

V

# Variantes alélicas del gen codificante del receptor de melanocortina 4 (MC4R) y su impacto en la expresión del fenotipo obeso

*Melanocortin-4 receptor (MC4R) gene allelic variants and its impact on obese phenotype expression*

1

*Nailet Arráiz<sup>1,3</sup>, Joselyn Rojas<sup>1</sup>, Carem Prieto<sup>1</sup>, Endrina Mujica<sup>1</sup>, Anilsa Amell<sup>1</sup>, María Patricia Sánchez<sup>1</sup>, Baldimiro Urdaneta<sup>2</sup>, Rafael Marcucci<sup>3</sup>, María Carolina Camacho<sup>3</sup>, Alegría Levy<sup>3</sup>, Robys González<sup>1</sup>, María Sofía<sup>1</sup> Martínez, Maricarmen Chacín<sup>1</sup>, Valmore Bermúdez<sup>1</sup>*  
<sup>1</sup>Centro de Investigaciones Endocrino-Metabólicas "Dr. Félix Gómez" Facultad de Medicina, Universidad del Zulia  
<sup>2</sup>Escuela de Enfermería, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia  
<sup>3</sup>Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia

## Resumen

**L**a obesidad representa un problema de salud pública a nivel mundial, debido a su asociación con otras morbilidades como la diabetes, hipertensión y enfermedad cardiovascular. Se estima que aproximadamente un 65%-80% de la variación fenotípica de la obesidad se explica por variaciones genéticas interindividuales. MC4R es uno de los genes para el cual mayor número de mutaciones y polimorfismos se ha reportado hasta el presente en individuos obesos. Éstas incluyen: codones de terminación de la traducción, sustituciones en dominios amino terminal y transmembrana y una gran variedad de polimorfismos que afectan la estructura y función del receptor. La asociación de variantes alélicas del gen MC4R con incremento en el índice de masa corporal por alteraciones en los patrones de ingesta-gasto de energía ha sido replicada en diversos estudios. Por lo tanto, el gen codificante del receptor de melanocortina es un fuerte candidato que podría ser incorporado en protocolos de evaluación de factores de riesgo para el desarrollo del fenotipo obeso.

**Palabras clave:** obesidad, MC4R, variantes alélicas, índice de masa corporal, receptor de melanocortina

## Abstract

**O**besity is a public health problem worldwide, due to its association with other morbidities such as diabetes, hypertension and cardiovascular disease. It is estimated that approximately 65% -80% of the phenotypic variation in obesity is due to genetic variation between individuals. MC4R is one of the genes for which the largest number of mutations and polymorphisms have been reported to date in obese individuals. These include: stop codons of translation, substitutions at amino terminal transmembrane domains and a variety of polymorphisms that affect the structure and function of the receptor. The association of MC4R gene allelic variants with increased body mass index by changes in eating and energy expenditure patterns has been replicated in several studies. Therefore the melanocortin receptor gene is a strong candidate which could be incorporated in protocols for assessing obesity phenotype risk factors.

**Key words:** obesity, MC4R, allelic variants, body mass index, melanocortin receptor.

**E**l carácter epidémico de la obesidad representa uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial, debido a la asociación de la acumulación de grasa corporal con otras morbilidades como la diabetes, hipertensión y enfermedad cardiovascular. El 44% de los casos mundiales de diabetes, el 23% de cardiopatía isquémica y el 7-41% de determinados tipos de cáncer son atribuibles al sobrepeso y la obesidad<sup>1</sup>. La Organización Mundial de la Salud, advierte que aproximadamente 400 millones de personas padecen obesidad, mil millones de adultos tienen sobrepeso y se estima que cada año la obesidad y sus comorbilidades podría ser responsable de aproximadamente 2,6 millones de muertes a nivel mundial<sup>1</sup>.

La obesidad como enfermedad multifactorial debe ser considerada desde el punto de vista anatómico, metabólico, neurofisiológico, psicológico, social y genético, por lo cual la evaluación del paciente obeso requiere un enfoque

integral que oriente al médico en la difícil tarea de diseñar un esquema terapéutico adecuado para cada paciente. Es necesario distinguir en cada paciente, los factores etiológicos que determinaron la ganancia de peso, de aquellos que permiten que persista el exceso de peso (Tabla 1). Se debe considerar que la obesidad progresa en dos fases: una fase dinámica en la cual participan factores que desencadenan la instalación del estado obeso debido a un desequilibrio en el balance energético (exceso de la ingesta y/o disminución en el gasto de energía) y una fase estática, donde participan nuevos factores que determinan un "nuevo equilibrio" del balance energético para mantener el "nuevo peso corporal"<sup>2</sup>.

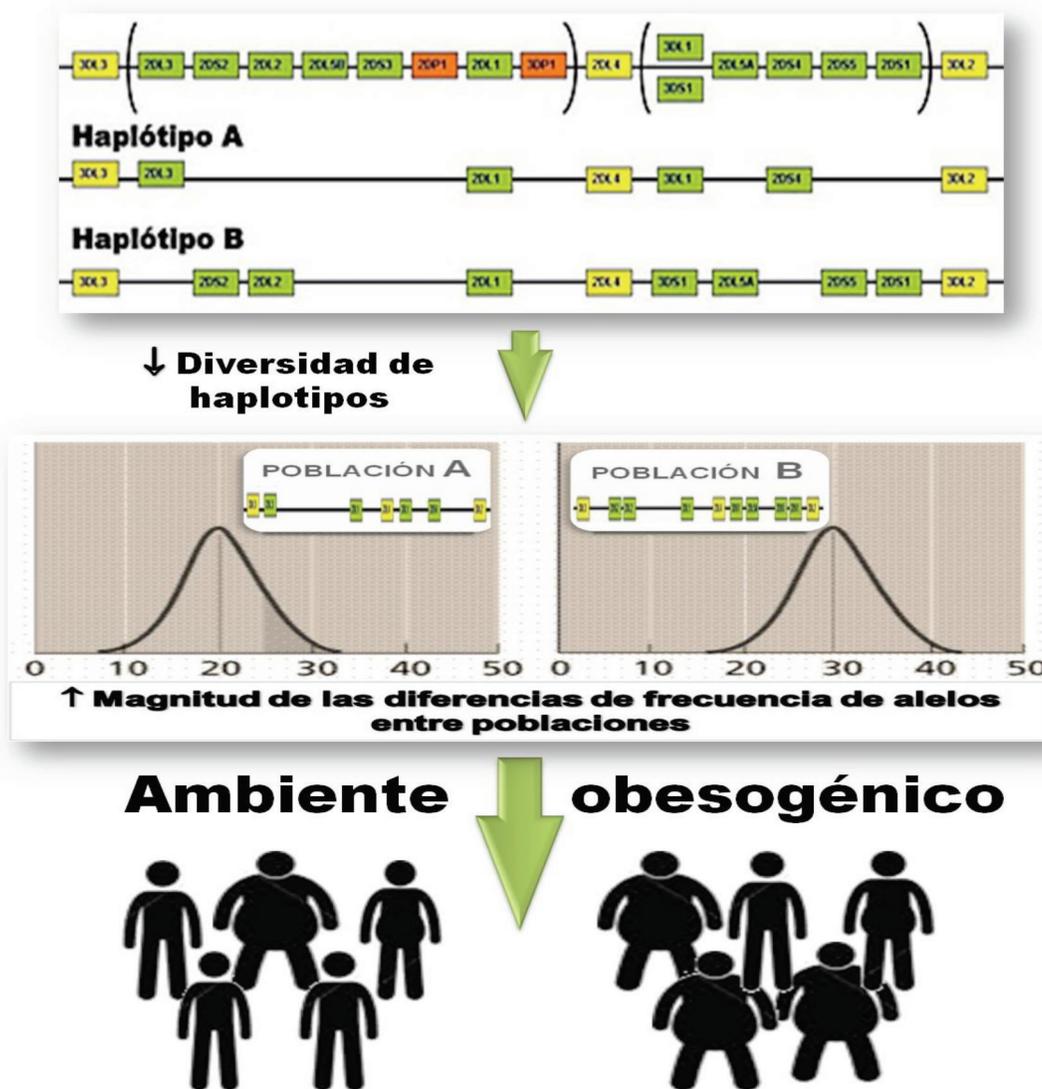
El establecimiento de un desequilibrio crónico entre la ingesta y el gasto energético que conduce a un balance energético positivo, se traduce en cambios en la masa de tejido adiposo, por lo cual la regulación del peso corporal requiere de un "senso" continuo del tejido adiposo para elaborar respuestas apropiadas que garanticen una masa corporal constante durante períodos de tiempo prolongado. Para ello, el organismo utiliza un sistema neuro-humoral altamente integrado y redundante que minimiza el efecto de fluctuaciones a corto plazo, del balance energético.

Tabla 1: Factores que contribuyen a la ganancia y mantenimiento de peso

	FACTORES PREDISPONENTES	FACTORES DESENCADENANTES	AMPLIFICACIÓN Y/O MANTENIMIENTO DEL PESO CORPORAL
<b>Genéticos y/o constitutivos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ Historia familiar de obesidad</li> <li>◆ Eficiencia metabólica</li> <li>◆ Hiperreactividad neuroendocrina al estrés</li> <li>◆ Respuesta a alteraciones emocionales</li> <li>◆ Exceso de peso en la infancia</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ Alteraciones en estados neurohormonales</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ Hiperplasia y/o hipertrofia de tejido adiposo</li> <li>◆ Hiperinsulinismo</li> <li>◆ Insulino resistencia</li> </ul>
<b>Ambientales</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ Estilo de vida sedentaria</li> <li>◆ Frecuencia, tamaño y composición de las comidas</li> <li>◆ Nivel socioeconómico</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ Estrés y depresión</li> <li>◆ Cambios en estilos de vida</li> <li>◆ Desórdenes en la ingesta</li> <li>◆ Drogas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>◆ Hiperfagia</li> <li>◆ Inactividad física secundaria al sobrepeso.</li> <li>◆ Trastornos emocionales secundarios a obesidad</li> </ul>

Fuente: Referencia 2.

Figura 1



La acumulación de un conjunto de alelos en una población puede estar relacionado con una mayor frecuencia de un rasgo cuantitativo. La disminución de la diversidad de haplotipos incrementa las diferencias entre los genotipos entre las poblaciones, lo cual puede marcar diferencias entre las respuestas al mismo contexto ambiental, en este caso diferencias en la regulación del balance energético y acumulación de grasa corporal en respuesta a un ambiente obesogénico (Rasgos cuantitativos tales como IMC, circunferencia de la cintura, etc).

La importancia de la herencia en la obesidad se sugirió inicialmente por observaciones de que el fenotipo de sobrepeso y distribución de la grasa corporal de algunos niños adoptados se correlacionaba con el fenotipo de sus padres biológicos y no con el de sus padres adoptivos y por otra parte, los niños gemelos monocigotos desarrollan el mismo fenotipo de sobrepeso, aún variando algunos parámetros ambientales<sup>3</sup>.

La herencia de un rasgo fenotípico se define como el porcentaje de variación interindividual en ese rasgo, que puede ser explicado por factores hereditarios. En el caso de la obesidad, la heredabilidad no es una entidad fija, debido a que el gradiente fenotípico que puede ser explicado por el genotipo, se verá influenciado por el conjunto de múltiples alelos de genes (haplotipos que podrían concentrarse

o acumularse en familias o grupos étnicos) y la exposición a factores ambientales obesogénicos en diferentes individuos y familias (Figura 1)<sup>4-6</sup>.

Por ejemplo se ha estimado una variabilidad de 0,50 a 0,70 de heredabilidad para el índice de masa corporal (IMC); 0,71-0,86 para la distribución total y regional de grasa corporal; 0,75-0,8 para la grasa corporal total y 0,72-0,82 para los valores de circunferencia de la cintura<sup>7</sup>. Además, es evidente que los factores ambientales no pueden explicar la totalidad de la variación a nivel de población representado por diferencias individuales en la acumulación de grasa corporal. Por ejemplo, al comparar individuos de diverso origen étnico, en cuanto a composición y distribución de la grasa corporal, se ha documentado diferencias significativas entre mujeres de origen afro-americano y

americano-europeas, después de someterlas a las intervenciones dietéticas equivalentes para alcanzar un IMC similar. Igualmente la diferencia en la composición y contenido de grasa corporal es muy significativa independientemente del estado socioeconómico y nivel educativo<sup>8</sup>.

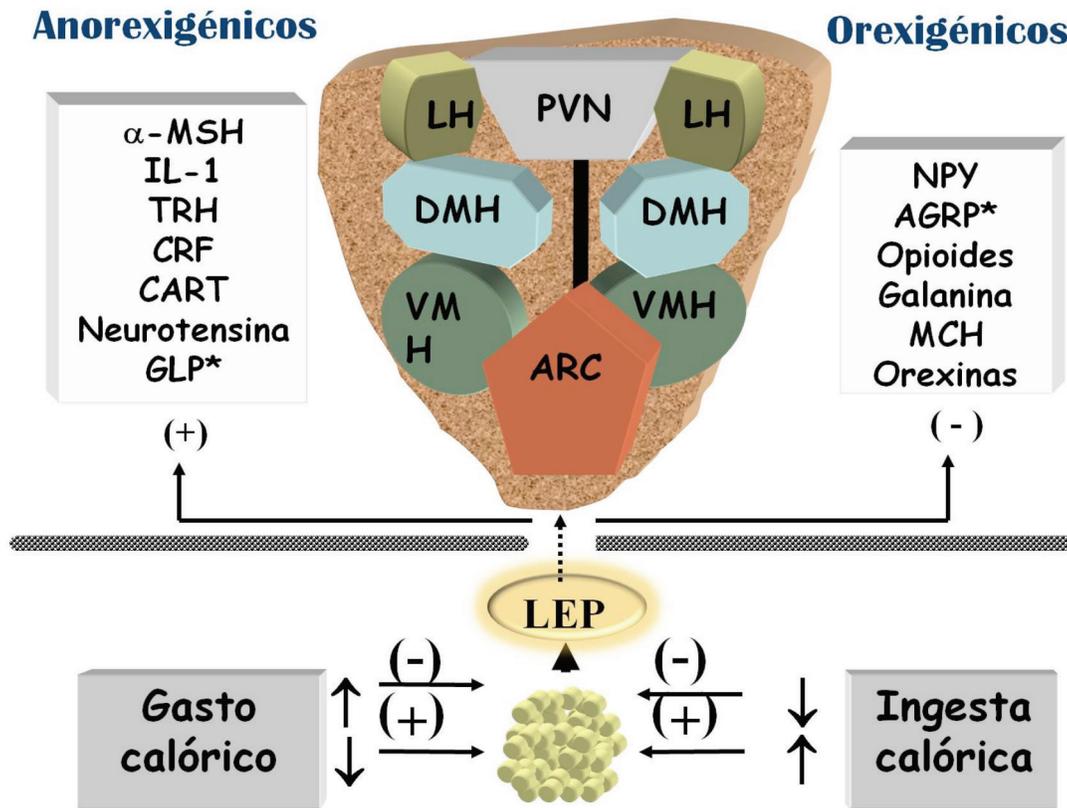
Hasta el presente, se han descrito más de 300 marcadores genéticos o regiones cromosómicas asociadas al fenotipo obeso<sup>4-9</sup>, sin embargo, se ha logrado replicar los resultados de asociación con obesidad solo para 22 genes diferentes en al menos 5 estudios (Tabla 2). Esto demuestra las dificultades de estudiar los determinantes genéticos de características complejas que resultan de la contribución de múltiples genes y las interacciones con factores ambientales.

La identificación de factores genéticos comienza por la identificación de regiones de todo el genoma que son es-

tadísticamente asociados con un rasgo de interés, seguido por la identificación de los genes dentro de estas regiones, la confirmación de los genes que contribuyen al fenotipo en estudio y finalmente, por la dilucidación del mecanismo de acción a través de los cuales los genes identificados influyen en el fenotipo.

Para la identificación de estas asociaciones genotipo-fenotipo se siguen diversos enfoques de estudio, incluyendo asociaciones de regiones del genoma (genome wide linkage) estudios de asociación de todo el genoma (genome-wide association) y el análisis de genes candidatos los cuales han permitido identificar la contribución de variaciones del ADN con fenotipos específicos, tales como medidas relacionadas con el consumo de energía, el gasto energético y la acumulación de grasa corporal.

Figura 2



Circuito regulador en el cual participan diversas moléculas efectoras orexigénicas y anorexigénicas que determinan un balance energético adecuado para mantener el peso corporal. La leptina ocupa un nivel jerárquico en este circuito. ARC: núcleo arcuato; PVN: núcleo paraventricular; DMH: región dorso-medial; VMH: región ventro-medial; LHA: región lateral; NPY: neuropéptido Y; MCH: hormona de concentración de melanina; AGRP: proteína relacionada con Agouti; CRF: factor liberador de corticotropina; IL-1; Interleukina 1; TRH: hormona liberadora de tirotrópina; α-MSH: hormona estimulante de melanocitos (melanocortina); GLP: péptido tipo glucagon; CART: transcrito regulado por anfetamina y cocaína.

Tabla 2: Genes asociados al fenotipo obeso

Gen	Fenotipo	Localización en cromosoma
<b>AGRP</b>	Obesidad	20q11.2-q12
<b>CPE</b>	Obesidad	4q28
<b>LEP</b>	Obesidad	7q31-3
<b>LEPR</b>	Obesidad	1p31
<b>UCP1</b>	Balance energético	4q31
<b>UCP2</b>	Balance energético	11q13
<b>UCP3</b>	Balance energético	11q13
<b>MC4R</b>	Patrón de ingesta-Gasto energético	18q21.3-q22
<b>FTO</b>	Patrón de ingesta-Gasto energético	16q12.2
<b>POMC</b>	Obesidad	2p23.2
<b>NPYR5</b>	Regulación del apetito	4q31-q32
<b>CCKAR</b>	Saciedad	4p15.1
<b>TNFA</b>	Obesidad. Diferenciación de adipocitos	6p21.3
<b>PPARg</b>	Diferenciación de adipocitos	3p25
<b>ADRB3</b>	Diferenciación de adipocitos	8p11.1-p12

AGRP: proteína relacionada con Agouti; CPE: carboxipeptidasa E; LEP: leptina; LEPR: receptor de leptina; UCP: proteínas desacoplantes (1, 2 y 3); MC4R: receptor 4 de melanocortina; FTO: gen asociado a grasa corporal y obesidad; POMC: proopiomelanocortina, un precursor que por procesamiento post-traducciona da origen a a-MSH y b-MSH (hormona estimulante de melanocitos; NPYR: receptor 5 de neuropéptido Y; CCKAR: receptor de colecistoquinina A; TNFA: factor de necrosis tumoral  $\alpha$ ; PPARg: receptor gamma activado por la proliferación de peroxisomas; ADRB3: receptor adrenérgicos b-3. Tabla elaborada de acuerdo a información disponible en Centro de información Biotecnológica de Estados Unidos, Sección ClinVar, Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar>

En diversos estudios se ha destacado la importancia del gen MC4-R (Melanocortin 4-Receptor) en la regulación del balance energético y su asociación con el desarrollo de sobrepeso y obesidad. El rol de MC4R en la regulación del peso corporal se ha fortalecido por la detección de mutaciones y pacientes obesos en diversas poblaciones, la mayoría consistiendo en sustituciones de nucleótidos en diferentes regiones del gen que afectan la expresión del gen o pueden resultar en sustituciones de aminoácidos en el receptor<sup>9-15</sup>.

#### **MC4R: Gen codificante del receptor de melanocortina y su asociación con obesidad ("Melanocortin 4 receptor").**

En el pasado, los estudios fisiológicos clásicos demostraron la importancia del hipotálamo en la regulación del apetito, sobre la base de diversos hallazgos de desarrollo de síndromes hiperfágicos y obesidad después de lesiones hipotalámicas.

Uno de los principales logros en la investigación de la obesidad fue la identificación de mutaciones en loci genéti-

cos responsables del desarrollo de obesidad en ratones y ratas. El clonamiento del gen *ob* y la identificación de la proteína leptina como una hormona protagonista en la regulación de la cantidad de grasa corporal en el organismo, impulsó otra serie de investigaciones para estudiar el mecanismo de señalización de la leptina<sup>16</sup>.

La leptina actúa sobre receptores del hipotálamo y posiblemente otras localizaciones en sistema nervioso central, donde es transportado por un sistema saturable. A nivel del núcleo arcuato del hipotálamo, la leptina disminuye la expresión de neuromoduladores de tipo orexigénico, por ejemplo, del ARNm del neuropéptido Y (Figura 2), un potente péptido orexigénico que estimula la ingesta de alimentos, disminuye la termogenesis e incrementa los niveles de insulina y corticosteroides plasmáticos<sup>17,18</sup>.

Por otra parte, la leptina incrementa la expresión de péptidos anorexigénicos, entre los cuales cabe destacar la hormona estimulante de melanocitos ( $\alpha$ -MSH), un agonista endógeno del receptor de melanocortina-4 (MC4R) que inhibe la ingesta en roedores<sup>18</sup>.

Se han identificado al menos 5 receptores de  $\alpha$ -MSH, designados MC1R a MC5R, siendo MC3R y MC4R los receptores de melanocortina directamente involucrados en el control del balance de energía. MC4R es una proteína transmembrana de 333 aminoácidos de la familia de receptores acoplados a proteínas G y mutaciones en el gen codificante de este receptor se asocian con hiperfagia, hiperinsulinemia e hiperglicemia en roedores<sup>19</sup>. El gen MC4R (Nº de acceso descriptivo OMIM: 155541) fue el cuarto receptor de melanocortina identificado, codificando una proteína de 333 aminoácidos perteneciente a la familia de receptores acoplados a proteínas G. El gen MC4R se localiza en el cromosoma 18 (Localización citogenética: 18q21.32) se expresa principalmente en el cerebro y su expresión es notablemente ausente en la corteza suprarrenal, melanocitos y placenta<sup>20</sup>.

MC4R es activado por péptidos derivados del procesamiento post-traducciona de POMC:  $\alpha$ MSH y b-MSH y su señal se propaga a través de la activación de la vía Gs/adenilato ciclasa. MC4R y MC3R exhiben características comunes de la familia de receptores de rodopsina/beta2-adrenergicos, incluyendo aminoácidos altamente conservados en las hélices transmembrana (HTM), tales como los motivos DRY en HTM3 y NPxxY en HTM7, sin embargo se diferencia claramente por la ausencia de residuos de cisteína y en el bucle extracelular y de prolina en la HTM5<sup>21</sup>.

Se han identificado aminoácidos específicos involucrados en la unión al ligando ( $\alpha$ MSH y b-MSH) en la región de de HTM (motivo His-Phe-Arg-Trp) y se ha resaltado la importancia de las HTM tanto en la homodimerización como en la heterodimerización de MC4R con otros receptores acoplados a proteínas G (Receptor 7 acoplado a proteína G). Se ha propuesto que esta interacción con otros receptores puede ser de gran importancia en la regulación del balance energético en el núcleo PVN del hipotálamo, o cual abre nuevas expectativas para el diseño de nuevas estrategias terapéuticas para el tratamiento de la obesidad<sup>21</sup>.

MC4R, es uno de los genes para el cual mayor número de mutaciones o variantes alélicas se ha reportado hasta el presente en humanos<sup>10-14,22-30</sup>. En las tablas 3 y 4 se especifican las variantes alélicas mejor caracterizadas en la literatura, cuyos efectos patogénicos sobre la estructura y función del receptor han sido evaluados.

En 1998 se describió una mutación heterocigota en el gen MC4R en niños y adultos, miembros de una familia severamente obesos, consistente con herencia autosómica dominante. No hubo evidencia de deterioro de la función suprarrenal, desarrollo sexual y fertilidad, los sujetos afectados<sup>20,23</sup>.

En un estudio realizado Hinney en 306 niños y adolescentes extremadamente obesos, se identificaron varias mutaciones incluyendo una delección de 4 pb que se traduce

en una proteína truncada; una sustitución TYR35XTER en 2 probandos obesos (índice de masa corporal, 31,29 y 45,91 kg/m<sup>2</sup>) también responsable de la expresión de una proteína truncada que abarca el dominio extracelular N-terminal. Ambos portadores también mostraron una mutación ASP37VAL (Tabla 2)<sup>15</sup>. Todas las mutaciones en el gen MC4R sólo se encontraron en los individuos con obesidad extrema cuyo IMC eran todas mayores que el percentil 99.

Un polimorfismo I251L se encontró en frecuencias similares en todos los grupos estudiados. Los autores concluyeron que las mutaciones en el gen MC4R exhiben una alta frecuencia en la población objeto de estudio. Los datos apoyaron herencia dominante<sup>15,21</sup>.

Algunos autores afirman que la deficiencia de MC4R pudiera representar la forma más común de obesidad monogénica. Para definir el espectro clínico, el modo de herencia, las correlaciones genotipo-fenotipo y los mecanismos fisiopatológicos que conducen a la obesidad, se determinó la secuencia de nucleótidos del gen MC4R en 500 casos índice<sup>24</sup>. En 29 casos índice (5,8%), se encontraron mutaciones en MC4R, 23 eran heterocigotos y 6 homocigotos. Los portadores de mutaciones exhibían obesidad severa, aumento de la masa magra, aumento en el crecimiento lineal, hiperfagia e hiperinsulinemia, siendo los individuos homocigotos más severamente afectados que los heterocigotos.

Tabla 3: Variantes alélicas por sustitución de nucleótidos en el gen MC4R asociadas a obesidad					
Variante	Cambio estructural en el gen	Consecuencia estructural de la mutación	Fenotipo descrito del portador de la variante	Identificación base de datos genómicos	Ref
TYR35TER	Transversión C@A en nucleótido 105 del gen	Proteína truncada en dominio extracelular N-terminal	Obesidad expresión variable	dbSNP: rs13447324	15
ASP37VAL	Transversión A@C en nucleótido 111 del gen	Sustitución de asparagina por valina en residuo 37 de dominio extracelular	Obesidad expresión variable	dbSNP: rs13447325	15
VAL50MET	Transición G@A en nucleótido 148 del gen	Sustitución de valina por metionina en residuo 50 de primer dominio transmembrana	Obesidad mórbida	MC4R, V50MET	26
SER58CYS	Transversión A@T en nucleótido 172 del gen	Sustitución de serina por cisteína en residuo 58 de primer dominio transmembrana	Sobrepeso y obesidad expresión variable	MC4R, S58C	26
ILE102SER	Transversión T@G en nucleótido 305 del gen	Sustitución de serina por cisteína en residuo 102 del segundo dominio transmembrana	Obesidad expresión variable	MC4R, I102S	26, 27
ILE170VAL	Transición A@G en nucleótido 508 del gen	Sustitución de isoleucina por valina en residuo 170 del cuarto dominio transmembrana	Obesidad expresión variable	MC4R, I170V	26
ASN274SER	Transición A@G en nucleótido 820 del gen	Sustitución de asparagina por valina en residuo 274 del receptor	Obesidad mórbida Hipertensión	MC4R, N274S	46
ILE125LYS	Transversión T@G en nucleótido 373 del gen	Sustitución de isoleucina por lisina. Defecto de señalización mediado por AMPc en respuesta al ligando	Obesidad de inicio temprano	MC4R, I125K	20, 24
CYS271TYR	Transición C@G en nucleótido 811 del gen	Sustitución de cisteína por tirosina. Defecto de señalización mediado por AMPc. en respuesta al ligando Expresión defectuosa en superficie celular	Obesidad de inicio temprano	MC4R, C271Y	20, 24
ALA175THR	Transición G@A en nucleótido 811 del gen	Sustitución de alanina por treonina en residuo 175. Disminución en la actividad de la proteína.	Obesidad de inicio temprano	MC4R, A175T	20
ILE316SER	Transición T@C en nucleótido 945 del gen	Sustitución de isoleucina por serina Defecto de señalización mediado por AMPc en respuesta al ligando. Actividad parcial de la proteína en ensayos <i>in vitro</i> con disminución de la afinidad por $\alpha$ -MSH	Obesidad de inicio temprano	MC4R, ILE316SER	20, 24
TYR287TER	Transversión C@A en nucleótido 860 del gen	Proteína truncada en residuo 286 Proteína inactiva en ensayos <i>in vitro</i> Disminución de la expresión en la superficie celular	Obesidad severa de inicio temprano	MC4R, TYR287X	24
ASN97ASP	Transición A@G en nucleótido 291 del gen	Sustitución de asparagina por ácido aspártico. Defecto de generación de AMPc en respuesta al ligando.	Obesidad severa de inicio temprano	MC4R, N97D	20, 24, 30
SER127LEU	Transición C@T en nucleótido 381 del gen	Sustitución de serina por leucina. En estudios de transfección: defecto de unión de agonistas $\alpha$ -MSH, b-MSH, y g-1-MSH	Obesidad severa de inicio precoz acantosis nigricans hiperinsulinemia	dbSNP: rs13447331	35,37
MC4R, ALA219VAL	Transición C@T en nucleótido 650 del gen	Sustitución de alanina por valina en posición 219. Proteína inactiva en ensayos <i>in vitro</i>	Obesidad juvenil	MC4R, A219V	38

Tabla elaborada de acuerdo a información disponible en página de OMIM<sup>®</sup>: Código de acceso 601.665 Disponible en: <http://www.omim.org>. Las referencias corresponden a primeros estudios en reportar la variante.

En contraposición Jacobson y col. (2002) al evaluar la prevalencia de mutaciones del gen MC4R en individuos de raza blanca y sujetos de raza negra con obesidad severa y con peso normal, detectaron variantes del gen consistiendo en sustituciones de nucleótidos, sin embar-

go, no encontraron asociación significativa con el fenotipo obeso. Los autores concluyeron que sus resultados no apoyan la noción prevaleciente de que la variación de secuencias en el gen MC4R es una causa frecuente de obesidad<sup>25</sup>.

**Tabla 4: Variantes alélicas que afectan el marco de lectura en el gen MC4R asociadas a obesidad**

Variante	Cambio estructural en el gen	Consecuencia estructural de la mutación	Fenotipo descrito del portador de la variante	Identificación base de datos genómicos	Ref
4-BP DEL, NT631	Delección de 4 pb (CTCT) codón 211	Proteína truncada de 215 residuos (quinto dominio transmembrana)	Obesidad severa Hiperfagia	MC4R, NT631	20
4-BP INS, NT732	Inserción de 4 pares de bases en el nucleótido 732	Proteína truncada de 245 residuos (sexto y séptimo dominios transmembrana)	Obesidad de inicio temprano	MC4R, NT732	23
1-BP INS, 112A	Inserción de una A en nucleótido 112 del gen	Cambio de marco de lectura, pérdida absoluta de la actividad del receptor	Obesidad de inicio temprano	MC4R, 1-BP INS, 112A	24
4-BP DEL, 211CTCT	Delección de 4 pb (CTCT) codón 211	Cambio de marco de lectura, pérdida absoluta de la actividad del receptor	Obesidad de inicio temprano Hiperfagia	MC4R, 4-BP DEL, 211CTCT	24
2-BP INS, 279GT	Inserción de dos pb (GT) en nt 279	Cambio de marco de lectura, pérdida absoluta de la actividad del receptor	Obesidad de inicio temprano Hiperfagia	MC4R, 2-BP INS, 279GT	24
15-BP DEL (Codones 88-92)	Delección de 15 pb (CTCT) codón 211	Delección de aminoácidos 88 hasta 92, dentro del segundo dominio transmembrana. El receptor se expresa en la superficie, pero incapaz de unir el ligando	Obesidad	MC4R, delta88-92	36
2-BP DEL, 750GA	Delección de 2 pb (GA) codón 750	Proteína truncada Proteína inactiva en ensayos <i>in vitro</i>	Obesidad de inicio precoz Hiperinsulinemia relativa	MC4R, delta750-751GA	39

Tabla elaborada de acuerdo a información disponible en página de OMIM<sup>31</sup>: Código de acceso 601.665 Disponible en: <http://www.omim.org>. Las referencias corresponden a primeros estudios en reportar la variante.

La correlación entre las propiedades de señalización de estos receptores mutantes y el patrón de ingesta de energía ha resaltado la función del receptor MC4R en el control de la conducta alimentaria. Dubern y col. (2001) identificaron 4 mutaciones dominantes MC4R heterocigotas sin sentido en 4 de 63 niños con obesidad severa. El fenotipo de obesidad fue variable en miembros de las familias de

los casos índice, concluyendo que las mutaciones en el gen MC4R tienen alta penetrancia y expresión variable y que puede estar relacionado con el patrón de ingesta<sup>26</sup>.

En otro estudio se detectaron mutaciones en el gen MC4R en un grupo individuos obesos, que al ser comparados con un grupo control de individuos obesos sin mutaciones, fe-

notípicamente equivalente en índice de masa corporal y emparejados por edad, sexo, se encontró un incremento en la ingesta calórica en el grupo de individuos portadores de alelos mutantes<sup>27</sup>.

Sin embargo, Hebebrand y col. (2004) comparó el patrón de ingesta de 43 probandos obesos portadores de mutaciones, con los controles obesos no portadores y no encontraron diferencias significativas en el patrón de ingesta entre los portadores de las variantes MC4R entre ambos grupos<sup>28</sup>.

Algunas variantes alélicas en el gen MC4R ha sido objeto de estudios funcionales, por ejemplo se ha demostrado que en algunos pacientes portadores de mutaciones que se traducen en una proteína truncada, los receptores mutantes se expresan deficientemente en la superficie celular y hay una disminución de la respuesta al agonista  $\alpha$ -MSH<sup>29</sup>.

Yeo y col. (2003) hicieron ensayos funcionales por medio de transfección transitoria in vitro de 12 mutaciones diferentes en el gen MC4R asociadas a obesidad de inicio temprano. De 9 mutantes tipo sustitución de nucleótidos estudiados, 4 eran completamente incapaces de generar AMPc en respuesta al ligando; cuatro mostraron expresión defectuosa en la superficie celular y 6 demostraron una reducción de la unión del ligando<sup>20</sup>.

Hinney y col. (2003) investigaron variantes alélicas en la región codificante del gen MC4R en niños y adolescentes normopeso y extremadamente obesos. Detectaron 16 mutaciones sin sentido y de cambio de marco de lectura en el grupo de obesos. En ensayos in vitro encontraron que 9 de las mutaciones se asociaban a una disminución en la síntesis de AMPc, en comparación con las construcciones de receptores no mutantes. Los autores concluyeron que sus resultados apoyan la hipótesis de que las mutaciones MC4R representan una de las principales los principales efectos de genes para la obesidad<sup>30</sup>.

Por secuenciación directa de la región codificante del gen MC4R en una cohorte de 289 niños y adolescentes checos con obesidad de inicio temprano, Hainerova y col. (2007) encontraron una prevalencia del 2,4% de mutaciones, incluyendo una nueva variante (C84R) para la cual se demostró una reducción significativa en la vía de señalización mediada por AMPc<sup>31</sup>.

En un estudio de asociación genómica de 318.237 SNPs con insulinoresistencia y fenotipos relacionados en 2684 asiáticos y 11.955 individuos de ascendencia asiática o europea, Chambers y col. (2008) encontraron asociación entre rs12970134 y la circunferencia de la cintura. Los homocigotos para el alelo de riesgo tenían un aproximadamente 2 cm mayor circunferencia de la cintura en comparación con portadores de alelos no mutados. Los autores concluyeron que la variación genética cerca de MC4R se asocia con un riesgo de la adiposidad y la resistencia a la insulina<sup>32</sup>.

Willer y col. (2009) realizaron un meta-análisis de 15 estudios de asociación genómica con el IMC que comprenden 32.387 participantes y en 14 cohortes adicionales que comprenden 59.082 participantes, confirmando fuerte asociación de SNPs en el gen MC4R con el IMC<sup>33</sup>. Otro meta-análisis de los datos de 4 estudios poblacionales europeos, con un total de 16.876 individuos encontró una asociación significativa entre el SNP rs17782313 (ubicado 188 kb corriente abajo del gen MC4R) y el índice de masa corporal en los adultos<sup>33</sup>.

Hardy et al. (2010) evaluaron esta variante en 1.240 hombres y 1.239 mujeres y encontraron fuerte asociación con el peso corporal, principalmente durante la infancia y la adolescencia<sup>34</sup>.

## Conclusiones

**S**e ha identificado un amplio espectro de mutaciones y variantes genéticas en el gen MC4R en pacientes obesos, la mayoría consistiendo en sustituciones de nucleótidos en diferentes regiones del gen que se traducen en sustituciones de aminoácidos en el receptor, así como inserciones y deleciones que cambian el marco de lectura del receptor. Estos cambios pueden afectar la expresión o la función del receptor, lo cual se ha asociado a la expresión del fenotipo obeso.

De acuerdo a todos los casos reportados, las mutaciones en MC4R exhiben herencia dominante, elevada penetrancia y expresividad variable y el fenotipo obeso resultante no parece estar acompañado por otras anomalías metabólicas.

La caracterización de las bases moleculares de la obesidad y el estudio de la interacción del binomio indisoluble gen-ambiente brinda una gran oportunidad para el diseño de programas de prevención primaria, así como el diseño de nuevas estrategias terapéuticas contra la obesidad, un problema de salud pública creciente a nivel mundial.

## Agradecimiento

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

## Referencias

1. Organización Mundial de la Salud. Temas de salud: datos sobre la obesidad en el mundo. OMS, 2013. Disponible en <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311> Acceso Marzo 2013.
2. Arráiz N. Obesidad: Bases Moleculares. Ediciones del Vice-Rectorado Académico, Universidad del Zulia. Editorial Venezolana, C.A. Mérida. Primera Edición: año 2007.
3. Stunkand AJ, Sørensen TIA. AN adoption study of human obesity. *N Engl J Med* 1986; 372:425-432.

4. O'Rahilly S, Farooqi S. Genetics of obesity *Phil Tran. R Soc B* 2006; 361: 1095–1105.
5. Yang J, Benyamin B, Mcevoy BP, Gordon S, Henders A K, Nyholt DR, Madden PA, Heath AC, Martin NG, Montgomery GW, Goddard ME, Visscher PM. Common SNPs explain a large proportion of the heritability for human height. *Nat Genet* 2011; 42: 565–569.
6. Elks C, Hoed M, Zhao JH, Sharp SJ, Wareham NJ, Loos RJ, Ong KK. Variability in the heritability of body mass index: a systematic review and meta-regression. *Front Endocrinol* 2012; 3: 1–16. doi: 10.3389/fendo.2012.00029.
7. Speakman JR, Rance KA, Johnstone AM. Polymorphisms of the FTO gene are associated with variation in energy intake, but not energy expenditure. *Obesity (Silver Spring)* 2008; 16: 1961–1965.
8. Fernández JR, Casazza K, Divers J, López-Alarcón M. Disruptions in Energy Balance: Does Nature overcome Nurture? *Physiol Behav.* 2008; 22; 94 105–112.
9. National Center for Biotechnology Information Databases. Clinical Variants. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar>.
10. Speakman J, O'Rahilly S: Fat: an evolving issue. *Dis Model Mech* 2012; 5:569-573.
11. Hinney A, Vogel C, Hebebrand J. From monogenic to polygenic obesity: recent advances. *Eur Child Psychiatry* 2010; 19:297-310.
12. Loos RJ, Bouchard C. Obesity is it a genetic disorder? *J Intern Med* 2003; 254: 401-425.
13. O'Rahilly S, Farooqi IS, Yeo GS, Challis BG. Minireview: human obesity-lessons from monogenic disorders. *Endocrinology* 2003; 144: 3757-3764.
14. Damcott CM, Sack P, Shuldiner AR. The genetics of obesity. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2009; 32: 761-786.
15. Hinney A, Schmidt A, Nottebom K, Heibült O, Becker A, Ziegler G, Gerber G, Sina M, Görg T, Mayer H, Siegfried M, Fichter M, Remschmidt H, Hebebrand J. Several mutations in the melanocortin-4 receptor gene including a nonsense and frameshift mutation associated with dominantly inherited obesity in humans. *J. Clin. Endocrinol Metab* 1999; 84: 1483-1486.
16. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse ob gene and its human homologue. *Nature* 1994; 372: 425-432.
17. Cone RD. Anatomy and regulation of the central melanocortin system. *Nat Neurosci* 2005; 8:571–578.
18. Barsh GS, Schwartz MW: Genetic approaches to studying energy balance: Perception and integration. *Nat Rev Genet* 2002;3:589–600.
19. Yang Y, Thompson D, Dickinson C, Wilken J, Barsh G, Kent S, Gantz I. Characterization of Agouti-related protein binding to melanocortin receptors. *Mol Endocrinol* 1999; 13: 148-155.
20. Yeo GSH, Farooqi IS, Aminian S, Halsall DJ, Stanhope RG, O'Rahilly SA frameshift mutation in MC4R associated with dominantly inherited human obesity. *Nature Genet* 1998; 20: 111-112.
21. Rediger A, Piechowski CL, Habegger K, Grüters A, Krude H, Tschöp MH, Kleinau G, Biebermann H. MC4R Dimerization in the Paraventricular Nucleus and GHSR/MC3R Heterodimerization in the Arcuate Nucleus: Is There Relevance for Body Weight Regulation?. *Neuroendocrin* 2012; 95:277-288.
22. Online Mendelian Inheritance in Man®. An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. Updated 10 July 2013. Disponible en <http://www.omim.org>
23. Vaisse, C.; Clement, K.; Guygrand, B. And Froguel, P. A frameshift mutation in human MC4R is associated with a dominant form of obesity. *Nat Genet* 1998; 20: 113-114.
24. Farooqi IS, Keogh JM, Yeo GSH, Lank EJ, Cheetham T, O'Rahilly, S. Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene. *New Eng J Med* 2003; 348: 1085-1095.
25. Jacobson P, Ukkola O, Rankinen T, Snyder EE, Leon AS, Rao DC, Skinner JS, Wilmore JH, Lonn L, Cowan GS, Jr, Sjöström L, Bouchard C. Melanocortin 4 receptor sequence variations are seldom a cause of human obesity: the Swedish obese subjects, the HERITAGE family study, and a Memphis cohort. *J Clin Endocr Metab* 2002; 87: 4442-4446.
26. Dubern B, Clement K, Pelloux V, Froguel P, Girardet J-P, Guy-Grand B, Tounian P. Mutational analysis of melanocortin-4 receptor, agouti-related protein, and alpha-melanocyte-stimulating hormone genes in severely obese children. *J Pediatr* 2001; 139: 204-209.
27. Branson R, Potoczna N, Kral JG, Lentjes KU, Hoehe MR, Horber FF. Binge eating as a major phenotype of melanocortin 4 receptor gene mutations. *New Eng J Med.* 2003; 348: 1096-1103.
28. Hebebrand J, Geller F, Dempfle A, Heinzl-Gutenbrunner M, Raab M, Gerber G, Wermter A-K, Horro FF, Blundell J, Schafer H, Remschmidt H, Herpertz S, Hinney A. Binge-eating episodes are not characteristic of carriers of melanocortin-4 receptor gene mutations. *Molec Psychiat* 2004; 9: 796-800.
29. Nijenhuis, W. A. J., Garner, K. M., van Rozen, R. J., Adan, R. A. H. Poor cell surface expression of human melanocortin-4 receptor mutations associated with obesity. *J Biol Chem* 2003; 278: 22939-22945.
30. Hinney A, Hohmann S, Geller F, Vogel C, Hess C, Wermter AK, Brokamp B, Goldschmidt H, Siegfried W, Remschmidt H, Schafer H, Gudermann T, Hebebrand J. Melanocortin-4 receptor gene: case-control study and transmission disequilibrium test confirm that functionally relevant mutations are compatible with a major gene effect for extreme obesity. *J Clin Endocr Metab* 2003; 88: 4258-4267
31. Hainerova I, Larsen LH, Holst B, Finkova M, Hainer V, Lebl J, Hansen T, Pedersen O. Melanocortin 4 receptor mutations in obese Czech children: studies of prevalence, phenotype development, weight reduction response, and functional analysis. *J Clin Endocr Metab* 2007; 92: 3689-3696.
32. Chambers JC, Elliott P, Zabaneh D, Zhang W, Li Y, Froguel P, Balding D, Scott J, Kooner JS. Common genetic variation near MC4R is associated with waist circumference and insulin resistance. *Nature Genet* 2008; 40: 716-718.
33. Willer C J, Speliotes EK, Loos RJF, Li S, Lindgren CM, Heid IM, Berndt SI, Elliott AL, Jackson AU, Lamina C, Lettre G, Lim, N, et al. Six new loci associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation. *Nature Genet* 2009; 41: 25-34.
34. Hardy, R., Wills, A. K., Wong, A., Elks, C. E., Wareham, N. J., Loos, R. J. F., Kuh, D., Ong, K. K. Life course variations in the associations between FTO and MC4R gene variants and body size. *Hum Molec Genet* 2010; 19: 545-552.
35. Mergen M, Mergen H, Ozata M, Oner R, Oner CA novel melanocortin 4 receptor (MC4R) gene mutation associated with morbid obesity. *J Clin Endocr Metab* 2001; 86: 3448-3451.
36. Donohoue PA, Tao Y-X, Collins M, Yeo GSH, O'Rahilly S, Segaloff DL. Deletion of codons 88-92 of the melanocortin-4 receptor gene: a novel deleterious mutation in an obese female. *J Clin Endocr Metab* 2003; 88; 5841-5845.
37. Hinney A, Bettecken T, Tarnow P, Brumm H, Reichwald K, Lichtner P, Scherag A, Nguyen TT, Schlumberger P, Rief W, Vollmert C, Illig T, Wichmann HE, Schafer H, Platzer M, Biebermann H, Meitinger T, Hebebrand J. Prevalence, spectrum, and functional characterization of melanocortin-4 receptor gene mutations in a representative population-based sample and obese adults from Germany. *J Clin Endocr Metab* 2006; 91: 1761-1769.
38. Larsen, L. H., Echwald, S. M., Sorensen, T. I. A., Andersen, T., Wulff, B. S., Pedersen, O. Prevalence of mutations and functional analyses of melanocortin 4 receptor variants identified among 750 men with juvenile-onset obesity. *J Clin. Endocr Metab* 2005; 90: 219-224.
39. Lubrano-Berthelier C, Dubern B, Lacorte J-M, Picard F, Shapiro A, Zhang S, Bertrais S, Hercberg S, Basdevant A, Clement K, Vaisse C. Melanocortin 4 receptor mutations in a large cohort of severely obese adults: prevalence, functional classification, genotype-phenotype relationship, and lack of association with binge eating. *J Clin Endocr Metab* 2006; 91: 1811-1818.