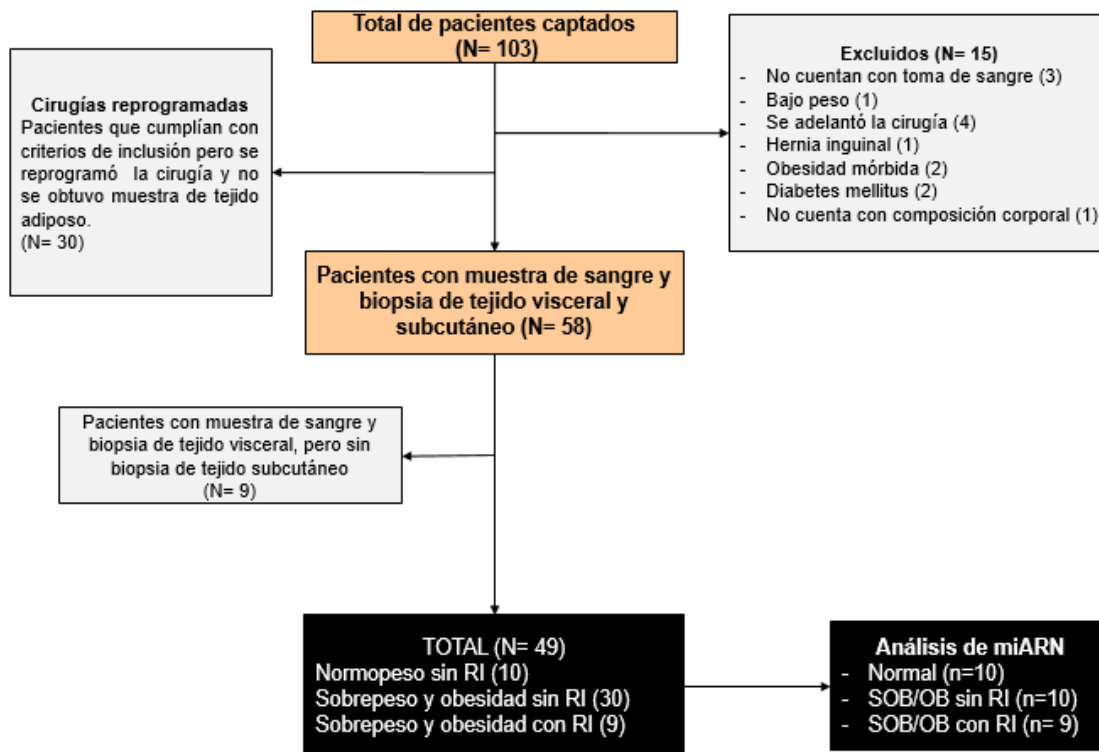


Figura 4. Reclutamiento de los participantes

Cuestionarios

Se aplicó una historia clínica que incluía los antecedentes personales patológicos y antecedentes heredofamiliares, consumo de medicamentos, suplementos de vitaminas y minerales, consumo de alcohol y tabaco. El nivel socioeconómico se evaluó utilizando el cuestionario de nivel socioeconómico (NSE) de la AMAI, el cual consta de 6 categorías (AMAI, 2018). La actividad física se evaluó utilizando la versión corta del Cuestionario Internacional de Actividad Física (IPAQ, International physical activity questionnaire). La cual clasifica el nivel de actividad física en baja, moderada y alta (Lee et al., 2011).

Evaluación antropométrica y composición corporal

La toma de peso se hizo en ayunas utilizando una báscula digital (SECA, Mod 813) con una precisión de 0.1g. Para la toma de talla, los sujetos se midieron descalzos

y en posición recta, utilizando un estadímetro (SECA, Mod 2131) con una precisión de 0.1cm. La circunferencia de cintura y la circunferencia de cadera se tomaron con una cinta de fibra de vidrio flexible (SECA Mod 200) con una precisión de 0.1cm. De acuerdo a los criterios de la OMS, los participantes se clasificaron de acuerdo al IMC en normopeso ($18.5-24.9 \text{ kg/m}^2$), sobrepeso ($25.0-29.9 \text{ kg/m}^2$) y obesidad ($30.0-39.9 \text{ kg/m}^2$) (World Health Organization 2020).

Determinaciones bioquímicas

Se tomó una muestra de sangre en ayunas a cada sujeto mediante punción venosa en el brazo. Se separó el suero de las muestras de sangre por centrifugación a 1800-2000 rpm por 15 minutos y se almacenó en alícuotas a -70°C para su posterior análisis. La determinación de glucosa, colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL y triglicéridos se hizo mediante espectrofotometría automatizada (VITROS® 350 Chemistry System, Ortho Clinical Diagnostic).

Adipocitocinas y resistencia a la insulina

La determinación de adiponectina, leptina, CRP e $\text{TNF-}\alpha$ se hizo mediante un ensayo de ELISA utilizando kits comerciales de Life Technologies Corporation (Invitrogen, USA), para IL-6 se utilizó el kit comercial Quantikine (R&D Systems, UK). La determinación de insulina se hizo utilizando el kit Human Insulin ELISA Animal Serum Free (MERCK, GER). Se utilizó un fotómetro de microplacas (Thermo Labsystems Multiskan Ascent 354 Microplate Photometer). La resistencia a la insulina se calculó mediante el índice HOMA (Homeóstasis Model Assessment) utilizando la calculadora HOMA2 (v2.2.3) de ©Diabetes Trials Unit, University de Oxford. Para definir la RI se tomó un punto de corte ≥ 2.50 (Acaso et al., 2003).

Extracción de ARN total

Durante la cirugía, se recolectó una muestra de tejido adiposo de aproximadamente 3g del epiplón. La toma de la biopsia la hizo el cirujano encargado del procedimiento quirúrgico. Una vez obtenida la biopsia se lavó con solución salina estéril, se cortó

en trozos pequeños, se guardó en sobres de papel aluminio y se congeló con nitrógeno líquido hasta su transporte al Laboratorio de Endocrinología y Nutrición donde la muestra se almacenó a -80°C para su posterior análisis. Para la extracción de ARN, se pesó alrededor de 100 mg de tejido adiposo, las muestras fueron molidas con nitrógeno líquido hasta obtener un polvo fino. La extracción se hizo con TriZol (TRizol™ Reagent, Invitrogen, USA) de acuerdo las indicaciones del fabricante. La cuantificación se hizo mediante espectrofotometría utilizando un NanoDrop (Thermo Scientific™ ONE, Wilmington). Finalmente se verificó la integridad por electroforesis con geles de agarosa al 2% (**Anexo 1-6**).

Transcripción reversa y qPCR

Para el análisis de la expresión de miARN se utilizó la metodología de Chen *et al* (Chen et al. 2005) . Esta metodología permite el análisis de secuencias maduras de miARN y consta de dos pasos (i) formación de un stem-loop cDNA por RT (ii) un qPCR convencional. En el primer paso, se utiliza un primer con una longitud de aproximadamente 50 nucleótidos que es complementario aproximadamente a 8 nucleótidos del miARN en el extremo 3' y a 7 nucleótidos del miARN en el extremo 5' esto permite la formación de una estructura tipo horquilla, cada primer es específico de miARN. En el segundo paso, el cDNA que es específico de cada miARN se amplifica por un PCR convencional (**Figura 6**). El diseño de los primers se hizo de acuerdo con la metodología reportada por Czimmerer *et al* (Czimmerer et al. 2013). Las secuencias maduras para miARN se tomaron de la base de datos de miRBase; hsa-mir-193b (MIMAT0004767), hsa-miR-378 (MIMAT0014999), hsa-let-7d-5p (MIMAT0000065) y hsa-mir-222 (MIMAT0004569).

Para la síntesis de cDNA de los miARN se utilizó el kit RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Fisher, USA). Las reacciones de 20 µl de RT contenían 200 ng de ARN total, 1 µl de stem-loop primer al 1 µM, 1 µl de dNTP al 10 mM, 1 µl de RevertAid M-MuLV RT, 4 µl de tampón de reacción 5X y 1 µl de inhibidor de riboLock RNasa. El ARN total, el stem-loop primer y los dNTPs se calentaron a 65°C durante

5 minutos, posteriormente se enfriaron en hielo durante 5 minutos. Luego se añadieron los reactivos restantes, y la reacción completa se incubó a 16°C durante 30 minutos, seguido de 60 ciclos de 20°C/30 s, 42°C/30 y 50°C/1 s. El RevertAid M-MuLV RT se inactivó calentando las reacciones a 85°C durante 10 minutos y luego enfriándolo y manteniéndolo a 4°C. Para el qPCR en tiempo real se utilizó el kit Maxima SYBR Green qPCR Master Mix (2X) (ThermoFisher) con un sistema CFX96 Real-Time System (BIORAD). El volumen final de la reacción de qPCR fue de 12 µl, se agregaron 200ng de cADN específico de cada miARN, 6.0 µl Maxima SYBR Green qPCR Master Mix (2X), 0.2 µM de primer forward y 0.2 µM de reverso, el volumen de la reacción se completó con agua libre de nucleasas. El protocolo de PCR consistió en un periodo de incubación de 95°C por 3 minutos, seguido de 35-45 ciclos de 95°C/10s, 51°C/10s y 60°C/10 s. Se utilizó RNU6 para normalizar la expresión de genes de miARN. La expresión génica se calculó utilizando el método $\Delta\Delta Ct$.

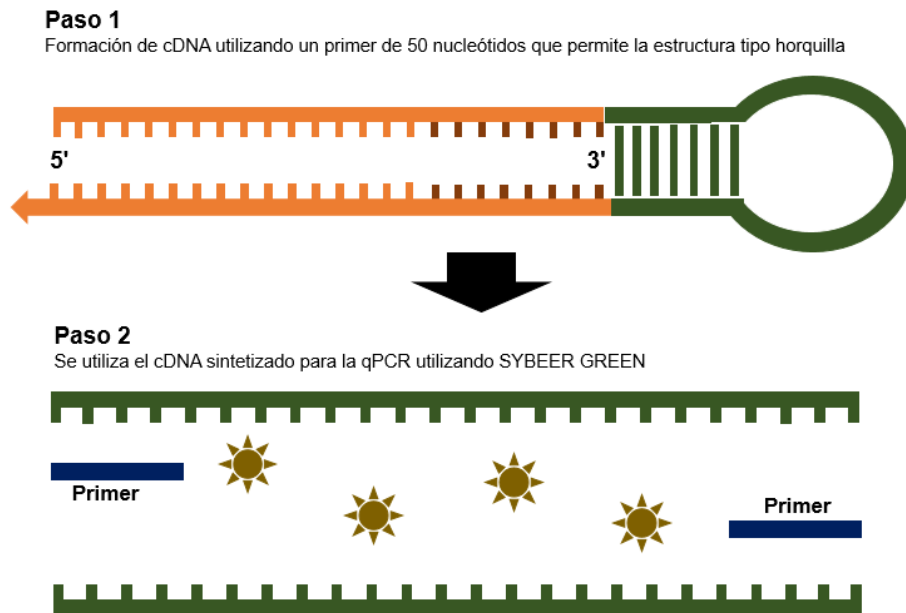


Figura 5. Descripción esquemática de la RT-PCR de miARN

Se utiliza un primer con una longitud de aproximadamente 50 nucleótidos, complementario al extremo 3' del miARN y a 7-8 nucleótidos del extremo 5' esto permite la formación de una estructura tipo horquilla. En el segundo paso, el cDNA se amplifica por un qPCR.

Para el análisis de la expresión de p53, PTEN, ADIPOQ y LEP. La síntesis de cDNA se hizo con el kit Radiant™ cDNA Synthesis Kit, 1-Step, siguiendo las indicaciones del fabricante. Para la qPCR se utilizó el kit RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Fisher, USA). El volumen final de la reacción de qPCR fue de 12 μ l, se agregaron 200ng de ARN total, 6.0 μ l Maxima SYBR Green qPCR Master Mix (2X), 0.2 μ M de primer forward y 0.2 μ M de reverso, el volumen de la reacción se completó con agua libre de nucleasas. El protocolo consistió en un periodo de incubación de 95°C por 3 minutos, seguido de 40-45 ciclos de 95°C/15s, Tm/30s y 72°C/30s. Se usó β - actina para normalizar la expresión de genes. Las secuencias de los primers se encuentran en la **Tabla 2**. La expresión génica se calculó utilizando el método $\Delta\Delta Ct$.

Tabla 2. Secuencias e información de los primers

Gen	Secuencia de primers	Longitud (pb)	Temperatura de alineación (Tm°C)
<i>RNU6</i>	F 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3' R 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'	96	60
<i>PTEN</i>	F 5'-AAGCTGGAAAGGGACGAACT-3' R 5'-CGCCTCTGACTGGGAATAGT-3'	145	60
<i>TP53</i>	F 5'-TCCTCAGCATCTTATCCGAG-3' R 5'-CACCACCACACTATGTCTGA-3'	85	62
<i>ADIPOQ</i>	F 5'-GGCCGTGATGGCAGAGAT-3' R 5'-CCTTCAGCCCCGGGTA-3'	110	60
<i>LEPTIN</i>	F 5'-CCAACGACCTGGAGAACCTCCGGGATC-3' R 5'-GTCCTGCAGAGACCCCTGCAGCCTGCT-3'	176	57
β -ACTIN	F 5'-AAGGAGAAGCTGTGCTACGTC-3' R 5'-CTGTGTTGGCGTACAGGTCT-3'	256	60

Predicción de genes blanco de miARN

Para la selección de genes blanco de los miARN se utilizaron bases de datos que contiene genes experimentalmente validados de miARN, miRTarBase 4.0 (https://mirtarbase.cuhk.edu.cn/~miRTarBase/miRTarBase_2022/php/index.php), miRWalk 2.0 (<http://mirwalk.umm.uni-heidelberg.de/>) y DIANA-TarBase v8 (https://carolina.imis.athena-innovation.gr/diana_tools/web/index.php?r=tarbasev8%2Findex). Los genes blanco se seleccionaron si estaban validados en al menos dos de las bases de datos.

Análisis estadísticos

La normalidad de la distribución de todas las variables se evaluó mediante la prueba ómnibus de D'Agostino-Pearson en toda la cohorte y en cada uno de los grupos de estudio. Las variables con distribución normal se analizaron mediante una ANOVA de una vía con una prueba de comparaciones múltiples de Bonferroni o con una t-Student, dependiendo si se comparaban tres o dos grupos de estudio, los datos se expresaron como media \pm DE. Por otro lado, las variables con distribución no gaussiana se analizaron con la prueba de Kruskal-Wallis con una prueba *post-hoc* de Dunn, los datos se expresaron como mediana y rango intercuartílico (25-75). Se utilizaron correlaciones bivariadas de Pearson y correlaciones parciales para analizar la asociación entre los miARN con las variables de adipocitocinas y la expresión de p53, PTEN, ADIPOQ y LEP. El porcentaje de grasa corporal, la edad y el sexo se utilizaron como covariables para las correlaciones parciales. Todos los datos se analizaron utilizando SPSS versión 23 (IBM® SPSS®) y GraphPad Prism 8 (GraphPad Software). La significancia estadística se estableció con un valor de $P < 0.05$.

RESULTADOS

Características metabólicas entre los grupos de estudio.

Las diferencias entre las variables antropométricas y de composición corporal se muestran en la **Tabla 3**. Como era de esperarse el IMC ($P < 0.001$), la circunferencia de cintura ($P = 0.018$) y la circunferencia de cadera ($P = 0.018$) fue mayor en grupo de sujetos con SOB/OB con y sin RI comparado con sujetos NP. El porcentaje de grasa corporal fue significativamente mayor que el grupo SOB/OB con RI ($P = 0.011$) pero similar al grupo de SOB/OB sin RI. Las diferencias entre las determinaciones bioquímicas y adipocitocinas se encuentran en la **Tabla 3**. No se encontraron diferencias en el perfil de lípidos entre los grupos de estudio. Como era de esperarse los niveles de insulina ($P = 0.006$) y HOMA-IR ($P < 0.001$) fueron significativamente mayores en el grupo SOB/OB con RI en comparación con el grupo NP y SOB/OB sin RI. Finalmente, en relación a los niveles de adipocitocinas, el grupo NP presentaron menores niveles de CRP ($P = 0.002$) comparado con el grupo SOB/OB con y sin RI. De igual manera, el grupo NP presentó menores niveles de leptina ($P = 0.004$) y mayores niveles de adiponectina ($P = 0.025$) que el grupo SOB/OB con RI, pero similares al grupo SOB/OB sin RI. Las concentraciones de IL-6 fueron mayores el grupo SOB/OB sin RI comparado con el grupo NP y SOB/OB con RI ($P = 0.036$).

Tabla 3. Características metabólicas entre grupos estudios (n= 29)

Variable	NP (n= 10)	SOB/OB sin RI (n= 10)	SOB/OB con RI (n= 9)	Total (n= 29)	P ¹
Edad (años)	31.2 ± 8.6	31.8 ± 8.6	33.1 ± 11.3	32.0 ± 9.2	0.908
Sexo (Mujer/Hombre)	9/10	8/2	6/3	23/6	
IMC (kg/m ²)	22.4 ± 2.2 ^a	31.2 ± 4.6 ^b	33.1 ± 3.1 ^b	28.8 ± 5.0	<0.001
Cintura (cm)*	77.7 (74.5-82.7) ^a	100.1 (87.8-107.3) ^b	101.8 (92.0-106.7) ^b	93.6(79.6-103.6)	0.018
Cadera (cm)*	90.5 (89.4-94.3) ^a	113.0(101.6-114.9) ^b	109.9(103.6-113.9) ^b	106.2(93.7-114.1)	0.018
ICC	0.8 ± 0.0	0.8 ± 0.0	0.9 ± 0.0	0.8 ± 0.0	0.087
Porcentaje de grasa (%)	30.9 ± 3.3 ^a	36.4 ± 8.0 ^{ab}	40.6 ± 6.4 ^{bc}	36.0 ± 7.2	0.011
Glucosa (mg/dL)*	83.7(77.0-86.5)	86.5(79.7-103.2)	92.0(84.0-101.1)	86.0(80.5-98.5)	0.162
Insulina (uU/mL)	13.0 ± 2.7 ^a	13.5 ± 2.4 ^a	26.7 ± 5.6 ^b	17.4 ± 7.3	0.006
HOMA2-IR	1.6 ± 0.3 ^a	1.7 ± 0.3 ^a	3.3 ± 0.7 ^b	2.2 ± 0.9	<0.001
Colesterol (mmol/L)*	159.0(125.5-176.0)	192.5(125.7-213.2)	162.0(133.0-202.0)	162.0(130.5-197.5)	0.481
Triglicéridos (mmol/L)*	126.0(89.7-156.7)	112.5(72.2-167.0)	174.0(127.5-193.5)	134.0(87.5-179.5)	0.154
HDL (mmol/L)*	43.5(34.5-50.7)	37.5(34.0-41.7)	39.0(32.0-46.5)	39.0(32.0-46.5)	0.680
LDL (mmol/L)	86.6 ± 22.0	103.1 ± 41.1	93.1 ± 35.3	94.3 ± 33.2	0.501
CRP (mg/L)*	0.4(0.1-0.9) ^a	2.2(1.1-8.6) ^b	2.0(1.6-5.5) ^b	1.5(0.6-3.7)	0.002
Leptina (pg/mL)	161.5 ± 90.9 ^a	315.3 ± 163.1 ^{ab}	520.2 ± 332.3 ^{bc}	325.8 ± 254.1	0.004
TNF-α (pg/mL)	11.5 ± 6.7	10.3 ± 5.1	9.7 ± 5.5	10.6 ± 5.7	0.202
IL-6 (pg/mL)	1.6 ± 0.6 ^a	4.1 ± 3.1 ^{bc}	2.9 ± 0.8 ^{ab}	2.8 ± 2.0	0.036
Adiponectina (ng/mL)	2.2 ± 1.1 ^a	1.4 ± 0.6 ^{ab}	1.1 ± 0.4 ^{bc}	1.6 ± 0.9	0.025

Los datos se expresan como medias ± DE para variables paramétricas y mediana con rango intercuartílico (25-75) para variables no paramétricas. Las variables que siguieron una distribución Gaussiana se analizaron con un ANOVA de una vía (dos colas) con un *post-hoc* de Bonferroni con corrección para múltiples comparaciones. *Las variables no paramétricas se analizaron con una prueba Kruskal-Wallis (dos colas) con un *post-hoc* de Dunn. Nivel de significancia *P* <0.05. ICC, índice cintura-cadera; NP, normopeso; SOB/OB, sobrepeso y obesidad; RI, resistencia a la insulina.

Expresión de miARN en TAV entre los grupos de estudio

No se encontraron diferencias en la expresión de miR-193b ($P= 0.287$), miR-Let-7d ($P= 0.873$), miR-378 ($P= 0.076$) y miR-222 ($P= 0.053$) en TAV en el grupo NP, SOB/OB con y sin RI (**Figura 6, A-G**). Cuando la expresión fue analizada considerando únicamente el diagnóstico de RI, se encontró una tendencia en la reducción de miR-378 ($P= 0.054$), también se encontró una disminución de la expresión de miR-222 ($P= 0.019$) (**Figura 6, H**) en los sujetos con RI. No se encontraron diferencias en la expresión de miR-193b y miR-Let-7d entre el grupo con y sin RI.

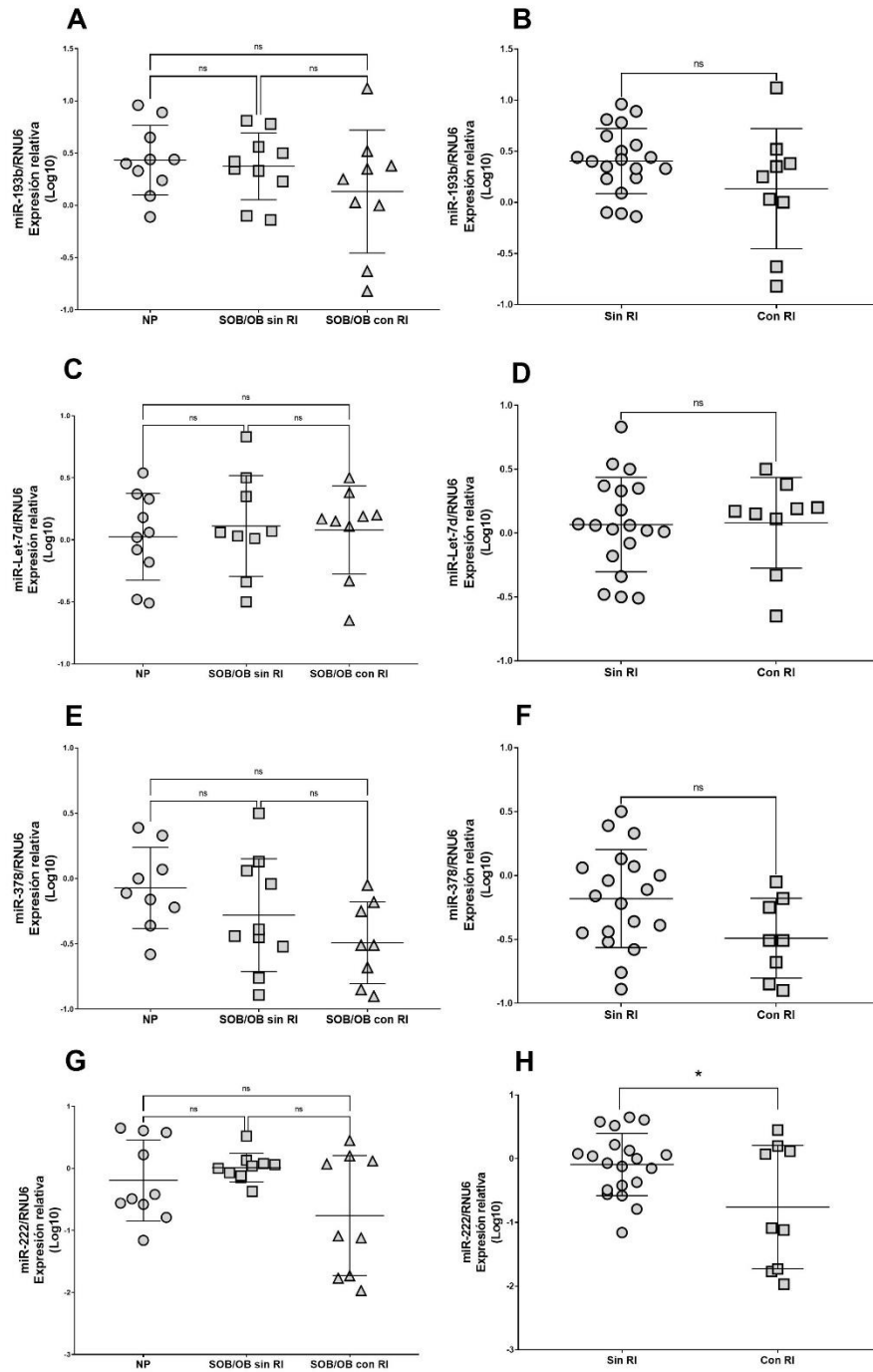


Figura 6. Comparación de la expresión de miARN en TAV humano de participantes con normopeso (NP), sobrepeso y obesidad (SOB/OB) con y sin resistencia a la insulina (RI). miR-193b (A & B), miR-Let-7d (C & D), miR-378 (E & F), miR-222 (G & H). Los datos se presentan como medias y DE. Las comparaciones entre los tres grupos se hicieron con un ANOVA de una vía (dos colas) con una corrección de Bonferroni para múltiples comparaciones. Las comparaciones entre los dos grupos de estudio se analizaron con una t de Student. Nivel de significancia, * $P < 0.05$.

Análisis de la expresión de genes blanco de los miARN (PTEN y p53)

De acuerdo a las bases de datos de genes blancos validados de miARN, miRTarBase 4.0 y miRWalk 2.0, PTEN y p53 son blancos de miR-222. Se encontró una reducción de la expresión de PTEN en VAT del grupo de sujetos con SOB/OB con RI comparado con el grupo SOB/OB sin RI ($P= 0.002$) y NP ($P<0.001$) (**Figura 7, A**). También, se encontró una disminución de la expresión de p53 en VAT de grupo de SOB/OB con RI comparado con el grupo SOB/OB sin RI ($P= 0.009$) y NP ($P= 0.002$) (**Figura 7, B**). Se encontró una correlación negativa entre el HOMA-IR con los niveles de expresión de PTEN y p53 ($r= -0.567$, $P= 0.001$; $r= -0.415$, $P= 0.035$; respectivamente). La asociación entre PTEN y el HOMA-IR siguió siendo significativa después de ajustar por sexo, edad y porcentaje de grasa corporal total ($r= -0.456$, $P= 0.022$); sin embargo, la asociación entre p53 y el HOMA-IR no siguieron siendo significativas después del ajuste por covariables ($r= -0.074$, $P= 0.744$).

Se analizó la asociación entre la expresión de miR-222 con la expresión de PTEN y p53. miR-222 se asoció positivamente con los niveles de PTEN ($r= 0.584$, $P < 0.001$) y p53 ($r= 0.504$, $P= 0.008$) (**Figura 7, C-D**). La asociación entre miR-222 con PTEN y p53 siguió siendo significativa después del ajuste por sexo, edad y porcentaje de grasa corporal total ($r= 0.735$, $P < 0.001$; $r= 0.546$, $P= 0.009$; respectivamente). Finalmente, se encontró una asociación positiva entre la expresión de PTEN y p53 (**Figura 7, E**), la asociación siguió siendo significativa después de ajuste de covariables ($r= 0.601$, $P= 0.003$).

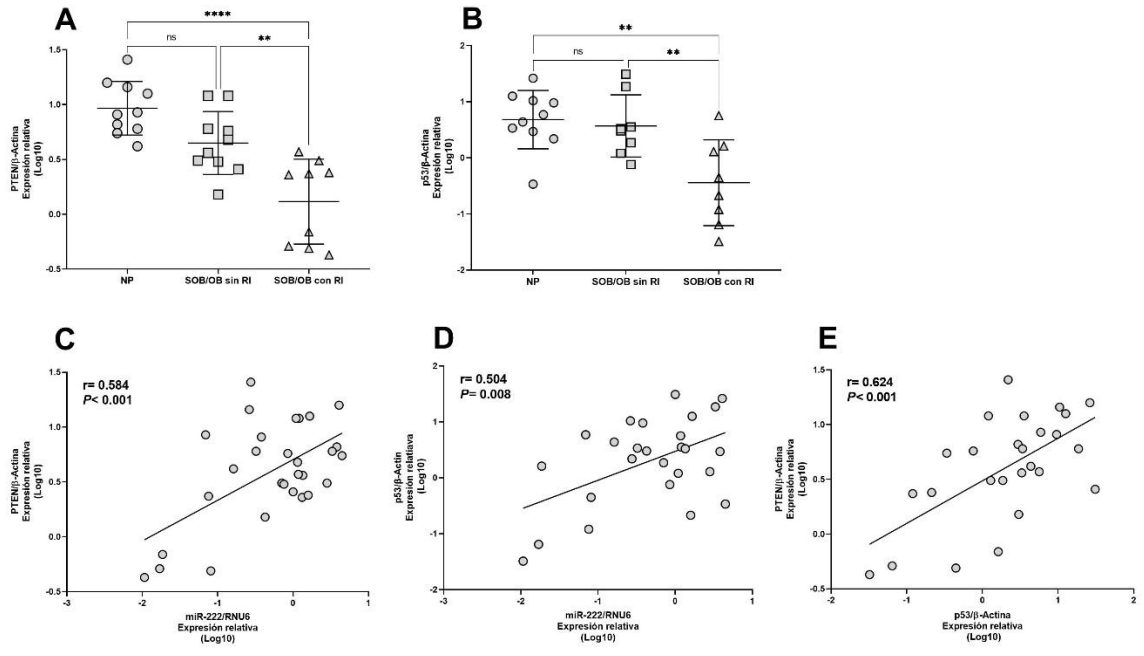


Figura 7. Expresión de mRNA de PTEN y p53 en VAT y su relación con los niveles de expresión de miR-222. Comparación de la expresión de mRNA de PTEN (A) y p53 (B) en VAT de participantes con normopeso (NP), sobrepeso y obesidad (SOB/OB) con y sin resistencia a la insulina (RI). Los datos se expresan como media \pm DE. Para la comparación entre grupos de estudio se realizó un ANOVA de una vía (de dos colas) con una corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples. Correlaciones de Pearson entre mRNA de PTEN (C) y p53 (D) con los niveles de expresión de miR-222. Correlación de Pearson entre el mRNA PTEN y mRNA de p53 (E). Nivel de significancia, ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

Asociación entre la expresión de PTEN y p53 con leptina

Se analizó la asociación entre los niveles de mARN y niveles séricos de leptina con los niveles de expresión de PTEN y p53. Se encontró una asociación negativa entre los niveles de mARN de PTEN y las concentraciones séricas de leptina (**Figura 8, A**), la asociación permaneció significativa después del ajuste de covariables ($r = -0.681$, $P = <0.001$). No se encontró asociación entre la expresión de PTEN y los niveles de mARN de leptina (**Figura 8, C**). Por otro lado, se encontró una asociación negativa entre la expresión de mARN de p53 y las concentraciones séricas de leptina (**Figura 8, B**); sin embargo, la asociación dejó de ser significativa después del ajuste por covariables ($r = -0.332$, $P = 0.131$). Finalmente, se encontró una asociación positiva entre los niveles de mARN de p53 y leptina (**Figura 8, D**), la asociación permaneció significativa después del ajuste de covariables ($r = 0.427$, $P = 0.048$).

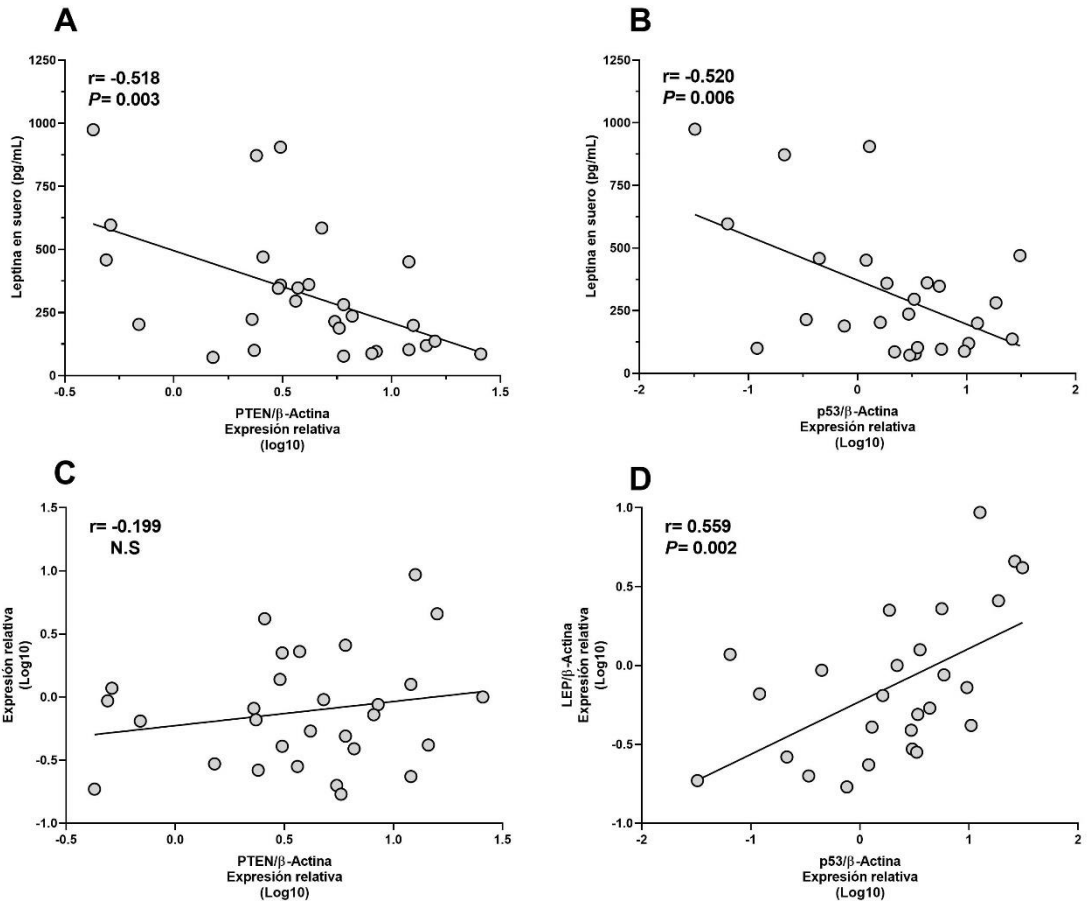


Figura 8. Correlaciones entre mRNA y concentraciones séricas de leptina con los niveles de mRNA de PTEN y p53. Correlaciones de Pearson entre leptina sérica y la expresión de mRNA de PTEN (A) y p53 (B). Correlaciones de Pearson entre los niveles de mRNA de leptina con los niveles de expresión de mRNA de PTEN (C) y p53 (D). Nivel de significancia, ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

Expresión de adipocitocinas y su asociación con la expresión de mi ARN

No se encontraron diferencias en la expresión de ADIPOQ y LEP entre los grupos de estudio ($P= 0.330$, $P= 0.804$; respectivamente) (**Figura 9**).

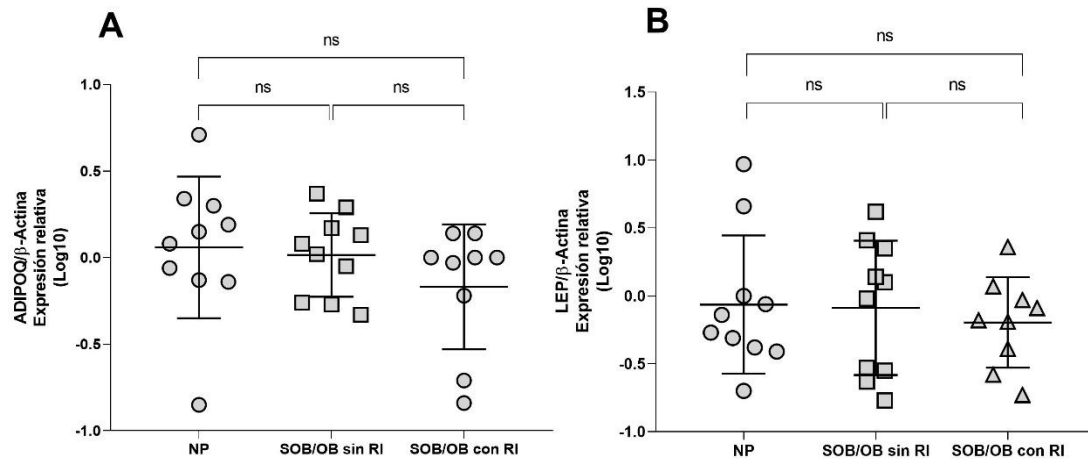


Figura 9. Expresión de mRNA de ADIPOQ y LEP en VAT. Comparación de la expresión de mRNA de ADIPOQ (A) y LEP (B) en VAT de participantes con normopeso (NP), sobrepeso y obesidad (SOB/OB) con y sin resistencia a la insulina (RI). Los datos se expresan como media \pm DE. Para la comparación entre grupos de estudio se realizó un ANOVA de una vía (de dos colas) con una corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples.

No se encontró asociación entre miR-193b y los niveles de expresión de mRNA de LEP y ADIPOQ (**Tabla 4**). Por otro lado, no se encontró asociación entre los niveles de miR-193b y las concentraciones séricas de leptina ($r= -0.281$, $P= 0.141$); sin embargo, cuando se ajustó por covariables, se encontró una asociación negativa entre los niveles de miR-193b con las concentraciones séricas de leptina (**Tabla 4**). También se encontró una asociación negativa entre miR-378 con las concentraciones de insulina ($r= -0.400$, $P= 0.039$) y los valores de HOMA-IR2 ($r= -0.393$, $P= 0.043$), las asociaciones continuaron siendo significativas después del ajuste por covariables (**Tabla 4**). No se encontró asociación entre los niveles de mRNA de LEP y ADIPOQ con la expresión de miR-378 (**Tabla 4**). Por otro lado, no

se encontró asociación entre miR-378 con las concentraciones séricas de leptina; sin embargo, cuando se ajustó por covariables, miR-378 se asoció negativamente con las concentraciones séricas de leptina (**Tabla 4**). miR-222 se asoció negativamente con la insulina sérica ($r = -0.385$, $P = 0.039$) y el HOMA-IR2 ($r = -0.386$, $P = 0.038$), las asociaciones permanecieron significativas después del ajuste por covariables (**Tabla 4**). No se encontró asociación entre miR-222 con los niveles de mRNA de LEP y ADIPOQ y niveles séricos de leptina y adiponectina, independientemente del ajuste por covariables (**Tabla 4**). Se encontró una correlación negativa entre la expresión de miR-Let-7d y los niveles séricos de adiponectina ($r = -0.426$, $P = 0.024$), la correlación siguió siendo significativa después del ajuste por covariables (**Tabla 4**). No se encontró asociación entre los niveles de mRNA de ADIPOQ y la expresión de miR-Let-7d. Finalmente, no se encontró asociación entre la expresión de los miARN analizados con las concentraciones séricas de CRP, IL-6 y TNF- α .

Tabla 4. Asociación entre la expresión de miARN y adipocitocinas (n= 29)

Variable	miR-193b/RNU6 (Log10)	miR-Let-7d/RNU6 (Log10)	miR-378/RNU6 (Log10)	miR-222/RNU6 (Log10)
HOMA-IR	-0.338	-0.187	-0.433*	-0.416*
LEP/ β -actina (Log 10)	-0.083	-0.076	-0.129	0.148
Leptina (pg/mL)	-0.544*	-0.245	-0.575*	-0.366
Adiponectina (ng/mL)	-0.011	-0.404*	0.001	-0.068
ADIPOQ/ β -actina (Log 10)	0.017	0.036	0.119	-0.261
CRP (mg/L)	0.135	0.201	0.338	0.061
TNF- α (pg/mL)	-0.164	-0.327	-0.053	0.139
IL-6 (pg/mL)	-0.066	-0.084	-0.051	0.096

Los datos se expresan como coeficientes de correlaciones parciales de Pearson (dos colas) ajustados por sexo, edad y porcentaje de grasa corporal. Nivel de significancia, * $P < 0.05$

DISCUSIÓN

Estudios que han utilizado metodologías de análisis masivos como los microarreglos, han demostrado una expresión diferencial de miARN en TA humano asociados a la ganancia de peso corporal; sin embargo, no se han encontrado miARN diferencialmente expresados de forma consistente entre sujetos con obesidad y el grupo control (Arner et al., 2012; Heneghan et al., 2011; Meerson et al., 2013). Estos resultados pueden atribuirse a diferentes a los criterios de elección de los sujetos de estudio; por ejemplo, el punto de corte de IMC para la selección del grupo control y que no siempre se hace consideración de condiciones metabólicas como la presencia de RI o DM2. Es importante resaltar, que la mayoría de los análisis de expresión de miARN se han realizado en TAS, lo cual es una consideración muy importante que ya que el TAV y el TAS tiene diferentes características metabólicas y se ha reportado que tienen un patrón de expresión de miARN específico (Heneghan et al., 2011). Existe información limitada sobre la expresión de miARN en TAV.

De acuerdo a los resultados, no se encontraron diferencias en la expresión de miR-193b entre los grupos de estudio. Esto difiere a lo reportado por Arner et al. (2012) que encontraron una reducción de la expresión de este miARN en TAS de sujetos con obesidad en comparación de sujetos con un IMC $<30 \text{ kg/m}^2$ (Arner et al., 2012). Las adipocitocinas analizadas no son blancos directos de miR-193b de acuerdo a las bases de datos; sin embargo, estudios sugieren que el miR-193b podría estar involucrado en la regulación de la expresión de adiponectina. Se ha reportado que la sobreexpresión de miR-193b en adipocitos humano subcutáneos resulta en un aumento de la secreción de adiponectina, sin cambios en su mensajero, eso podría deberse a que el miR-193b regula un co-represor de la adiponectina (Belarbi et al., 2015). En este estudio, no se encontró asociación entre la expresión de mR-193b y los niveles de adiponectina; adicionalmente, no se encontraron diferencias en la

expresión de mRNA de adiponectina en VAT entre los grupos de estudio. Se ha reportado, que la adiponectina se expresa en un 33% más en el TAS que en el VAT de sujetos normopeso (Lihn et al., 2004). Considerando que el análisis de la expresión de miR-193b y ADIPOQ se hizo en VAT y no SAT, esto podría explicar las diferencias con otros estudios. Finalmente, los niveles de leptina se asociaron negativamente con la expresión de miR-193b, pero únicamente después del ajuste por sexo, edad y porcentaje de grasa. La leptina no es reconocido como un blanco directo de miR-193b, por lo tanto se requieren más estudios para explorar la asociación entre la expresión de miR-193b con leptina.

En el presente estudio no se encontraron diferencias en la expresión de miR-Let-7d entre los grupos de estudio. Los resultados concuerdan a lo reportado por Jones et al. que no encontraron diferencias en la expresión de este miARN en TAV y TAS entre ratones control y ratones con obesidad (Jones et al., 2017). Por otro lado, Arner et al. (2012) encontraron una disminución de la expresión de miR-Let-7d en TAS de sujetos con un IMC > 30kg/m² vs aquellos con un IMC < 30kg/m² (Arner et al., 2012). De acuerdo a los resultados, los niveles de adiponectina se asociaron negativamente con miR-Let-7d; sin embargo, no se encontró asociación con la expresión de mRNA de ADIPOQ. Estos resultados podrían explicarse por mecanismo indirecto por el cual podría estar actuando miR-Let-7d en la regulación de la síntesis de adiponectina. De acuerdo a las bases miRTarBase 4.0 y miRWalk 2.0 el receptor de adiponectina 2 (ADIPOR2) es un blanco directo de miR-Let-7d. El ADIPOR2 media los efectos de la adiponectina en el hígado (Yamauchi et al. 2007), también se ha reportado que se expresa en TAV y TAS humano (Blüher et al. 2007). De acuerdo a Bauche et al. (2006) la adiponectina podría auto-regular su propia síntesis actuando mediante una retroalimentación negativa, en ratones con un *knock-out* del gen de adiponectina, se observa un aumento en el mRNA de ADIPOR2 en tejido adiposo gonadal e inguinal (Bauche et al. 2006). La asociación entre miR-Let-7d y ADIPOR2 no fue evaluada en el presente estudio, por lo tanto, se requiere de más investigación para evaluar la asociación entre la expresión de

miR-LE-7d y ADIPOQ y el posible papel de ADIPOR2. Citocinas proinflamatorias como TNF- α , IL-6 y CRP no son reconocidas como blancos directos de miR-Let-7d en las bases de datos; sin embargo, la familia de miR-Let-7d podrían modular las respuestas inflamatorias. Brennan et al. (2017) demostraron que la transfección de miR-Let-7d en tejido de placa carotídea humana resulta en la reducción de la expresión de TNF- α , IL-1 β , interferón γ y la molécula de adhesión celular vascular I (Brennan et al., 2017). En este estudio no se encontró asociación entre la expresión de miR-Let-7d y los niveles de citocinas proinflamatorias como CRP, TNF- α e IL-6.

En este estudio no se encontraron diferencias en la expresión de miR-378 entre los grupos de estudio; sin embargo, la expresión de este miARN se asoció de manera inversa con los valores de insulina y HOMAR-IR. Se requiere más estudios sobre el rol de miR-378 en el desarrollo de RI. Arner et al. (2012) encontraron una menor expresión de miR-378 en TAS cuando hay un aumento del IMC (Arner et al., 2012). Adicionalmente, se ha reportado que durante la diferenciación de adipocitos humanos subcutáneos aumenta la expresión de miR-378 (Ortega et al., 2010). La capacidad de hipertrofia del TAS es una de las determinantes del desarrollo de RI, una limitada capacidad de la hipertrofia de los adipocitos subcutáneos promueve la acumulación ácidos grasos (AG) en otros órganos favoreciendo el desarrollo de RI (Rydén et al., 2014). Por otra parte, se ha reportado que en sujetos con DM2 aumenta la proporción de adipocitos viscerales con limitada capacidad de almacén de AG, lo que favorece su acumulación en órganos y el desarrollo de RI (Fang et al., 2015). Al igual que en el TAS, miR-378 podría estar involucrado en la hiperplasia del TAV, favoreciendo el desarrollo de RI.

En este estudio no se encontraron diferencias en la expresión de miR-222 entre los grupos NP, SOB/OB con y sin RI; sin embargo, cuando los sujetos se clasificaron de acuerdo al diagnóstico de RI, la expresión de miR-222 fue menor en el grupo con RI. Estos resultados difieren de lo reportado por otros estudios, en donde se ha encontrado un aumento de la expresión de miR-222 en TAS de sujetos con

obesidad y sujetos sin obesidad con DM2 (Arner et al., 2012; Li et al., 2020). Estas diferencias pueden explicarse debido a que la expresión de miR-222 en el presente estudio fue analizada en TAV, Heneghan et al. (2011) reportaron que la expresión de miARN en TAS y TAV es específica. Por otro lado, estudios han demostrado un aumento de miR-222 en suero de sujetos con obesidad (Prats-Puig et al., 2013; Thomou et al., 2017). El TA es reconocido como una fuente de miARN de exosomas en suero, los cuales pueden regular la expresión génica en otros órganos; sin embargo, la expresión de los miARN en exosomas en el suero no siempre correlaciona con su expresión en el órgano de origen (Thomou et al., 2017), por lo tanto esto no se puede comparar con nuestros resultados.

De acuerdo a las bases bioinformáticas PTEN y p53 son reconocidos como genes blanco de miR-222. En este estudio la expresión de PTEN y p53 fue menor en el grupo de sujetos SOB/OB con RI comparado con los NP y los SOB/OB sin RI. Existen pocos estudios que hayan evaluado cambios en la expresión de PTEN y p53 en TA humano. Kadkhoda et al. (2020) no encontraron diferencias en la expresión de PTEN en TAV y TAS entre sujetos con NP y sujetos con obesidad, pero encontraron un aumento de la expresión de p53 en TAV pero no en TAS de sujetos con obesidad vs el grupo control (Kadkhoda et al., 2020).

Por otra parte, en este estudio se encontró una asociación positiva entre la expresión de PTEN y p53 con miR-222. El mecanismo de acción más común de los miARN es el reconocimiento de la región 3'UTR de un mRNA por medio de la complementariedad de bases, la interacción miRNA-mRNA, resulta en la degradación del mRNA o en la inhibición de su traducción (Kim, 2005). Lo esperado es encontrar una asociación negativa entre el miARN y su gen blanco; sin embargo, asociaciones positivas entre el miARN y su mRNA blanco se han reportado en estudios previos (Kokkinopoulou et al., 2019). Una asociación positiva entre un miARN y su gen blanco podría ser explicado por mecanismos indirectos de regulación de la expresión génica por parte de los miARN. Es importante recordar

que un solo miARN puede regular hasta mil genes y un solo gen puede ser regulado por diferentes miARN (Shu et al., 2017).

Los resultados demuestran una fuerte asociación positiva entre los niveles de mRNA de PTEN y p53, se ha reportado que p53 regula la expresión de PTEN, por lo tanto el resultado es esperado (Stambolic et al., 2001). PTEN actúa como un gen supresor de tumores inhibiendo la vía proliferativa de PI3K-AKT-mTOR, la cual está involucrada en la señalización de la insulina (Venniyoor, 2020). El rol de PTEN en el desarrollo de obesidad y RI no está claro. Morley et al. (2015) reportaron que en ratones con pérdida de la función de PTEN en TA (AiPKO) alimentados con una dieta alta en grasa por seis semanas, tienen mayor sensibilidad a la insulina que el grupo control a pesar de tener mayor ganancia de peso. Estos autores encontraron que después de la exposición crónica (5 meses) a la dieta alta en grasa, los ratones AiPKO tenían menores niveles de glucosa e insulina comparado con el grupo control con aumento en los depósitos de grasa subcutánea sin cambios en el tamaño del adipocitos, no se encontraron diferencias en el TAV (Morley et al., 2015). Por otra parte, Huang et al. (2019) encontraron que la delección de PTEN específica en la grasa inguinal de ratones resulta en un aumento en los depósitos de TAV con aumento en el tamaño del adipocito, además aumentan los niveles séricos de leptina, sin cambios en las concentraciones de glucosa y adiponectina (Huang et al., 2019). Estos resultados concuerdan con nuestros hallazgos que demuestran una asociación inversa entre los niveles de mRNA de PTEN y las concentraciones séricas de leptina.

p53 es clave en el control de la regulación de la adipogénesis, la sobreexpresión de p53 disminuye la expresión de genes involucrados en la diferenciación de los preadipocitos (Lee et al., 2020). Al igual que PTEN, el rol de p53 en el desarrollo de obesidad y RI sigue siendo un tema de discusión. Ortega et al. (2014) encontraron un aumento en la expresión de p53 en TAV de sujetos con obesidad y en ratones con obesidad, estos autores también reportaron que la expresión de p53 correlaciona negativamente con RI (Ortega et al., 2014). Por otra parte, Huang et

al. (2014) encontraron una disminución de p53 fosforilado en ratas obesas, de acuerdo a los resultados de estos autores, p53 inhibe la fosforilación de Akt, una cinasa necesaria para señalización de la insulina y la translocación del GLUT4 (Huang et al., 2014; Saini, 2010). De acuerdo a nuestros resultados la expresión de p53 se asoció negativamente con la leptina sérica pero positivamente con su mensajero. La abundancia de un mensajero no siempre se asocia con un aumento en los niveles de proteína, ya que las células no están un “estado estable” permanente; es decir, no siempre mayor mensajero equivaldrá a mayor cantidad de proteína (Liu, et al., 2016).

CONCLUSIÓN

Los miARN controlan la expresión de genes que están involucrados en el desarrollo de RI. Los estudios que han analizado cambios en la expresión de miARN en TA asociados a la ganancia de peso corporal han utilizado TAS. Debido a que el TAS y TAV tienen diferentes características fisiológicas, metabólicas y un patrón específico de expresión de miARN, se requieren más estudios del análisis de la expresión diferencial de miARN en TAV asociados a obesidad. En este estudio se demuestra que la expresión de miR-222 está relacionada con la RI, la expresión de este miARN está disminuida en el TAV de personas con RI y los niveles de miR-222 se asocian de manera negativa con el HOMA-IR. PTEN y p53 son genes blancos de miR-222, su expresión está positivamente asociada con la expresión de este miARN. La expresión de p53 y PTEN está disminuida en el grupo de sujetos con SOB/OB con RI y se asocia negativamente con los niveles séricos de leptina. PTEN y p53 son genes supresores de tumores que regulan la adipogénesis, se requiere más investigación sobre el rol específico de estos genes en el TAV y TAS.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acaso, J.F., Pardo, S., Real, J.T., Lorente, R.I., Priego, A., Carmena, R., (2003). "Diagnosing Insulin Resistance by Simple." *Diabetes Care*, 26(12):3320–3325.
- Ambros, V., Bartel, B., Bartel, D.P., Burge, C.B., Carrington, J.C., Chen, X., Dreyfuss, G., Eddy, S.R., Griffiths-Jones, S., Marshall, M., Matzke, M., Ruvkun, G., Tuschil, T. "A Uniform System for MicroRNA Annotation." (2003). *RNA* 9(3):277–279.
- Anderson, O.S., Sant K.E., Dolinoy D.C., "Nutrition and Epigenetics : An Interplay of Dietary Methyl Donors , One-Carbon Metabolism and DNA Methylation". (2012) *The Journal of Nutritional Biochemistry* 23(8):853–59.
- "MiRBase v 21." *MiRBase: The MicroRNA Database*. Consultado el 2 Julio 2020 (<http://www.mirbase.org/cgi-bin/browse.pl?org=hsa>).
- Arner, E., Mejhert, N., Kulyté, A., Balwierz P.J., Pachkov, M., Cormont, M., Lorente-Cebrián, S., Ehrlund, A., Laurencikiene, J., Hedén, P., Dahlman-Wright, K., Tanti, J.F., Hayashizaki, Y., Rydén, M., Dahlman, I., Van Nimwegen, E., Carsten O.D., Arner. P. "Adipose Tissue MicroRNAs as Regulators of CCL2 Production in Human Obesity." (2012). *Diabetes* 61(8):1986–1993.
- Arner, P. "Differences in Lipolysis between Human Subcutaneous and Omental Adipose Tissues." (1995). *Annals of Medicine* 27(4):435–438.
- Arner, P., Kulyté, A. "MicroRNA Regulatory Networks in Human Adipose Tissue and Obesity." (2015). *Nature Reviews Endocrinology* 11(5):276–288.
- Arner, P., Spalding, K.L. "Fat Cell Turnover in Humans." (2010) *Biochemical and Biophysical Research Communications* 396(1):101–4.
- Aron-Wisnewsky, J., Tordjman, J., Poitou, C., Darakhshan, F., Hugol, H., Basdevant, A., Aissat, A., Guerre-Millo, M., Clément, K. "Human Adipose Tissue Macrophages: M1 and M2 Cell Surface Markers in Subcutaneous and Omental Depots and after Weight Loss." (2009) *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 94(11):4619–23.
- Azuma, K., Katsukawa, F., Oguchi, S., Murata, M., Yamazaki, H., Shimada, A., Saruta, T. "Correlation between Serum Resistin Level and Adiposity in Obese Individuals." (2003) *Obesity Research* 11(8):997–1001.
- RNAs : Genomics , Biogenesis , Mechanism , and Function." *Cell* 116:281–97.
- Bartel, David P. 2009. "MicroRNAs: Target Recognition and Regulatory Functions."

Cell 136(2):215–33. doi: 10.1016/j.cell.2009.01.002.

- Bauche, Isabelle B., Samira Ait El Mkaem, René Rezsohazy, Tohru Funahashi, Norikazu Maeda, Lisa Miranda Miranda, and Sonia M. Brichard. 2006. “Adiponectin Downregulates Its Own Production and the Expression of Its AdipoR2 Receptor in Transgenic Mice.” *Biochemical and Biophysical Research Communications* 345(4):1414–24. doi: 10.1016/j.bbrc.2006.05.033.
- Belarbi, Yasmina, Niklas Mejhert, Silvia Lorente-Cebrián, Ingrid Dahlman, Peter Arner, Mikael Rydén, and Agné Kulyté. 2015. “MicroRNA-193b Controls Adiponectin Production in Human White Adipose Tissue.” *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 100(8):E1084–88. doi: 10.1210/jc.2015-1530.
- Bertola, Adeline, Thomas Ciucci, Déborah Rousseau, Virginie Bourlier, Carine Duffaut, Stéphanie Bonnafous, Claudine Blin-Wakkach, Rodolphe Anty, Antonio Iannelli, Jean Gugenheim, Albert Tran, Anne Bouloumié, Philippe Gual, and Abdellilah Wakkach. 2012. “Identification of Adipose Tissue Dendritic Cells Correlated with Obesity-Associated Insulin-Resistance and Inducing Th17 Responses in Mice and Patients.” *Diabetes* 61(9):2238–47. doi: 10.2337/db11-1274.
- Blüher, Matthias, Catherine J. Williams, Nora Klöting, Karen Ruschke, Andreas Oberbach, Mathias Fasshauer, Janin Berndt, Michel R. Schon, Alicja Wolk, Michael Stumvoll, and Christos S. Mantzoros. 2007. “Gene Expression of Adiponectin Receptors in Human Visceral and Subcutaneous Adipose Tissue Is Related to Insulin Resistance and Metabolic Parameters And.” *Diabetes Care* 30(12):3110–15. doi: 10.2337/dc07-1257.M.B.
- Boden, G., and G. I. Shulman. 2002. “Free Fatty Acids in Obesity and Type 2 Diabetes: Defining Their Role in the Development of Insulin Resistance and β β β -Cell Dysfunction.” *European Journal of Clinical Investigation Eur J Clin Invest* 32(32):14–23. doi: 10.1046/j.1365-2362.32.s3.3.x.
- Bouder, J. A. N., Lars Kager, J. A. N. Ostman, and Peter Arner. 1983. “Differences at the Receptor and Postreceptor Levels Between Human Omental and Subcutaneous Adipose Tissue in the Action of Insulin on Lipolysis.” *Diabetesfile:///C:/Users/Paulina/Documents/Pregundas Pre-Doctoral/Carmen Mejia/Wueest.2012.Pdf* 32(September 1982):117–23.
- Brennan, E, B. Wang, A. McClelland, M. Mohan, M. Marai, O. Beuscart, S. Derouiche, S. Gray, R. Pickering, C. Tikellis, M. de Geatano, M. Barry, and O. Belton. 2017. “Protective Effect of Let-7 MiRNA Family in Regulating Inflammation in Diabetes-Associated Atherosclerosis.” *Diabetes* 66(8):2266–77.

- Brennan, Eoin, Bo Wang, Aaron McClelland, Muthukumar Mohan, Mariam Marai, Ophelie Beuscart, Sinda Derouiche, Stephen Gray, Raelene Pickering, Chris Tikellis, Monica De Gaetano, Mary Barry, Orina Belton, Syed Tasadaque Ali-shah, Patrick Guiry, Karin A. M. Jandeleit-dahm, Mark E. Cooper, Catherine Godson, and Phillip Kantharidis. 2017. "Protective Effect of Let-7 MiRNA Family in Regulating Inflammation in Diabetes-Associated Atherosclerosis." *66(August):2266–77*. doi: 10.2337/db16-1405.
- Cao, Yue, Xinli Jiang, Huijie Ma, Yuling Wang, Peng Xue, and Yan Liu. 2016. "SIRT1 and Insulin Resistance." *Journal of Diabetes and Its Complications* 30(1):178–83. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2015.08.022.
- Castoldi, Angela, Cristiane Naffah De Souza, Niels Olsen Saraiva-Carreira, and Pedro M. Moraes-Vieira. 2016. "The Macrophage Switch in Obesity Development." *Frontiers in Immunology* 6(JAN):1–11. doi: 10.3389/fimmu.2015.00637.
- Chen, Caifu, Dana A. Ridzon, Adam J. Broome, Zhaohui Zhou, Danny H. Lee, Julie T. Nguyen, Maura Barbisin, Nan Lan Xu, Vikram R. Mahavakar, Mark R. Andersen, Kai Qin Lao, Kenneth J. Livak, and Karl J. Guegler. 2005. "Real-Time Quantification of MicroRNAs by Stem-Loop RT-PCR." *33(20):1–9*. doi: 10.1093/nar/gni178.
- Chuang, Tung-Yueh, Hsiao-Li Wu, Chen-Chun Chen, Gloria Mabel Gamboa, Lawrence C. Layman, Michael P. Diamond, Ricardo Azziz, and Yen-Hao Chen. 2015. "MicroRNA-223 Expression Is Upregulated in Insulin Resistant Human Adipose Tissue." *Journal of Diabetes Research* 2015:1–8. doi: 10.1155/2015/943659.
- Cinti, Saverio, Grant Mitchell, Giorgio Barbatelli, Incoronata Murano, Enzo Ceresi, Emanuela Faloi, Shupe Wang, Melanie Fortier, Andrew S. Greenberg, and Martin S. Obin. 2005. "Adipocyte Death Defines Macrophage Localization and Function in Adipose Tissue of Obese Mice and Humans." *Journal of Lipid Research* 46(11):2347–55. doi: 10.1194/jlr.M500294-JLR200.
- Crujeiras, A. B., A. Diaz-Lagares, J. Sandoval, F. I. Milagro, S. Navas-Carretero, M. C. Carreira, A. Gomez, D. Hervas, M. P. Monteiro, F. F. Casanueva, M. Esteller, and J. A. Martinez. 2017. "DNA Methylation Map in Circulating Leukocytes Mirrors Subcutaneous Adipose Tissue Methylation Pattern: A Genome-Wide Analysis from Non-Obese and Obese Patients." *Scientific Reports* 7(January 2016):41903. doi: 10.1038/srep41903.
- Czimmerer, Zsolt, Julianna Hulvely, Zoltan Simandi, Eva Varallyay, Zoltan Havelda, Erzsebet Szabo, Attila Varga, Balazs Dezso, Maria Balogh, Attila Horvath, Balint Domokos, Zsolt Torok, Laszlo Nagy, and Balint L. Balint. 2013. "A Versatile

- Method to Design Stem-Loop Primer-Based Quantitative PCR Assays for Detecting Small Regulatory RNA Molecules.” *PLoS ONE* 8(1). doi: 10.1371/journal.pone.0055168.
- Dalmas, Elise, Nicolas Venteclef, Charles Caer, Christine Poitou, Isabelle Cremer, Judith Aron-Wisnewsky, Sébastien Lacroix-Desmazes, Jagadeesh Bayry, Srinivas V. Kaveri, Karine Clément, Sébastien André, and Michèle Guerre-Millo. 2014. “T Cell-derived IL-22 Amplifies IL-1 β -driven Inflammation in Human Adipose Tissue: Relevance to Obesity and Type 2 Diabetes.” *Diabetes* 63(6):1966–77. doi: 10.2337/db13-1511.
- Dam, V., T. Sikder, and S. Santosa. 2016. “From Neutrophils to Macrophages: Differences in Regional Adipose Tissue Depots.” (January):1–17. doi: 10.1111/obr.12335.
- Deiuliis, Jeffrey A., Rafay Syed, Dheeraj Duggineni, Jessica Rutsky, Palanivel Rengasamy, Jie Zhang, Kun Huang, Bradley Needleman, Dean Mikami, Kyle Perry, Jeffrey Hazey, and Sanjay Rajagopalan. 2016. “Visceral Adipose MicroRNA 223 Is Upregulated in Human and Murine Obesity and Modulates the Inflammatory Phenotype of Macrophages.” *PLoS ONE* 1–15. doi: 10.1371/journal.pone.0165962.
- Drolet, R., C. Richard, A. D. Sniderman, J. Mailloux, M. Fortier, C. Huot, C. Rhéaume, and A. Tchernof. 2008. “Hypertrophy and Hyperplasia of Abdominal Adipose Tissues in Women.” *International Journal of Obesity* 32(2):283–91. doi: 10.1038/sj.ijo.0803708.
- Dubois, Severine G., Leonie K. Heilbronn, Steven R. Smith, Jeanine B. Albu, David E. Kelley, E. Ravussin, and 2014.pdf file:///C:/Users/Paulina/Documents/Pregundas pre-doctoral/Carmen Mejia/Rydén. 2006. “Decreased Expression of Adipogenic Genes in Obese Subjects with Type 2 Diabete.” *Obesity (Silver Spring, Md.)* 14(9):1543–1522. doi: 10.1038/oby.2006.178.Decreased.
- Duffaut, Carine, Alexia Zakaroff-Girard, Virginie Bourlier, Pauline Decaunes, Marie Maumus, Patrick Chiotasso, Coralie Sengenès, Max Lafontan, Jean Galitzky, and Anne Bouloumié. 2009. “Interplay between Human Adipocytes and T Lymphocytes in Obesity: CCL20 as an Adipochemokine and T Lymphocytes as Lipogenic Modulators.” *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 29(10):1608–14. doi: 10.1161/ATVBAHA.109.192583.
- Estrella Ibarra, Paulina, Pablo García-Solís, Juan Carlos Solís-Sáinz, and Andrés Cruz-Hernández. 2021. “Expression of MiRNA in Obesity and Insulin Resistance: A Review.” *Endokrynologia Polska* 72(1):73–80. doi: 10.5603/EP.a2021.0002.

- Fang, Lingling, Fangjian Guo, Lihua Zhou, Richard Stahl, Jayleen Grams, Lingling Fang, Fangjian Guo, Lihua Zhou, Richard Stahl, and Jayleen Grams. 2015. "The Cell Size and Distribution of Adipocytes from Subcutaneous and Visceral Fat Is Associated with Type 2 Diabetes Mellitus in Humans The Cell Size and Distribution of Adipocytes from Subcutaneous and Visceral Fat Is Associated with Type 2 Diabetes Mellit." *Adipocyte* 3945:273–79. doi: 10.1080/21623945.2015.1034920.
- Ferré, Pascal. 2004. "The Biology of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors." *Diabetes* 53(suppl 1):43–50.
- Freitas Lima, Leandro C., Valdir de Andrade Braga, Maria do Socorro de França Silva, Josiane de Campos Cruz, Sérgio H. Sousa Santos, Matheus M. de Oliveira Monteiro, and Camille de Moura Balarini. 2015. "Adipokines, Diabetes and Atherosclerosis: An Inflammatory Association." *Frontiers in Physiology* 6(NOV):1–15. doi: 10.3389/fphys.2015.00304.
- Galletti, F., L. D'Elia, D. De Palma, O. Russo, G. Barba, A. Siani, M. A. Miller, F. P. Cappuccio, G. Rossi, G. Zampa, and P. Strazzullo. 2012. "Hyperleptinemia Is Associated with Hypertension, Systemic Inflammation and Insulin Resistance in Overweight but Not in Normal Weight Men." *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 22(3):300–306. doi: 10.1016/j.numecd.2011.05.007.
- Gastaldelli, Amalia, Melania Gaggini, and Ralph A. DeFronzo. 2017. "Role of Adipose Tissue Insulin Resistance in the Natural History of Type 2 Diabetes: Results from the San Antonio Metabolism Study." *Diabetes* 66(4):815–22. doi: 10.2337/db16-1167.
- Ghoshal, Kakali, and Maitree Bhattacharyya. 2015. "Adiponectin: Probe of the Molecular Paradigm Associating Diabetes and Obesity." 6(1):151–66. doi: 10.4239/wjd.v6.i1.151.
- Guenther, Mitchell, Roland James, Jacqueline Marks, Shi Zhao, Aniko Szabo, and Srividya Kidambi. 2014. "Adiposity Distribution Influences Circulating Adiponectin Levels." *Translational Research* 164(4):270–77. doi: 10.1016/j.trsl.2014.04.008.
- Guerrero-romero, Fernando, Rafael Villalobos-molina, J. Rafael Jim, Luis E. Simental-mendia, and Martha Rodr. 2016. "Fasting Triglycerides and Glucose Index as a Diagnostic Test for Insulin Resistance in Young Adults." *Archives of Medical Research* 47:382–87. doi: 10.1016/j.arcmed.2016.08.012.
- Gyllenhammer, Lauren E., Jonathan Lam, Tanya L. Alderete, Hooman Allayee, Omid Akbari, Namir Katkhouda, and Michael I. Goran. 2016. "Lower Omental T-Regulatory Cell Count Is Associated with Higher Fasting Glucose and Lower

- β -Cell Function in Adults with Obesity.” *Obesity* 24(6):1274–82. doi: 10.1002/oby.21507.
- Harman-Boehm, Ilana, Matthias Blüher, Henry Redel, Netta Sion-Vardy, Shira Ovadia, Eliezer Avinoach, Iris Shai, Nora Klöting, Michael Stumvoll, Nava Bashan, and Assaf Rudich. 2007. “Macrophage Infiltration into Omental versus Subcutaneous Fat across Different Populations: Effect of Regional Adiposity and the Comorbidities of Obesity.” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 92(6):2240–47. doi: 10.1210/jc.2006-1811.
- Van Harmelen, V., F. Lönnqvist, A. Thörne, A. Wennlund, V. Large, S. Reynisdottir, and P. Arner. 1997. “Noradrenaline-Induced Lipolysis in Isolated Mesenteric, Omental and Subcutaneous Adipocytes from Obese Subjects.” *International Journal of Obesity* 21(11):972–79. doi: 10.1038/sj.ijo.0800504.
- Harwood, H. James. 2012. “The Adipocyte as an Endocrine Organ in the Regulation of Metabolic Homeostasis.” *Neuropharmacology* 63(1):57–75. doi: 10.1016/j.neuropharm.2011.12.010.
- Heneghan, H. M., Nicola Miller, O. J. McAnena, T. O’Brien, and M. J. Kerin. 2011. “Differential MiRNA Expression in Omental Adipose Tissue and in the Circulation of Obese Patients Identifies Novel Metabolic Biomarkers.” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 96(5):846–50. doi: 10.1210/jc.2010-2701.
- Hoffstedt, J., P. Arner, G. Hellers, and F. Lönnqvist. 1997. “Variation in Adrenergic Regulation of Lipolysis between Omental and Subcutaneous Adipocytes from Obese and Non-Obese Men.” *Journal of Lipid Research* 38(4):795–804.
- Huang, Qiong, Menglan Liu, Xinli Du, Rihua Zhang, Yi Xue, Yuanyuan Zhang, Weidong Zhu, Dong Li, Allan Zhao, and Yun Liu. 2014. “Role of P53 in Preadipocyte Differentiation.” *Cell Biology International* 38(12):1384–93. doi: 10.1002/cbin.10334.
- Huang, Wei, Nicholas J. Queen, Travis B. McMurphy, Seemaab Ali, and Lei Cao. 2019. “Adipose PTEN Regulates Adult Adipose Tissue Homeostasis and Redistribution via a PTEN-Leptin-Sympathetic Loop.” *Molecular Metabolism* 30(September):48–60. doi: 10.1016/j.molmet.2019.09.008.
- Huntzinger, Eric, and Elisa Izaurralde. 2011. “Gene Silencing by MicroRNAs: Contributions of Translational Repression and mRNA Decay.” *Nature Reviews Genetics* 12(2):99–110. doi: 10.1038/nrg2936.
- Ibrahim, M. Mohsen. 2010. “Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue: Structural and Functional Differences.” *Obesity*

Reviewsfile:///C:/Users/Paulina/Documents/Metodos de Composicion Corporal.Pdf 11(1):11–18. doi: 10.1111/j.1467-789X.2009.00623.x.

Instituto Nacional de Salud Pública; Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2018. *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018, Presentación de Resultados*.

Inui, Masafumi, Graziano Martello, and Stefano Piccolo. 2010. “MicroRNA Control of Signal Transduction.” *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 11(4):252–63. doi: 10.1038/nrm2868.

Ipsaro, Jonathan J., and Leemor Joshua-Tor. 2015. “From Guide to Target: Molecular Insights into Eukaryotic RNA-Interference Machinery.” *Nature Structural and Molecular Biology* 22(1):20–28. doi: 10.1038/nsmb.2931.

Ishida, Masayoshi, Michio Shimabukuro, Shusuke Yagi, Sachiko Nishimoto, Chisayo Kozuka, Daiju Fukuda, Takeshi Soeki, Hiroaki Masuzaki, Masato Tsutsui, and Masataka Sata. 2014. “MicroRNA-378 Regulates Adiponectin Expression in Adipose Tissue: A New Plausible Mechanism.” *PLoS ONE* 9(11):3–10. doi: 10.1371/journal.pone.0111537.

Jocken, J. W. E., G. H. Goossens, A. M. J. Van Hees, K. N. Frayn, M. Van Baak, J. Stegen, M. T. W. Pakbiers, W. H. M. Saris, and E. E. Blaak. 2008. “Effect of Beta-Adrenergic Stimulation on Whole-Body and Abdominal Subcutaneous Adipose Tissue Lipolysis in Lean and Obese Men.” *Diabetologia* 51(2):320–27. doi: 10.1007/s00125-007-0866-y.

Jones, Angela, Kirsty M. Danielson, Miles C. Benton, Olivia Ziegler, Ravi Shah, Richard S. Stubbs, Saumya Das, and Donia Macartney-Coxson. 2017. “MiRNA Signatures of Insulin Resistance in Obesity.” *Obesity* 00(00):1–11. doi: 10.1002/oby.21950.

Kadkhoda, Golnoosh, Maryam Zarkesh, Atoosa Saidpour, Masoumeh Hajizadeh, Mehdi Hedayati, and Alireza Khalaj. 2020. “Association of Dietary Intake of Fruit and Green Vegetables with PTEN and P53 MRNA Gene Expression in Visceral and Subcutaneous Adipose Tissues of Obese and Non-Obese Adults.” *Gene* 733(August 2019). doi: 10.1016/j.gene.2020.144353.

Kim, V. Narry. 2005. “MicroRNA Biogenesis: Coordinated Cropping and Dicing.” *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 6(5):376–85. doi: 10.1038/nrm1644.

Koenig, W., N. Khuseyinoxa, J. Baumert, C. Meisinger, and H. Lowel. 2006. “Serum Concentrations of Adiponectin and Risk of Type 2 Diabetes Mellitus and Coronary Heart Disease in Apparently Healthy Middle-Aged Men: Results from the 18-Year Follow-up of a Large Cohort from Southern Germany.” *Journal of*

American Collage of Cardiology 48(7):1369–77.

- Kokkinopoulou, Ioanna, Eirini Maratou, Panayota Mitrou, Eleni Boutati, Diamantis C. Sideris, Emmanuel G. Fragoulis, and Maria Ioanna Christodoulou. 2019. “Decreased Expression of MicroRNAs Targeting Type-2 Diabetes Susceptibility Genes in Peripheral Blood of Patients and Predisposed Individuals.” *Endocrine* 66(2):226–39. doi: 10.1007/s12020-019-02062-0.
- Kouidhi, Soumaya, Rym Berrhouma, Kamel Rouissi, Slim Jarboui, Marie Stéphanie Clerget-Froidevaux, Isabelle Seugnet, Fattouma Bchir, Barbara Demeneix, Hajer Guissouma, and Amel Benammar Elgaaied. 2013. “Human Subcutaneous Adipose Tissue Glut 4 mRNA Expression in Obesity and Type 2 Diabetes.” *Acta Diabetologica* 50(2):227–32. doi: 10.1007/s00592-011-0295-8.
- Kulyté, Agné, Yasmina Belarbi, Silvia Lorente-Cebrián, Clara Bambace, Erik Arner, Carsten O. Daub, Per Hedén, Mikael Rydén, Niklas Mejhert, and Peter Arner. 2014. “Additive Effects of MicroRNAs and Transcription Factors on CCL2 Production in Human White Adipose Tissue.” *Diabetes* 63(4):1248–58. doi: 10.2337/db13-0702.
- Kursawe, Romy, Deepak Narayan, Anna M. G. Cali, Melissa Shaw, Bridget Pierpont, Gerald I. Shulman, and Sonia Caprio. 2010. “Downregulation of ADIPOQ and PPAR Gene Expression in Subcutaneous Adipose Tissue of Obese Adolescents with Hepatic Steatosis.” *Obesity* 18(10):1911–17. doi: 10.1038/oby.2010.23.
- Lafontan, M. 2014. “Adipose Tissue and Adipocyte Dysregulation.” *Diabetes and Metabolism* 40(1):16–28. doi: 10.1016/j.diabet.2013.08.002.
- Lee, E. K., M. J. Lee, K. Abdelmohsen, W. Kim, M. M. Kim, S. Srikantan, J. L. Martindale, E. R. Hutchison, H. H. Kim, B. S. Marasa, R. Selimyan, J. M. Egan, S. R. Smith, S. K. Fried, and M. Gorospe. 2011. “MiR-130 Suppresses Adipogenesis by Inhibiting Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Expression.” *Molecular and Cellular Biology* 31(4):626–38. doi: 10.1128/MCB.00894-10.
- Lee, Paul H., Duncan J. Macfarlane, TH H. Lam, and Sunita M. Stewart. 2011. “Validity of the International Physical Activity Questionnaire Short Form (IPAQ-SF): A Systematic Review.” *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity* 8:1–11. doi: 10.1186/1479-5868-8-115.
- Lee, Yun Kyung, Yu Seong Chung, Ji Hye Lee, Jin Mi Chun, and Jun Hong Park. 2020. “The Intricate Role of P53 in Adipocyte Differentiation and Function.” *Cells* 9(2621):1–12.

- Leon-Cabrera, S., L. Solis-Lozano, K. Suarez-Alvarez, A. Gonzalez-Chavez, Y. L. Bejar, G. Robles-Diaz, and G. Escobedo. 2013. "Hyperleptinemia Is Associated with Parameters of Low-Grade Systemic Inflammation and Metabolic Dysfunction in Obese Human Beings." *Front Integr Neurosci* 7(August):62. doi: 10.3389/fnint.2013.00062.
- Lewis, Benjamin P., Christopher B. Burge, and David P. Bartel. 2005. "Conserved Seed Pairing, Often Flanked by Adenosines, Indicates That Thousands of Human Genes Are MicroRNA Targets." *Cell* 120(1):15–20. doi: 10.1016/j.cell.2004.12.035.
- Li, Dameng, Huichen Song, Linghu Shuo, Lei Wang, Ping Xie, Weili Li, Jiachen Liu, Chen-yu Zhang, Xiaohong Jiang, Jing Li, and Yujing Zhang. 2020. "Gonadal White Adipose Tissue-Derived Exosomal MiR-222 Promotes Obesity-Associated Insulin Resistance." *AGING* 12(22):22719–43.
- Lihn, Aina S., Jens M. Bruun, Gengsheng He, Steen B. Pedersen, Peter F. Jensen, and Bjørn Richelsen. 2004. "Lower Expression of Adiponectin mRNA in Visceral Adipose Tissue in Lean and Obese Subjects." *Molecular and Cellular Endocrinology* 219(1–2):9–15. doi: 10.1016/j.mce.2004.03.002.
- Lindberg, S., JS Jensen, M. Bjerre, A. Frystyk, A. Flyvbjerg, J. Jeppesen, and R. Mogelvang. 2016. "Low Adiponectin Levels at Baseline and Decreasing Adiponectin Levels over 10 Years of Follow-up Predict Risk of the Metabolic Syndrome." *Diabetes Metabolism* 1262–363(16):30466–69.
- Liu, Lulu, Qifu Li, Xiaoqiu Xiao, Chaodong Wu, Rufei Gao, Chuan Peng, Danting Li, Wenlong Zhang, Tingting Du, Yue Wang, Shumin Yang, Qianna Zhen, and Qian Ge. 2016. "MiR-1934, Downregulated in Obesity, Protects against Low-Grade Inflammation in Adipocytes." *Molecular and Cellular Endocrinology* 428(1):109–17. doi: 10.1016/j.mce.2016.03.026.
- Liu, Yansheng, Andreas Beyer, and Ruedi Aebersold. 2016. "On the Dependency of Cellular Protein Levels on mRNA Abundance." *Cell* 165(3):535–50. doi: 10.1016/j.cell.2016.03.014.
- Lustig, Yaniv, Ehud Barhod, Reut Ashwal-Fluss, Reut Gordin, Noam Shomron, Kfir Baruch-Umansky, Rina Hemi, Avraham Karasik, and Hannah Kanety. 2014. "RNA-Binding Protein PTB and MicroRNA-221 Coregulate AdipoR1 Translation and Adiponectin Signaling." *Diabetes* 63(2):433–45. doi: 10.2337/db13-1032.
- Martinelli, Rosanna, Carmela Nardelli, Vincenzo Pilone, Tonia Buonomo, Rosario Liguori, Ilenia Castanò, Pasqualina Buono, Stefania Masone, Giovanni Persico, Pietro Forestieri, Lucio Pastore, and Lucia Sacchetti. 2010. "MiR-519d Overexpression Is Associated With Human Obesity." *Obesity* 18(11):2170–76.

doi: 10.1038/oby.2009.474.

- Mauriege, P., J. P. Despres, D. Prud'homme, M. C. Pouliot, M. Marcotte, A. Tremblay, and C. Bouchard. 1991. "Regional Variation in Adipose Tissue Lipolysis in Lean and Obese Men." *J Lipid Res.* 32(10):1625-33.
- McLaughlin, T., A. Deng, O. Gonzales, M. Aillaud, G. Yee, C. Lamendola, F. Abbasi, A. J. Connolly, A. Sherman, S. W. Cushman, G. Reaven, and P. S. Tsao. 2008. "Insulin Resistance Is Associated with a Modest Increase in Inflammation in Subcutaneous Adipose Tissue of Moderately Obese Women." *Diabetologia* 51(12):2303–8. doi: 10.1007/s00125-008-1148-z.
- McLaughlin, Tracey, Li Fen Liu, Cindy Lamendola, Lei Shen, John Morton, Homero Rivas, Daniel Winer, Lorna Tolentino, Okmi Choi, Hong Zhang, Melissa Hui Yen Chng, and Edgar Engleman. 2014. "T-Cell Profile in Adipose Tissue Is Associated with Insulin Resistance and Systemic Inflammation in Humans." *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 34(12):2632–36. doi: 10.1161/ATVBAHA.114.304636.
- Meerson, A., M. Traurig, V. Ossowski, J. M. Fleming, M. Mullins, and L. J. Baier. 2013. "Human Adipose MicroRNA-221 Is Upregulated in Obesity and Affects Fat Metabolism Downstream of Leptin and TNF- α ." *Diabetologia* 56(9):1971–79. doi: 10.1007/s00125-013-2950-9.
- Milagro, F. I., M. L. Mansego, C. De Miguel, and J. A. Martínez. 2012. "Molecular Aspects of Medicine Dietary Factors , Epigenetic Modifications and Obesity Outcomes : Progresses and Perspectives." *JOURNAL OF MOLECULAR ASPECTS OF MEDICINE* 1–31. doi: 10.1016/j.mam.2012.06.010.
- Morley, Thomas S., Jonathan Y. Xia, and Philipp E. Scherer. 2015. "Selective Enhancement of Insulin Sensitivity in the Mature Adipocyte Is Sufficient for Systemic Metabolic Improvements." *Nature Communications* 6. doi: 10.1038/ncomms8906.
- Muir, Lindsey A., Christopher K. Neeley, Kevin A. Meyer, Nicki A. Baker, Alice M. Brosius, Alexandra R. Washabaugh, Oliver A. Varban, Jonathan F. Finks, Brian F. Zamarron, Carmen G. Flesher, Joshua S. Chang, Jennifer B. DelProposto, Lynn Geletka, Gabriel Martinez-Santibanez, Niko Kaciroti, Carey N. Lumeng, and Robert W. O'Rourke. 2016. "Adipose Tissue Fibrosis, Hypertrophy, and Hyperplasia: Correlations with Diabetes in Human Obesity." *Obesity* 24(3):597–605. doi: 10.1002/oby.21377.
- Murano, I., G. Barbatelli, V. Parisani, C. Latini, G. Muzzonigro, M. Castellucci, and S. Cinti. 2008. "Dead Adipocytes, Detected as Crown-like Structures, Are Prevalent in Visceral Fat Depots of Genetically Obese Mice." *Journal of Lipid*

Research 49(7):1562–68. doi: 10.1194/jlr.M800019-JLR200.

- Murguía-Romero, M., Jiménez-Flores JR, Sigrist-Flores S, D. Tapia-Pancardo, R. Méndez-Cruz, and R. Villalobos-Molina. 2015. “Prevalence of Metabolic Syndrome in Young Mexicans: A Sensitivity Analysis on Its Components.” *Nutricion Hospitalaria* 32(1):189–95.
- Nishimura, Satoshi, Ichiro Manabe, Mika Nagasaki, Koji Eto, Hiroshi Yamashita, Mitsuru Ohsugi, Makoto Otsu, Kazuo Hara, Kohjiro Ueki, Seiryu Sugiura, Kotaro Yoshimura, Takashi Kadowaki, and Ryoza Nagai. 2009. “CD8+ Effector T Cells Contribute to Macrophage Recruitment and Adipose Tissue Inflammation in Obesity.” *Nature Medicine* 15(8):914–20. doi: 10.1038/nm.1964.
- O’Rourke, R. W., M. D. Metcalf, A. E. White, A. Madala, B. R. Winters, I. I. Maizlin, B. A. Jobe, C. T. Roberts, M. K. Slifka, and D. L. Marks. 2009. “Depot-Specific Differences in Inflammatory Mediators and a Role for NK Cells and IFN- γ in Inflammation in Human Adipose Tissue.” *International Journal of Obesity* 33(9):978–90. doi: 10.1038/ijo.2009.133.
- Opinión, sociación Mexicana de agencias de Inteligencia de Mercado y. 2018. “Cuestionario Para La Aplicación de La Regla AMAI.” Retrieved (<https://www.amai.org/NSE/>).
- Ortega, F. J., J. M. Moreno-Navarrete, D. Mayas, M. Serino, J. I. Rodriguez-Hermosa, W. Ricart, E. Luche, R. Burcelin, F. J. Tinahones, G. Frühbeck, G. Mingrone, and J. M. Fernández-Real. 2014. “Inflammation and Insulin Resistance Exert Dual Effects on Adipose Tissue Tumor Protein 53 Expression.” *International Journal of Obesity* 38(5):737–45. doi: 10.1038/ijo.2013.163.
- Ortega, Francisco J., José M. Moreno-Navarrete, Gerard Pardo, Monica Sabater, Manuela Hummel, Anna Ferrer, Jose I. Rodriguez-Hermosa, Bartomeu Ruiz, Wifredo Ricart, Belen Peral, and José M. Fernández-Real. 2010. “MiRNA Expression Profile of Human Subcutaneous Adipose and during Adipocyte Differentiation.” *PLoS ONE* 5(2). doi: 10.1371/journal.pone.0009022.
- Park, Sang-kyu, So-young Oh, Min-young Lee, Sarah Yoon, Kyung-sup Kim, and Jae-woo Kim. 2004. “CCAAT / Enhancer Binding Protein and Nuclear Factor- γ Regulate Adiponectin Gene Expression in Adipose Tissue.” *Diabetes* 53(11):2757–66. doi: 10.2337/diabetes.53.11.2757.
- Peng, Jie, Yuanfei Zhou, Zhao Deng, Hong Zhang, Yinghui Wu, Tongxing Song, Yang Yang, Hongkui Wei, and Jian Peng. 2017. “MiR-221 Negatively Regulates Inflammation and Insulin Sensitivity in White Adipose Tissue by Repression of Sirtuin-1 (SIRT1).” *Journal of Cellular Biochemistry* 1(December). doi:

10.1002/jcb.26589.

- Prats-Puig, Anna, Francisco J. Ortega, Josep M. Mercader, José M. Moreno-Navarrete, María Moreno, Nuria Bonet, Wifredo Ricart, Abel López-Bermejo, and José M. Fernández-Real. 2013. "Changes in Circulating MicroRNAs Are Associated With Childhood Obesity." *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 98(10):E1655–60. doi: 10.1210/jc.2013-1496.
- Qiao, Liping, and Jianhua Shao. 2006. "SIRT1 Regulates Adiponectin Gene Expression through Foxo1-C/Enhancer- Binding Protein?? Transcriptional Complex." *Journal of Biological Chemistry* 281(52):39915–24. doi: 10.1074/jbc.M607215200.
- Redonnet, A., S. Bonilla, C. Noel-Suberville, V. Pallet, H. Dabadie, H. Gin, and P. Higuieret. 2002. "Relationship between Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma and Retinoic Acid Receptor Alpha Gene Expression in Obese Human Adipose Tissue." *International Journal of Obesity* 26(7):920–27. doi: 10.1038/sj.ijo.0802025.
- Reilly, Shannon M., and Alan R. Saltiel. 2017a. "Adapting to Obesity with Adipose Tissue Inflammation." *Nature Reviews Endocrinology* 13(11):633–43. doi: 10.1038/nrendo.2017.90.
- Reilly, Shannon M., and Alan R. Saltiel. 2017b. "Adapting to Obesity with Adipose Tissue Inflammation." *Nature Reviews Endocrinology* 13(11):633–43. doi: 10.1038/nrendo.2017.90.
- Rotter, Victoria, Ivan Nagaev, and Ulf Smith. 2003. "Interleukin-6 (IL-6) Induces Insulin Resistance in 3T3-L1 Adipocytes and Is, Like IL-8 and Tumor Necrosis Factor- α , Overexpressed in Human Fat Cells from Insulin-Resistant Subjects." *Journal of Biological Chemistry* 278(46):45777–84. doi: 10.1074/jbc.M301977200.
- Rydén, Mikael, Daniel P. Andersson, Ingrid B. Bergström, and Peter Arner. 2014. "Adipose Tissue and Metabolic Alterations: Regional Differences in Fat Cell Size and Number Matter, but Differently: A Cross-Sectional Study." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 99(10):E1870–76. doi: 10.1210/jc.2014-1526.
- Saini, Vandana. 2010. "Molecular Mechanisms of Insulin Resistance in Type 2 Diabetes Mellitus." *World Journal of Diabetes* 1(3):68. doi: 10.4239/wjd.v1.i3.68.
- Sáinz, N., J. Barrenetxe, M. J. Moreno-Aliaga, and J. Alfredo Martínez. 2015. "Leptin Resistance and Diet-Induced Obesity: Central and Peripheral Actions of Leptin." *Metabolism Clinical and Experimental* 64:34–46.

- Salans, L. B., E. S. Horton, and E. A. Sims. 1971. "Experimental Obesity in Man: Cellular Character of the Adipose Tissue." *The Journal of Clinical Investigation* 50(5):1005–11. doi: 10.1172/JCI106570.
- Santovito, Donato, Velia De Nardis, Pamela Marcantonio, Claudia Mandolini, Camilla Paganelli, Elita Vitale, Fiamma Buttitta, Marco Bucci, Andrea Mezzetti, Agostino Consoli, and Francesco Cipollone. 2014. "Plasma Exosome MicroRNA Profiling Unravels a New Potential Modulator of Adiponectin Pathway in Diabetes: Effect of Glycemic Control." *J Clin Endocrinol Metab* 99(9):E1681–85. doi: 10.1210/jc.2013-3843.
- Sharma, Arya M., and Bart Staels. 2007. "Review: Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ and Adipose Tissue - Understanding Obesity-Related Changes in Regulation of Lipid and Glucose Metabolism." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 92(2):386–95. doi: 10.1210/jc.2006-1268.
- Shi, Zhonghua, Chun Zhao, Xirong Guo, Hongjuan Ding, Yugui Cui, Rong Shen, and Jiayin Liu. 2014. "Differential Expression of MicroRNAs in Omental Adipose Tissue from Gestational Diabetes Mellitus Subjects Reveals Mir-222 as a Regulator of $E\alpha$ Expression in Estrogen-Induced Insulin Resistance." *Endocrinology* 155(5):1982–90. doi: 10.1210/en.2013-2046.
- Shu, Jiang, Bruno Vieira, Tian Gao, Zheng Xu, and Juan Cui. 2017. "Dynamic and Modularized MicroRNA Regulation and Its Implication in Human Cancers." *Scientific Reports* (September):1–17. doi: 10.1038/s41598-017-13470-5.
- Stambolic, V., D. Macpherson, D. Sas, Y. Lin, B. Snow, Y. Jang, S. Benchimol, and T. W. Mak. 2001. "Regulation of PTEN Transcription by P53." *Molecular Cell* 8:317–25.
- Sung, Shian-Ying, Chia-Hui Liao, Hsun-Pai Wu, Wan-Chi Hsiao, I. Hui Wu, Jinpu, Yu, Sue-Hwa Lin, and Chia-Ling Hsieh. 2013. "Loss of Let-7 MicroRNA Upregulates IL-6 in Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Triggering a Reactive Stromal Response to Prostate Cancer." *PLoS ONE* 8(8):e71637. doi: 10.1371/journal.pone.0071637.
- Tchernof, André, Chantal Bélanger, Anne-sophie Morisset, Christian Richard, Jacques Mailloux, Philippe Laberge, and Pierre Dupont. 2006. "Regional Differences in Adipose Tissue Metabolism in Women." *Diabetes* 55:1353–60. doi: 10.2337/db05-1439.
- Thomou, Thomas, Marcelo A. Mori, Jonathan M. Dreyfuss, Masahiro Konishi, Masaji Sakaguchi, Christian Wolfrum, Tata Nageswara Rao, Jonathon N. Winnay, Ruben Garcia-Martin, Steven K. Grinspoon, Phillip Gorden, and C. Ronald Kahn. 2017. "Adipose-Derived Circulating MiRNAs Regulate Gene Expression

- in Other Tissues.” *Nature* 542(7642):450–55. doi: 10.1038/nature21365.
- Travers, R. L., A. C. Motta, J. A. Betts, A. Bouloumié, and D. Thompson. 2015. “The Impact of Adiposity on Adipose Tissue-Resident Lymphocyte Activation in Humans.” *International Journal of Obesity* 39(5):762–69. doi: 10.1038/ijo.2014.195.
- Vázquez-Vela, Maria Eugenia Frigolet, Nimbe Torres, and Armando R. Tovar. 2008. “White Adipose Tissue as Endocrine Organ and Its Role in Obesity.” *Archives of Medical Research* 39(8):715–28. doi: 10.1016/j.arcmed.2008.09.005.
- Veilleux, Alain, Maude Caron-Jobin, Suzanne Noël, Philippe Y. Laberge, and André Tchernof. 2011. “Visceral Adipocyte Hypertrophy Is Associated with Dyslipidemia Independent of Body Composition and Fat Distribution in Women.” *Diabetes* 60(5):1504–11. doi: 10.2337/db10-1039.
- Venniyoor, Ajit. 2020. “PTEN: A Thrifty Gene That Causes Disease in Times of Plenty?” *Frontiers in Nutrition* 7(June):1–13. doi: 10.3389/fnut.2020.00081.
- Walker, Gillian E., Paolo Marzullo, Roberta Ricotti, Gianni Bona, and Flavia Prodam. 2014. “The Pathophysiology of Abdominal Adipose Tissue Depots in Health and Disease.” *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation* 19(1):57–74. doi: 10.1515/hmbci-2014-0023.
- Wentworth, Jm M., G. Naselli, W. A. Brown, and L. Doyle. 2010. “Pro-Inflammatory CD11c+ CD206+ Adipose Tissue Macrophages Are Associated with Insulin Resistance in Human Obesity.” *Diabetes* 59(July):1648–56. doi: 10.2337/db09-0287.
- World Health Organization. 2020. “Obesity and Overweight.” Retrieved December 29, 2020 (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>).
- Yamauchi, Toshimasa, Yasunori Nio, Toshiyuki Maki, Masaki Kobayashi, Takeshi Takazawa, Masato Iwabu, Miki Okada-iwabu, Sachiko Kawamoto, Naoto Kubota, Tetsuya Kubota, Yusuke Ito, Junji Kamon, Atsushi Tsuchida, Katsuyoshi Kumagai, Hideki Kozono, Yusuke Hada, Hitomi Ogata, Kumpei Tokuyama, Masaki Tsunoda, Tomohiro Ide, Kouji Murakami, Motoharu Awazawa, Iseki Takamoto, Philippe Froguel, Kazuo Hara, Kazuyuki Tobe, Ryoza Nagai, Kohjiro Ueki, and Takashi Kadowaki. 2007. “Targeted Disruption of AdipoR1 and AdipoR2 Causes Abrogation of Adiponectin Binding and Metabolic Actions.” 13(3). doi: 10.1038/nm1557.
- Yoon, Myeong Jin, Gha Young Lee, Jun-Jae Chung, Young Ho Ahn, Seung Hwan Hong, and Jae Bum Kim. 2006. “Adiponectin Increases Fatty Acid Oxidation in

Skeletal Muscle Cells by Sequential Activation of AMP-Activated Protein Kinase, P38 Mitogen-Activated Protein Kinase, and Peroxisome Proliferator-Activated Receptor." *Diabetes* 55:2562–70. doi: 10.2337/db05-1322.

Yoshizaki, T., J. C. Milne, T. Imamura, S. Schenk, N. Sonoda, J. L. Babendure, J. C. Lu, J. J. Smith, M. R. Jirousek, and J. M. Olefsky. 2009. "SIRT1 Exerts Anti-Inflammatory Effects and Improves Insulin Sensitivity in Adipocytes." *Molecular and Cellular Biology* 29(5):1363–74. doi: 10.1128/MCB.00705-08.

Zeyda, Maximilian, Joakim Huber, Gerhard Prager, and Thomas M. Stulnig. 2011. "Inflammation Correlates with Markers of T-Cell Subsets Including Regulatory T Cells in Adipose Tissue from Obese Patients." *Obesity* 19(4):743–48. doi: 10.1038/oby.2010.123.

Zou, Chenhui, and Jianhua Shao. 2008. "Role of Adipocytokines in Obesity-Associated Insulin Resistance." *Journal of Nutritional Biochemistry* 19:277–86. doi: 10.1016/j.jnutbio.2007.06.006.