

**Título del Proyecto
de Investigación a que corresponde el Reporte Técnico:**

ASOCIACIÓN ENTRE OBESIDAD Y NIVELES SÉRICOS DE LEPTINA CON EL POLIMORFISMO K109R EN EL GEN DEL RECEPTOR DE LEPTINA DE UNA MUESTRA DE ESTUDIANTES DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA SALUD DEL INSTITUTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS DE CIUDAD JUÁREZ

Tipo de financiamiento

Sin financiamiento

Autores del reporte técnico:

Luis I. Angel-Chávez, David Reyes Ruvalcaba, Rafael Mauricio Marrufo y Eduardo Iván Acosta Gómez

Asociación entre obesidad y niveles séricos de leptina con el polimorfismo K109R en el gen del receptor de leptina de una muestra de estudiantes del Departamento de Ciencias de La Salud del Instituto de Ciencias Biomédicas de Ciudad Juárez

Resumen:

Introducción: La leptina es una hormona encargada de controlar el apetito y el gasto energético. La población con obesidad presenta niveles altos de leptina en sangre. Se cree que el problema metabólico de estos individuos se presenta en el receptor a leptina (LEPR). El presente estudio se llevó a cabo para determinar si en una muestra de jóvenes alumnos de ICB existe asociación entre el polimorfismo K109R del LEPR con obesidad y los niveles séricos de leptina. Dicho polimorfismo se presenta en el extremo extracelular del receptor y parece estar relacionado con la transducción de la señal al interior de la célula. **Métodos:** 105 participantes de entre 18 a 24 años, de población abierta del Instituto de Ciencias Biomédicas de la UACJ, se clasificaron en obesos y no obesos mediante mediciones antropométricas. La evaluación del polimorfismo K109R, del LEPR se determinó mediante PCR-RFLP's a partir de ADN genómico. Las frecuencias de los alelos se compararon mediante χ^2 . Se calculará el *odds ratio* (OR) para determinar si alguno de los alelos es factor de riesgo a obesidad. **Resultados:** Los valores de peso, índice de masa corporal, porcentaje de grasa, grosor de pliegues cutáneos y niveles de leptina principalmente; en el grupo de sobrepeso-obeso (n=36) fueron significativamente mayores que los valores de los no obesos (n=69; p<0.05). **Conclusión:** En la población de estudio se encontró una prevalencia de sobrepeso y obesidad del 34.28%.

Abstract

Introduction: Leptin is a hormone that controls appetite and metabolic cost. People with obesity display high levels of leptin in blood. It is thought that the metabolic problem of these individuals is in the leptin receptor (LEPR). This study was carried out to determine the association between The K109R polymorphism of LEPR locus with obesity in a sample of students from The Instituto de Ciencias Biomedicals of the Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. This polymorphism results in changes in the extracellular end of the LEPR product and seems to be related to the signal transduction into the cell. **Methods:** 105 participants between 18 to 24 years old, were recruited; they were classified as obese and non-obese by anthropometric measurements. Polymorphism K109R of LEPR were determined by PCR-RFLP's from genomic DNA. The allele frequencies were compared by χ^2 . Odd ratio (OR) was calculated to determine any studied allele as a risk factor for obesity. **Results:** The values of weight, corporal mass index, fat percent, thickness of cutaneous folds, and leptin levels were significantly greater in the group of

overweight-obese (n=36) than those of non-obese (n=69; $p<0.05$). **Conclusion:** In the study population, a prevalence of overweight and obesity of 34.28% was found.

Palabras clave:

Leptina, Receptor de leptina, Polimorfismo

1. INTRODUCCIÓN

Por su alta prevalencia, la obesidad juvenil constituye un problema de salud a nivel mundial. Actualmente se estima que en México más del 33% de la población de adultos tienen este padecimiento. Gran número de enfermedades, entre ellas la diabetes, enfermedades isquémicas del corazón y enfermedad cerebrovascular (principales causas de muerte en México) son debidas a la obesidad.

La obesidad, como cualquier otra enfermedad, es originada por una interacción del genotipo del individuo con su medio ambiente. En el futuro el tratamiento de enfermedades estará basado en la carga genética (perfil polimórfico) de los individuos o las poblaciones, ya que ésta es un reflejo directo de la actividad de los productos de los genes.

Estudios recientes han puesto en evidencia que ciertos polimorfismos en distintos genes juegan un importante papel en el desarrollo de la obesidad; entre ellos se encuentran aquellos relacionados con la ingesta de alimento y la homeostasis de energía. Dos de los genes que han demostrado mayor importancia a este respecto son la leptina (hormona producida por el tejido graso en respuesta a la pérdida de homeostasis de energía) y el receptor a leptina (importante en la señalización de neuropéptidos reguladores de la ingesta de alimento). Por tal razón el objetivo principal del presente trabajo, fue determinar si existe asociación entre el polimorfismo K109R del receptor a leptina y obesidad y niveles séricos de leptina en población joven del Instituto de Ciencias Biomédicas.

2. PLANTEAMIENTO

2.1 Antecedentes

Según un estudio publicado en el año 2016, el 33.6 % de la población de México tiene algún grado de obesidad¹. Estas cifras son alarmantes ya que la obesidad es un factor alto riesgo de padecer múltiples enfermedades, principalmente infartos al corazón, diabetes tipo 2 e infartos cerebrales. Estas enfermedades son las principales causas de muerte en México.

Múltiples genes están involucrados en la obesidad. Estos genes interactúan con factores del medio ambiente e influyen en el riesgo de obesidad y por consiguiente, como mencionamos anteriormente, el riesgo de padecer enfermedades relacionadas.

La variante polimórfica K109R del gen del receptor de leptina ha sido estudiada en distintas poblaciones por su posible asociación con resistencia a leptina, obesidad y sus complicaciones asociadas. Los hallazgos que se han documentado han sido replicados en distintas poblaciones y obteniendo resultados contradictorios en algunos de ellos. Hasta la fecha la literatura consultada respecto a una asociación entre esta variante polimórfica y la obesidad en población mexicana son escasos y no muy claros. Por lo que resulta de interés el desarrollo de estudios similares en nuestra población que permitan responder la siguiente pregunta ¿Existe asociación entre el estado ponderal y los niveles séricos de leptina con el polimorfismo K109R en el gen del receptor de leptina?

2.2 Marco teórico

La obesidad es un problema nutricional, el cual está incrementando su prevalencia. Esta se define como un padecimiento complejo y multifactorial que se desarrolla por la interacción entre el genotipo y el medio ambiente y es definida como un exceso de tejido graso en el cuerpo. La obesidad debe ser estudiada paso a paso: desde los genes, la expresión génica y las relaciones entre proteínas y hormonas, hasta los aspectos clínicos e incluso la interacción con el medio ambiente². Es una enfermedad crónica multifactorial producto de una interacción entre genotipo y medio ambiente. El conocimiento actual sobre su desarrollo es incompleto, pero compromete la integración entre los aspectos social, de conducta, cultural, fisiológico, metabólico y genético.

2.2.1 LEPTINA

La leptina es un péptido hormonal que es secretado por el tejido adiposo, aunque pueden encontrarse valores reducidos de este en epitelio gástrico y placenta. El gen que codifica a este péptido se encuentra localizado en el cromosoma 7 locus q32.1; La proteína resultante de este gen consta de 167 aminoácidos con un peso molecular de 18,640 Da; posee el efecto de reducir el peso corporal in vivo, de regular la homeostasis de energía y la ingesta de alimentos³.

Desde la década de los 90s se descubrió que la leptina, producida por los adipocitos, es crucial para el control del apetito. La leptina circula en el torrente sanguíneo a una concentración proporcional a la grasa corporal, tanto en humanos como en roedores. Por lo tanto, cambios en la grasa corporal producen cambios en la concentración sérica de leptina. Esto sugiere que la leptina circulante provee una señal humoral para mantener en equilibrio las reservas de energía⁴.

La secreción y retención de esta hormona por el tejido adiposo se ve influida por la acción de la insulina. Esto se demostró en estudios realizados tanto en cultivos de tejido adiposo como de adipocitos provenientes de ratón donde se observó una liberación de leptina al medio a medida que se incrementa el tiempo del cultivo en presencia de insulina, una retención del 70% al 80% de leptina en cultivos de tejido adiposo expuestos a insulina, y una variabilidad en la cantidad de leptina tanto en tejido adiposo como en células adiposas aisladas de diferentes animales⁵.

Un estudio ha documentado que los ratones que tienen una mutación en el gen de la leptina (ratones *Lep ob/ob*) presentan obesidad, hiperfagia, intolerancia al frío, resistencia a insulina (ya que frecuentemente presentan intolerancia a la glucosa), tienen una alterada regulación del eje hipotalámico-pituitario-adrenal y son infértiles⁶, lo cual demuestra la importancia que tiene la leptina en el control del peso corporal.

2.2.2 RECEPTOR A LEPTINA (LEPR)

La leptina actúa a través de la unión con receptores específicos presentes en las membranas celulares. El gen que codifica para el receptor de leptina (LEPR) se encuentra localizado en el cromosoma 1, locus p31.2 a ~1.5 Mb del telómero D1S198⁷ (marcador previamente asociado a la secreción de insulina) lo cual lo hace un buen candidato para gen de la obesidad⁸. Este gen es codificado por 20 exones, los cuales presentan una longitud de 70 kb. Los dos primeros exones no codifican para la proteína, y presentan la capacidad de formar varias estructuras secundarias alternativas.

La homología entre el gen LEPR de humano y de roedores comienza en el exón 3 el cual contiene el codón de iniciación; La secuencia que codifica para el dominio de unión a la leptina, el cual es codificado en los exones 3 y 4; El dominio transmembranal es codificado en el exón 18; el sitio de cambio para las formas alternativas de este receptor ocurre en la unión intron-exón del exón 19; el dominio intracelular es codificado en los exones 19 y 20. Este último es el más largo y presenta una envergadura de 900 nucleótidos (nt) y codifica los últimos 247 aminoácidos del gen LEPR⁹.

Este receptor se encuentra en muchos tejidos finos en múltiples isoformas; las cuales son el resultado de un "splicing" alternativo de su RNAm. Las diferentes isoformas de este receptor pueden ser clasificadas como: larga (OB-Rb), corta (OB-Ra, OB-Rc y OB-Rd) y una soluble (OB-Re)¹⁰. Con ello es posible establecer la posibilidad que la leptina ejerce múltiples efectos sobre los tejidos.

2.2.3 POLIMORFISMOS Y SU RELACIÓN CON OBESIDAD

La carga genética de un individuo, puede determinar su susceptibilidad a padecer alguna enfermedad. Se sabe que pequeños cambios en la secuencia de nucleótidos (mutaciones) de los genes pueden ocasionar cambios en las funciones de las proteínas codificadas por ellos. Estas diferencias en secuencias originan diferentes posibilidades de expresión de un gen (alelos). La coexistencia de múltiples alelos en un mismo locus es llamado polimorfismo, pero, para que un alelo pueda ser considerado como polimórfico este debe tener una frecuencia de más del 1% en la población general¹¹. Estos alelos polimórficos pueden estar asociados a una enfermedad, o bien ser un factor de riesgo importante para la misma.

En el gen del receptor a leptina, se han descrito varios polimorfismos en diferentes poblaciones, entre los que se encuentran el polimorfismo K109R (rs1137100). Debido a que el aminoácido Lisina (K) en el codon 109, cambia por Arginina (R). Este cambio puede originar cambios funcionales, los cuales hasta la fecha no están claros del todo¹². Un claro ejemplo de esto último es que diversos estudios han propuesto que la presencia de este polimorfismo está asociado con una unión incompleta de la leptina a su receptor (lo cual pudiera sugerir una resistencia a leptina)^{13,14}.

En mujeres con una tolerancia normal a la glucosa, no se encontró asociación entre el polimorfismo K109R y sus niveles de glucosa e insulina. También se encontró una tendencia a asociación entre los niveles de glucosa registrados dos horas después de una carga de glucosa, con los polimorfismos K109R en mujeres premenopáusicas y posmenopáusicas¹⁵.

Recientes estudios han puesto en evidencia que adultos jóvenes holandeses, portadores del alelo R presentaron altos niveles de leptina (lo cual sugiere resistencia a leptina) al ser comparados con los no portadores de este alelo, pero el papel de estas mutaciones en la ganancia de peso es limitada; También se ha encontrado una débil asociación entre estos polimorfismos y la ganancia de peso, en mujeres holandesas con el genotipo K/K presentan el riesgo de ganar peso^{16,17}. Mujeres caucásicas homocigotas para el alelo R mostraron niveles bajos de índice de masas corporal, diámetro abdominal sagital, presión sistólica y diastólica; altos niveles de colesterol HDL, colesterol total y bajos niveles de triglicéridos¹⁷.

En una población de una zona suburbana en Malasia un estudio previo reportó una asociación leve entre la presencia del polimorfismo K109R con los fenotipos relacionados con obesidad y la presencia del alelo K de este polimorfismo con niveles elevados de leptina en plasma¹⁸. Otro estudio efectuado en una población de Tunes encontró una asociación entre los portadores de los genotipos K/R y R/R con obesidad, incluso los portadores del alelo K/R presentaron bajos niveles de leptina¹⁹. Por otra parte Hastuni y colaboradores documentaron una asociación entre la

presencia de la variante polimórfica K109R, con niveles elevados de leptina y un fenotipo asociado a obesidad²⁰.

El estudio de los polimorfismos del receptor a leptina es de gran importancia médica ya que, estudios previos han documentado que la resistencia a la leptina cursa con hiperleptinemia²¹, lo cual sugiere una falla en la unión de la leptina con su receptor. Además de haberse encontrado que la hiperleptinemia tiene una alta correlación con la hiperinsulinemia la cual a su vez es una de las características de la obesidad²². Esto ha hecho pensar en la posibilidad de que la resistencia a la leptina se encuentre asociada a la resistencia a la insulina. Ambas son estados metabólicos que han sido encontrados en la obesidad.

3. METODOLOGÍA

3.1. Universo de estudio:

Sujetos de población abierta de entre 18 y 24 años, los cuales deben contar con residencia en el país desde por lo menos tres generaciones anteriores (ser mestizo mexicano) y firmar la carta de consentimiento informado. No se incluirán individuos que cursen con: infecciones al momento de la toma de la muestra, así como individuos que presente discrasias sanguíneas.

3.2 Muestras:

A cada uno de los individuos se le elaboro una historia médica en la cual se registrarón datos clínicos y mediciones antropométricas de interés así como la determinación del porcentaje de grasa corporal mediante bioimpedancia eléctrica. También se le tomo una muestra de sangre periférica en un tubo seco y otro adicionado con EDTA como anticoagulante, los cuales se utilizarón para la obtención de suero y para la extracción DNA genómico respectivamente.

3.3 Evaluación de las características antropométricas

Se realizo una somatometría en cada uno de los participantes vistiendo ropas ligeras y sin zapatos en la cual se determinarón los siguientes aspectos: peso, talla, IMC, % Grasa, espesor de pliegues cutáneos en las regiones: bicipital, tricipital subescapular y suprailíaco y circunferencias de Cintura escapular, cintura, cadera y brazo medio.

3.4 Cuantificación de los niveles séricos de leptina

Los niveles séricos de leptina se cuantificaron mediante un ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA), de la marca ALPCO siguiendo las indicaciones del fabricante.

3.5 Extracción de DNA genómico:

Está se realizo mediante la técnica de Miller²³, el botón de DNA obtenido se resuspendio en 300 µL de buffer TE y se calculó la concentración e integridad del DNA obtenido por espectrofotometría y electroforesis respectivamente.

3.6 Identificación del polimorfismo K109R del gen LEPR:

La Identificación del polimorfismo K109R del gen LEPR se realizara por la técnica de PCR-RFLP descrita previamente²⁴.

3.7 Análisis estadístico:

Se realizara empleando el paquete estadístico SPSS versión 25.0

- Estadística descriptiva (media, desviación estándar), para la descripción general de las características evaluadas dentro de cada grupo.
- Ji cuadrada, para la evaluación de la asociación estadística entre la presencia de los polimorfismos en cada uno de los grupos.
- Razón de momios, para la evaluación de cada uno de los polimorfismos como factor de riesgo asociado a la obesidad.
- T de Student, para la evaluación de las diferencias de medias entre ambos grupos, si la distribución es paramétrica, en caso contrario se empleará U de Mann- Withney.

4. RESULTADOS

De un total de 105 participantes, 69 presentaron normopeso, mientras que 36 presentaron algun grado de sobrepeso y/o obesidad. Se compararon ambos grupos y se encontró una diferencia estadísticamente significativa en: peso, talla, IMC, presión arterial, porcentaje de grasa, cintura, cadera, ICC, circunferencia de escapula, circunferencia de brazo, pliegue subescapular, pliegue suprailíaco y en niveles séricos de leptina, como se puede observar en la Tabla No. 1.

Tabla No. 1. Características clínicas de los participantes basados en su estado ponderal actual*

	Normopeso (n=69)	Sobrepeso/Obesos** (n=36)	P***
Edad (años)	21.04 ± 2.17	21.14 ± 1.94	0.820
Peso (kg)	59.64 ± 9.12	81.93 ± 10.77	0.000
Talla (m)	1.65 ± 0.08	1.69 ± 0.09	0.041
IMC	21.65 ± 2.19	28.48 ± 3.16	0.032
Presión sistólica (mmHg)	115.91 ± 9.56	122.46 ± 11.30	0.005
Presión diastólica (mmHg)	77.85 ± 7.11	82.46 ± 8.53	0.008
Grasa (%)	23.74 ± 7.47	31.28 ± 7.40	0.000
ICC	0.81 ± 0.13	0.85 ± 0.06	0.028
Circunferencias (cm)			
Cintura	75.71 ± 7.02	91.01 ± 8.12	0.000
Cadera	94.08 ± 9.16	106.22 ± 5.35	0.000
Escapula	86.49 ± 9.49	99.54 ± 9.60	0.000
Brazo	26.56 ± 3.68	31.97 ± 2.57	0.000
Pliegues cutáneos (mm)			
Bíceps	5.16 ± 3.66	6.14 ± 3.20	0.162
Tríceps	10.25 ± 7.00	12.53 ± 6.66	0.106
Subescapular	13.79 ± 3.98	21.69 ± 6.04	0.019
Suprailíaco	15.83 ± 6.49	25.22 ± 6.39	0.000
Leptina (ng/mL)	15.83 ± 13.62	24.77 ± 17.76	0.019

*Los resultados son expresados en media±desviación estándar a excepción

** Obeso según los valores de corte propuestos por la OMS.

*** t de Student con excepción de la edad, circunferencia de cintura y Percentila de Índice de masa corporal los cuales se analizaron con el test Mann-Whitney.

5. CONCLUSIONES

Con los datos obtenidos hasta el momento podemos concluir que en la población estudiada se encontró una prevalencia de sobrepeso y obesidad del 34.28%.

6. REFERENCIAS

1. Torres, Felipe, & Rojas, Agustín. (2018). Obesidad y salud pública en México: transformación del patrón hegemónico de oferta-demanda de alimentos. *Problemas del desarrollo*, 49(193), 145-169.
2. López-Alvarenga JC. (2004). Genética en la obesidad. *Revista de Endocrinología y Nutrición*. 12(4), S96-S101
3. Godínez-Gutiérrez SA. (2004). ¿Cuáles son las bases moleculares de la obesidad? *Revista de Endocrinología y Nutrición*,12(4), S102-S108.
4. Rosenbaum, M., Nicolson, M., Hirsch, J., Murphy, E., Chu, F., & Leibel, R. L. (1997). Effects of weight change on plasma leptin concentrations and energy expenditure. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 82(11), 3647–3654.
5. Barr, V. A., Malide, D., Zarnowski, M. J., Taylor, S. I., & Cushman, S. W. (1997). Insulin stimulates both leptin secretion and production by rat white adipose tissue. *Endocrinology*, 138(10), 4463–4472.
6. Leibel, R. L., Chung, W. K., & Chua, S. C., Jr (1997). The molecular genetics of rodent single gene obesities. *The Journal of biological chemistry*, 272(51), 31937–31940.
7. Winick, J. D., Stoffel, M., & Friedman, J. M. (1996). Identification of microsatellite markers linked to the human leptin receptor gene on chromosome 1. *Genomics*, 36(1), 221–222.
8. Thompson, D. B., Sutherland, J., Apel, W., & Ossowski, V. (1997). A physical map at 1p31 encompassing the acute insulin response locus and the leptin receptor. *Genomics*, 39(2), 227–230.
9. Ge, H., Huang, L., Pourbahrami, T., & Li, C. (2002). Generation of soluble leptin receptor by ectodomain shedding of membrane-spanning receptors in vitro and in vivo. *The Journal of biological chemistry*, 277(48), 45898–45903.
10. Lewin, B. (2000). *Genes VII*. Oxford: Oxford University Press.
11. Lakka, T. A., Rankinen, T., Weisnagel, S. J., Chagnon, Y. C., Lakka, H. M., Ukkola, O., Boulé, N., Rice, T., Leon, A. S., Skinner, J. S., Wilmore, J. H., Rao, D. C., Bergman, R., & Bouchard, C. (2004). Leptin and leptin receptor gene polymorphisms and changes in glucose homeostasis in response to regular exercise in nondiabetic individuals: the HERITAGE family study. *Diabetes*, 53(6), 1603–1608.
12. Fan, S. H., & Say, Y. H. (2014). Leptin and leptin receptor gene polymorphisms and their association with plasma leptin levels and obesity in a multi-ethnic Malaysian suburban population. *Journal of physiological anthropology*, 33(1), 15.
13. He, J., Xi, B., Rüter, R., Shi, T. Y., Zhu, M. L., Wang, M. Y., Li, Q. X., Zhou, X. Y., Qiu, L. X., & Wei, Q. Y. (2013). Association of LEP G2548A and LEPR Q223R polymorphisms with cancer susceptibility: evidence from a meta-analysis. *PloS one*, 8(10), e75135.

14. Wauters, M., Mertens, I., Rankinen, T., Chagnon, M., Bouchard, C., & Van Gaal, L. (2001). Leptin receptor gene polymorphisms are associated with insulin in obese women with impaired glucose tolerance. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 86(7), 3227–3232.
15. van Rossum, C. T., Hoebee, B., Seidell, J. C., Bouchard, C., van Baak, M. A., de Groot, C. P., Chagnon, M., de Graaf, C., & Saris, W. H. (2002). Genetic factors as predictors of weight gain in young adult Dutch men and women. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*, 26(4), 517–528.
16. van Rossum, C. T., Hoebee, B., van Baak, M. A., Mars, M., Saris, W. H., & Seidell, J. C. (2003). Genetic variation in the leptin receptor gene, leptin, and weight gain in young Dutch adults. *Obesity research*, 11(3), 377–386.
17. Fan, S. H., & Say, Y. H. (2014). Leptin and leptin receptor gene polymorphisms and their association with plasma leptin levels and obesity in a multi-ethnic Malaysian suburban population. *Journal of physiological anthropology*, 33(1), 15.
18. Nesrine, Z., Haithem, H., Imen, B., Fadoua, N., Asma, O., Fadhel, N. M., & Ali, B. (2018). Leptin and Leptin receptor polymorphisms, plasma Leptin levels and obesity in Tunisian volunteers. *International journal of experimental pathology*, 99(3), 121–130.
19. Hastuti P, Zukhrufia I, Padwaswari M.H., Nuraini A, Sadewa A.H. (2016). Polymorphism in leptin receptor gene was associated with obesity in Yogyakarta, Indonesia, Egypt. *J. Med. Hum. Genet.* 17(3), 271–276
20. Zhang, Y., & Scarpance, P. J. (2006). The role of leptin in leptin resistance and obesity. *Physiology & behavior*, 88(3), 249–256.
21. Tene Pérez, C. E., Revilla-Monsalve, M. C., Amato, D., Escobedo de la Peña, J., Galván, R., Millán-Guerrero, R. O., Trujillo Hernández, B., Zárate, A., & Islas-Andrade, S. (2004). Correlation between serum leptin levels and insulin sensitivity in diffuse toxic goiter. *Endocrine research*, 30(1), 19–27.
22. Miller, S. A., Dykes, D. D., & Polesky, H. F. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic acids research*, 16(3), 1215.
23. Gotoda, T., Manning, B. S., Goldstone, A. P., Imrie, H., Evans, A. L., Strosberg, A. D., McKeigue, P. M., Scott, J., & Aitman, T. J. (1997). Leptin receptor gene variation and obesity: lack of association in a white British male population. *Human molecular genetics*, 6(6), 869–876.