



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

## FACULTAD DE QUIMICA

RELACION DEL POLIMORFISMO DE LAS PROTEINAS  
DESACOPLANTES MITOCONDRIALES (UCP'S) EN PACIENTES  
MEXICANOS CON ENFERMEDAD ARTERIAL CORONARIA.

### TESIS

PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICA FARMACEUTICO BIOLOGICA

PRESENTA:

YUDIBETH SIXTO LÓPEZ

ASESOR DE TESIS

Dr. Ricardo Gamboa Ávila





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **JURADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:**                   **Profesor: Marisol López López**  
**VOCAL:**                         **Profesor: Martha Patricia Coello Coutiño**  
**SECRETARIO:**               **Profesor: Ricardo Gamboa Ávila**  
**1er. SUPLENTE:**             **Profesor: Luz María del Roció Valdés Gómez**  
**2° SUPLENTE:**               **Profesor: Nayelli Nájera García**

## **SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA “IGNACIO CHÁVEZ”**

## **ASESOR DEL TEMA:**

**DR. RICARDO GAMBOA ÁVILA**

## **SUSTENTANTE (S):**

**YUDIBETH SIXTO LÓPEZ**

## **Dedicatorias**

Debo empezar como siempre, agradeciendo a todos y cada uno de los que me rodean, por su valioso apoyo en los momentos buenos y malos, ya que de todas estas experiencias se obtienen grandes enseñanzas, además de bellos recuerdos que me acompañaran durante toda la vida.

Este trabajo va dedicado a:

Mis padres.

Ernestino y Reyna, por su apoyo incondicional, tanto moral como económico, siendo el primero el más importante ya que sé que me dieron lo mejor de ustedes para hacer de mi una persona respetable, con valores y principios y que a pesar de los tropiezos que puede haber tenido en la vida continuaron conmigo, brindándome enseñanzas y cariño. Gracias Padres por todo lo que me han dado, ni escribiendo un libro entero terminaría de mencionar todas las cosas que tengo que agradecerles.

Hermanos.

Herón, Dogia, Lidia y Gris. Gracias a ustedes por el apoyo que me brindaron ya que constituyen una parte esencial en mi formación personal y académica, pues a pesar de los dolores de cabeza y malos ratos que les hice pasar por ser la mas pequeña de la familia siempre me apoyaron incondicionalmente, les agradezco toda la preocupación mostrada, porque cada uno de ustedes me ha apoyado de manera diferente, pero no por ello menos valiosa, para poder lograr subir un escalón más en la escalera de la vida.

A mis cuñados.

Miguel y Antonio porque ambos con su apoyo me han ayudado mucho desde pequeña para poder culminar esta etapa. De igual manera le agradezco a mi cuñada Yovita por permitirle a Herón ayudarme tanto.

A mis sobrinos.

Came, Lali, Chidito, Peluchito, Ludito, Chinito, Malamita, Estri Yael, Gordito y Chepinita (todos ellos saben a quién me refiero), porque con sus ocurrencias me han alegrado la vida y me han hecho reír en innumerables ocasiones haciendo que me olvide de la tediosa rutina y del estrés. Los quiero mucho niños.

A mis amigos.

Bere, Ray, Leo, Cynthia, Liliana y otros muchos, que aunque no los mencione no significa que no este agradecida con ellos, porque todos me apoyaron, en mis desvelos, en mis arranques de locura, me dieron ánimo cuando lo necesité, pero sobre todo, por saber que cuento con su valiosa amistad que es lo más importante.

A todos ustedes les digo GRACIAS, por estar a mi lado y haber contribuido con este logro.

## **Agradecimientos**

A mi tutor el Dr. Ricardo Gamboa Ávila, por sus sabias enseñanzas y consejos durante la realización de la tesis de licenciatura llevada a cabo en su laboratorio.

A la Dra. Claudia Huesca Gómez y al Dr. Vicente Castrejón y por apoyarme en el ámbito escolar y personal, de igual manera, por enseñarme y motivarme.

A la Dra. María Elena Soto, por su valiosa contribución en el análisis estadístico de los datos generados en el presente estudio.

A la Maestra Imelda Velázquez por sus sabios consejos y enseñanzas y por enseñarme a realizar búsqueda de información en diferentes bases de datos.

A la Dra. Perla Castañeda, coordinadora de la carrera de QFB de esta Facultad, por todo el apoyo que recibí de su parte, así como a Guadalupe Castorena secretaria de la coordinación.

A la maestra del CCH sur, Griselda Guizar Mendoza por haberme motivado a estudiar esta carrera que ha sido una de las mejores elecciones en mi vida.

Al Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" por haberme abierto las puertas para poder desarrollar en sus instalaciones la estancia estudiantil y mi tesis.

A la UNAM y a la Facultad de Química por haberme dado una formación académica tan sólida, y por el orgullo de pertenecer a esta gran institución.

Prefiero equivocarme creyendo en un Dios que no existe,  
que equivocarme no creyendo en un Dios que existe,  
porque si después no hay nada evidentemente nunca lo  
sabré, cuando me hunda en la nada eterna; pero si hay  
algo, si hay alguien, tendré que dar cuenta de mi actitud  
de rechazo.

*Blaise Pascal.*

# Índice

I.	Resumen	1
II.	Abreviaturas	3
III.	Introducción	4
	1. Síndrome metabólico	4
	2. Dislipidemias.	6
	3. Enfermedad arterial coronaria.	9
	3.1 Proceso aterosclerótico.	10
	3.2 Factores de riesgo de EAC.	14
	3.2.1 Hipertensión arterial.	16
	3.2.2 Diabetes mellitus	17
	3.2.3 Tabaquismo	18
	4. Proteínas desacoplates mitocondriales (UCP).	19
	4.1 Termogénesis.	20
	4.2 Proteínas desacoplates	24
	4.2.1 Localización y función	26
	4.2.2 Proteína desacoplante 1 (UCP1)	27
	4.2.3 Proteína desacoplante 2 (UCP2)	30
	4.2.4 Proteína Desacoplante 3 (UCP3)	33
IV.	Planteamiento del problema	37
V.	Objetivo general y específico	39
VI.	Hipótesis	40
VII.	Diseño Experimental	41
	1. Descripción	41
	1.1 Población de estudio	41
	1.2 Tamaño de la muestra.	44
	2. Metodología.	45
	2.1 Determinación de perfil de lípidos.	45
	2.2 Extracción de DNA.	46
	2.3 Determinación del genotipo.	46
	2.4 Revisión de historial clínico.	51

3. Análisis estadístico.	51
VIII. Resultados y Discusión de Resultados	53
IX. Conclusiones	78
X. Referencias bibliográficas	80
XI. Apéndice	91
Apéndice A	91
Apéndice B	92
Apéndice C	93
Apéndice D	94
Apéndice E	95
Apéndice F	96
Apéndice G	97



## I. RESUMEN

La enfermedad arterial coronaria (EAC), es considerada una de las principales causas de mortalidad en nuestro país. Un factor de riesgo es el síndrome metabólico (SM), que se compone de factores que se asocian entre sí, como la obesidad, resistencia a la insulina, dislipidemias, hiperglucemia e hipertensión arterial, todos ellos son factores de riesgo cardiovascular. Las proteínas desacoplantes (UCPs) participan en el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa, la síntesis de ATP y disipan la energía normalmente usada para estos procesos en forma de calor en vez de almacenar la energía en forma de grasa. Debido a su participación en el gasto energético y metabolismo de lípidos, es importante estudiar las variantes genéticas como los polimorfismos que pueden afectar el metabolismo y propiciar el desarrollo de obesidad y de EAC, así como su posible relación con algunos factores de riesgo asociados al desarrollo de esta enfermedad.

Se estudiaron 129 sujetos en el Instituto Nacional de Cardiología (INC) "Ignacio Chávez", 32% pertenecientes al grupo de EAC-cirugía de revascularización coronaria y 68% del grupo control-cirugía remplazo valvular. En ambos grupos se estudiaron 3 variantes polimórficas de las UCPs (*UCP1* -3826, *UCP2* -866 y *UCP3* -55) por el método de PCR-RFLP.

La frecuencia del alelo G del SNP -3826 de la *UCP1* fue de 0.49, la del alelo G del SNP -866 de la *UCP2* fue de 0.53 y la del alelo C del SNP -55 de la *UCP3* fue de 0.67 en la población de estudio. No se encontraron diferencias significativas tanto en las frecuencias genotípicas como alélicas, entre el grupo EAC y de remplazo valvular (controles) en ninguno de los polimorfismos estudiados.

El genotipo AA del SNP -3826 de la *UCP1* presentó niveles bajos C-HDL ( $30.7 \pm 7.3$  mg/dL) en relación a las otros dos isoformas, GA y GG. Al analizar este parámetro entre los grupos de estudio, se mantuvo esta tendencia, la cual fue más marcada en los pacientes con EAC, esto es, en el genotipo AA ( $33.0 \pm 7.1$  mg/dL y  $29.7 \pm 7.4$  mg/dL), GA ( $32.5 \pm 10.4$  mg/dL y  $39.9 \pm 11.5$  mg/dL) y GG ( $36.9 \pm 8.6$  y  $39.1 \pm 8.6$  mg/dL), en EAC y controles, respectivamente.

En el caso del SNP de la *UCP2* -866, se encontraron diferencias significativas en los niveles de triglicéridos ( $p < 0.05$ ) (GG: 188.3 mg/dL vs GA: 150.3 mg/dL) en la

población total de estudio, que se mantuvo al comparar entre ambos grupos de estudio. (Control GG:  $181.1 \pm 101.1$  vs AA:  $161.4 \pm 81.6$  y GA:  $143.9 \pm 68.6$  y grupo EAC. GG:  $200.7 \pm 107.2$  vs AA:  $171.0 \pm 106.3$  y GA:  $162.7 \pm 74.8$  mg/dL). Además, se determinó una asociación del alelo G con el grupo EAC y diabetes mellitus ( $p=0.012$ ).

Para el SNP -55 C/T de la *UCP3*, en la población de estudio se encontró que el genotipo TT tuvo valores más elevados de triglicéridos ( $178.3 \pm 105.9$  mg/dL) vs CC ( $160.7 \pm 72.0$ ) y CT ( $160.4 \pm 87.1$  mg/dL). Al comparar entre grupos de estudio se determinó que este mismo genotipo presentó niveles bajos de C-HDL en el grupo EAC ( $33.3 \pm 11.7$ ) en comparación con los sujetos del grupo control ( $38.7 \pm 10.9$ ).

Al realizar un análisis de haplotipos, se encontró que el haplotipo (AGT) está relacionado con la EAC y su frecuencia en nuestra población de estudio es de 5.7% (OR=16.10 (IC 95%: 1.35 - 191.69), mientras que el haplotipo (AAT) desempeña un papel protector contra la EAC (OR= 0.03 (IC 95%: 0.00 - 0.61) con una frecuencia del 10.2%.

Este estudio es un primer paso que permitió elucidar la posible relación de los polimorfismos de las UCPs con la EAC y los factores de riesgo asociados a este padecimiento, por lo que sería necesario ampliar el número de muestra para poder encontrar resultados significativos que permitan elucidar completamente la relación que guardan estos polimorfismos en nuestra población.

## **II. ABREVIATURAS:**

**EAC:** Enfermedad arterial coronaria

**HDL:** Lipoproteína de alta densidad

**LDL:** Lipoproteína de baja densidad

**UCP 1:** Proteína desacoplante 1

**UCP 2:** Proteína desacoplante 2

**UCP 3:** Proteína desacoplante 3

**IAM:** Infarto agudo del miocardio.

**DM:** Diabetes mellitus

**HTA:** Hipertensión arterial

**ENSANUT:** Encuesta Nacional de Salud y Nutrición

**MRFIT:** *Multiple Risk Factor Intervention Trial*

**PROCAM:** *Prospective Cardiovascular Münster Study*

**NHANES:** *National Health and Nutrition Examination Survey*

**IMC:** Índice de Masa Corporal

### **III. INTRODUCCIÓN**

La enfermedad arterial coronaria (EAC) es considerada una de las principales causas de mortalidad en los países industrializados y la segunda causa de muerte en la población adulta en nuestro país, se ha demostrado que tiene su origen desde la infancia.

#### **1. Síndrome metabólico**

En 1988, se introdujo por primera vez el concepto de síndrome metabólico; Gerard Raven, su descubridor, lo nombró como síndrome X. Este síndrome incluía la presencia conjunta de intolerancia a la glucosa, dislipidemias e hipertensión arterial, llamando la atención la asociación con la enfermedad arterial coronaria y la resistencia a la insulina. Previamente, en 1920, Kylin había descrito la asociación entre la diabetes, la hipertensión arterial y la gota sin relacionarla con la enfermedad cardiovascular <sup>1</sup>.

El síndrome metabólico o cardio-metabólico se compone de factores de riesgo que se asocian entre sí con una frecuencia más elevada de la esperada por efecto del azar, además, todos ellos son factores de riesgo cardiovascular. Entre los factores que lo componen esta la obesidad o sobrepeso, resistencia a la insulina, dislipidemias, hiperglucemia e hipertensión arterial. Constituye un problema de salud pública y es precursor identificable y corregible de diabetes tipo 2 y de enfermedad cardiovascular, principales causas de mortalidad en México <sup>2</sup>.

Aunque datos clínicos y epidemiológicos han mostrado una relación entre el síndrome metabólico y la enfermedad arterial coronaria <sup>3</sup>, estudios realizados en diferentes grupos étnicos han mostrado diferencias entre la correlación en la resistencia a la insulina y alteraciones en la pared arterial <sup>4</sup>.

El síndrome metabólico constituye un grave problema de salud pública tanto a nivel nacional como mundial. Se ha señalado un incremento en la prevalencia de este síndrome a escala mundial que continuará aumentando en los próximos años<sup>6</sup>.

El síndrome metabólico ha sido llamado de diversas maneras y sus componentes de igual forma han variado según el organismo que los define. Ante las diversas definiciones y las controversias, la propuesta más reciente es la de la *International Diabetes Federation* (Berlin, 2005) que plantea los siguientes parámetros para su clasificación

- ✓ Obesidad central  
Perímetro de cintura
- ✓ Más de 2 de los siguientes factores:
  - Triglicéridos  $\geq$  150 mg/dL
  - Colesterol- HDL: Hombres menos de 40 mg/dL y en mujeres 50 mg/dL
  - Hipertensión arterial: sistólica  $\geq$  130 mmHg, diastólica  $\geq$  85 mmHg
  - Glucosa en ayunas:  $\geq$  100 mg/dL o diabetes
  - Cintura: Hombres  $>$ 95 cm, en mujeres  $>$ 88 cm

Esta propuesta no ha sido del todo aceptada y continua en discusión, no solo la clasificación sino las conveniencias de agrupar estas entidades en un síndrome, existen diversas entidades que han tratado de definir el síndrome metabólico y los parámetros que deben ser considerados para su diagnóstico, la propuesta presentada en Berlín en el 2005, es de las más actuales y fue definida de manera consensuada por el Grupo de Trabajo en epidemiología de la Federación Internacional de diabetes (FID), durante el congreso en Berlin.

Este síndrome se caracteriza por alteraciones metabólicas que se expresan en un mismo individuo de forma simultánea o secuencial, causados por la combinación de factores genéticos y ambientales asociados a un estilo de vida no saludable, en los que la resistencia a la insulina se considera el componente patogénico fundamental<sup>7</sup>

las que afectan al metabolismo de los carbohidratos (resistencia a la insulina, hiperinsulinemia e hiperglicemia y diabetes mellitus tipo 2), al metabolismo de los lípidos (disminución del C-HDL y elevación de los triglicéridos, las apolipoproteínas B, C-LDL y C-VLDL en suero) y del metabolismo de las proteínas (hiperuricemia, hiperhomocisteinemia) y que se encuentran íntimamente vinculadas a una elevada morbimortalidad cardiovascular relacionadas a la obesidad, la hipertensión arterial y la diabetes mellitus no insulino-dependiente <sup>6</sup>.

Como se ha mencionado el sobrepeso y la obesidad, son en la actualidad uno de los principales problemas de salud pública del país. La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006, (ENSAUT-2006) señala que en el ámbito nacional, la prevalencia de sobrepeso fue mayor en hombres (42.5%) en comparación a las mujeres (37.4%), a diferencia de la prevalencia de la obesidad, mayor en mujeres (34.5%) que en hombres (24.2%). Al sumar las prevalencias de sobrepeso y obesidad, el 72% de las mujeres mayores de 20 años de edad y el 67% en hombres padecen alguno de estos padecimientos. Este incremento en el peso y la obesidad en las mujeres en un rango de edad de 20-50 años, se manifestaron en el periodo entre 1988-2006. El aumento de obesidad en los últimos años ha sido alarmante, ya que no solo ocurre en hombres y mujeres adultos, sino también en adolescentes y niños. En las últimas décadas ha aumentado la importancia de las enfermedades crónicas no transmisibles como problema prioritario de salud pública, situación que ha dejado de ser exclusiva de los países considerados como desarrollados. La alimentación es un factor de riesgo, ya que el exceso de alimentación, en términos de energía, el desequilibrio en el aporte y el tipo, tanto de grasas como de hidratos de carbono, así como la baja ingesta de fibra y de algunos micronutrientes aunados a la carga genética, son decisivos en el aumento de este tipo de padecimientos.

## **2. Dislipidemias**

Los lípidos son grasas transportadas en el plasma en estructuras llamadas lipoproteínas que son moléculas complejas insolubles en agua que están compuestas de un centro de esteres de colesterol y triglicéridos; estos esteres y triglicéridos están

cubiertos por una monocapa de fosfolípidos colesterol libre y apolipoproteínas. Las lipoproteínas en el plasma se clasifican por la densidad, movilidad, contenido lipídico y proteínas en la superficie de éstas.

Las dislipidemias son el aumento del colesterol o de triglicéridos o ambos en el plasma sanguíneo. Estas enfermedades se clasifican en aisladas o mixtas, pudiendo tratarse de patologías de causa genética o ambiental.

Cuando existen concentraciones elevadas de LDL en la sangre, estas penetran en la pared arterial, donde sufren modificaciones, tales como la oxidación lo que desencadena una respuesta inflamatoria, caracterizada por un aumento de macrófagos en la zona de la lesión, estos macrófagos fagocitan a las LDL modificadas transformándose en células espumosas, que forman parte de las placas de ateroma (lesiones focales en la capa íntima de una arteria, características de la aterosclerosis) El colesterol contenido en las lesiones arteriales, es decir el acumulado la (son en la de la lesión esencial de la aterosclerosis proviene de las LDL que, en concentraciones elevadas, penetran en la íntima arterial, formando placas de ateroma. A este proceso lo antecede un daño local a la íntima arterial que se agrava con el tabaquismo, la hipertensión y la diabetes. Las HDL son un factor protector relacionado con la incidencia reducida de EAC<sup>7</sup>.

**Tabla 1.** En la siguiente tabla se muestran los valores de lípidos considerados como normales:

	Valores (mg/dL)
<b>Colesterol Total</b>	<150
<b>Triglicéridos</b>	<150
<b>C-HDL</b>	>45
<b>C-LDL</b>	<130

Se han hecho diversos estudios en el mundo para determinar la relación de los niveles de lípidos plasmáticos con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Uno de los más representativos es el estudio de intervención de múltiples factores de riesgo conocido como MRFIT (por sus siglas en inglés, Multiple Risk Factor Intervention Trial), que evaluó durante 10 años la mortalidad cardiovascular de 250 000 hombres en EUA. En este estudio, se observó un aumento de la mortalidad con cifras de colesterol total mayores a 200 mg/dL y la mortalidad se incrementa conforme aumentan los niveles de colesterol por arriba de 250 mg/dL. Sin embargo, el seguimiento del estudio Framingham (estudio realizado en Massacuseth, Estados Unidos) mostró que si bien es cierto, a mayores concentraciones de colesterol total, mayor es la mortalidad coronaria, no todos los pacientes con cifras de colesterol total mayores a 200 mg/dL sufren un infarto. Años más tarde, en Alemania en Münster, el estudio PROCAM (Prospective cardiovascular Münster Study) realizado en una población de 4263 hombres entre 40 y 65 años de edad mostró la relación directa de muerte cardiovascular y valores séricos de LDL y una relación inversa con los niveles de HDL y la relación entre ambos LDL/HDL. Esta última recibe el nombre de índice aterogénico y se relaciona directamente con el desarrollo de EAC.<sup>8</sup>



### **3. ENFERMEDAD ARTERIAL CORONARIA**

La enfermedad arterial coronaria (EAC), es un problema de salud pública y la principal causa de muerte en la población adulta, además de que es la causa más importante de muertes prematuras en países industrializados, la cual está vinculada a los diferentes factores del síndrome metabólico. Esta enfermedad ocurre cuando hay un estrechamiento o bloqueo de las arterias coronarias, normalmente causado por aterosclerosis <sup>9</sup>.

El resultado de la aterosclerosis es importante, ya que la mayor proporción de mortalidad obedece a esta causa. Debido a que las lesiones aterosclerosas más comunes son susceptibles a sufrir fisuras que induce la formación de un trombo que conlleva a la oclusión de un vaso y a las manifestaciones de EAC.

Entre las manifestaciones más comunes de la EAC, son cardiopatía isquémica (se produce cuando una parte del miocardio recibe una cantidad de sangre y oxígeno inferior a la que necesita por lo que se producen trastornos de tipo bioquímico y funcional), arritmia (es manifestada como una irregularidad en el ritmo cardíaco) , angina de pecho (síndrome clínico caracterizado por dolor o presión en la parte anterior del tórax, debido a la isquemia aguda, transitoria y reversible del miocardio ) e infarto agudo de miocardio (consiste en la necrosis aguda por isquemia de una parte del músculo cardíaco).

### 3.1 PROCESO ATEROSCLEROTICO.

La aterosclerosis es una forma nodular localizada de arteriosclerosis, está se refiere un endurecimiento con pérdida de la elasticidad de las arterias de mediano y gran tamaño, por lo general la causa de estrechamiento de las arterias puede progresar hasta la oclusión del vaso impidiendo el flujo de la sangre por la arteria así afectada. La aterosclerosis afecta principalmente la íntima arterial (capa única de células endoteliales de la pared arterial)<sup>10</sup>.

La aterosclerosis es la principal causa de EAC, el daño al endotelio y la inflamación son los primeros pasos en el desarrollo de la aterosclerosis.

La aterosclerosis consiste en lesiones que afectan al interior de la pared de las arterias grandes y medianas, como la arteria aorta y las arterias carótidas, cerebrales y coronarias, aunque las arterias coronarias epicárdicas son la principal localización de la enfermedad aterosclerótica. La arteria aorta es la más importante del cuerpo y tiene un largo recorrido desde el corazón hasta la parte inferior del abdomen. En ella parten las arterias carótidas y las cerebrales que transportan la sangre al cerebro y las arterias coronarias que son las que llevan el riego sanguíneo al músculo cardíaco.

La disfunción del endotelio arterial y una interacción anormal con los monocitos y plaquetas de la sangre conduce a la acumulación en la capa íntima arterial de grasa, células y desechos anormales.

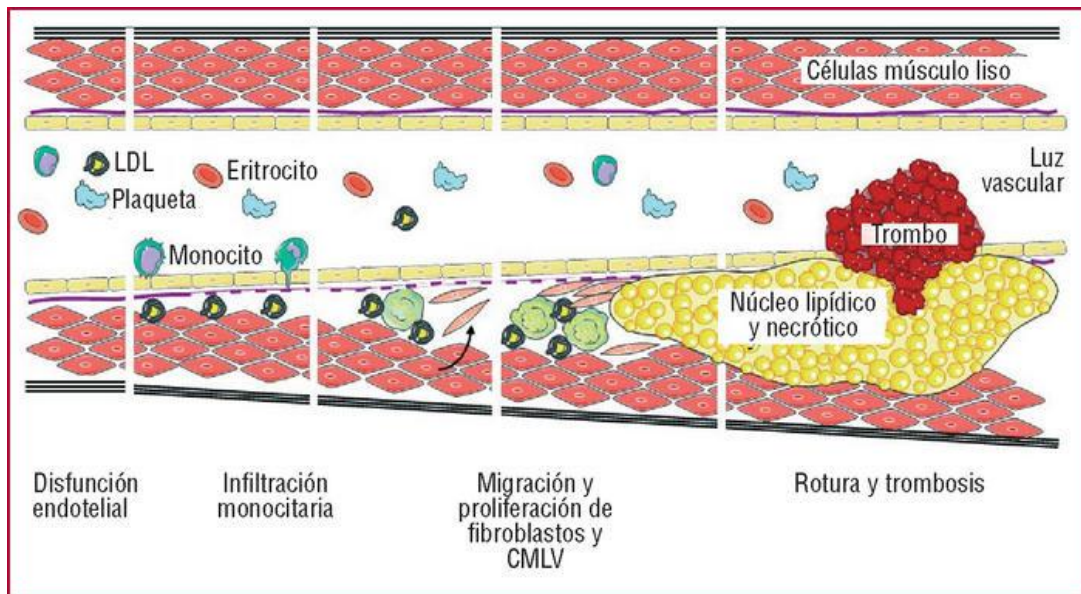
El acontecimiento precoz y clave en la aterosclerosis es el daño al endotelio, esto puede ser causado por un exceso de lipoproteínas, la hipertensión, la diabetes o tabaquismo. Inicialmente el daño solo es funcional, el endotelio se hace mas permeable a las lipoproteínas que se trasladan por debajo de la capa endotelial, la íntima arterial. Asimismo, el endotelio pierde su cualidad de repeler células, y permite que las células inflamatorias penetren en la pared vascular.

La entrada de lípidos en la pared vascular constituye un proceso clave de la aterosclerosis. Las lipoproteínas de menor tamaño, los remanentes y las LDL (lipoproteínas de baja densidad) son las responsables de la formación de la placa de ateroma y por lo que se dice que son las más aterogénicas. Esto es en parte porque

entran en la pared vascular más fácilmente y por otro lado es porque una vez que estas abandonan el plasma sufren modificaciones como oxidación y agregación, las LDL retenidas en la íntima arterial sufren procesos de oxidación (LDL ox) y generan productos con actividad quimiotáctica para monocitos y células musculares lisas, los monocitos atraviesan el endotelio y se diferencian a macrófagos, captan de forma masiva LDL ox y se transforman en células espumosas cuya acumulación en la íntima origina la formación de la estria grasa que es un componente de la lesión del ateroma. En el espacio extracelular los fosfolípidos y ácidos grasos de las LDL se oxidan. Las células espumosas que mueren liberan lípidos que se acumulan dentro de la íntima. Las acumulaciones de lípidos se transforman en los centros de placas ateroscleróticas. Las placas ateroscleróticas crecen lentamente pero el peligro real es su rotura súbita, que conduce a la formación de un trombo el cual obstruye la circulación arterial teniendo como consecuencia una isquemia<sup>7</sup>.

No todas las situaciones de rotura de placa producen bloqueos severos o una oclusión o cierre completo de la luz del vaso arterial. dramáticos y completos de la luz. Sin embargo, incluso las pequeñas hemorragias y los trombos formados dentro de la placa o en su superficie aceleran la expansión de la placa por lo que la placa aumenta su grosor más rápidamente lo que puede empeorar las manifestaciones de EAC, como isquemia, angina de pecho y arritmia debido a la disminución de la luz arterial. El estrechamiento escalonado de la arteria originado por un aumento progresivo en el grosor de la placa y una disminución en el diámetro de la luz arterial, es el principal mecanismo de expansión de la placa ateromatosa<sup>9</sup>. (fig. 1)

Eventualmente, el engrosamiento de la pared arterial, la ruptura de la placa y la oclusión de la pared arterial, conducen a las manifestaciones clínicas de la EAC, como angina de pecho, arritmia e isquémica.

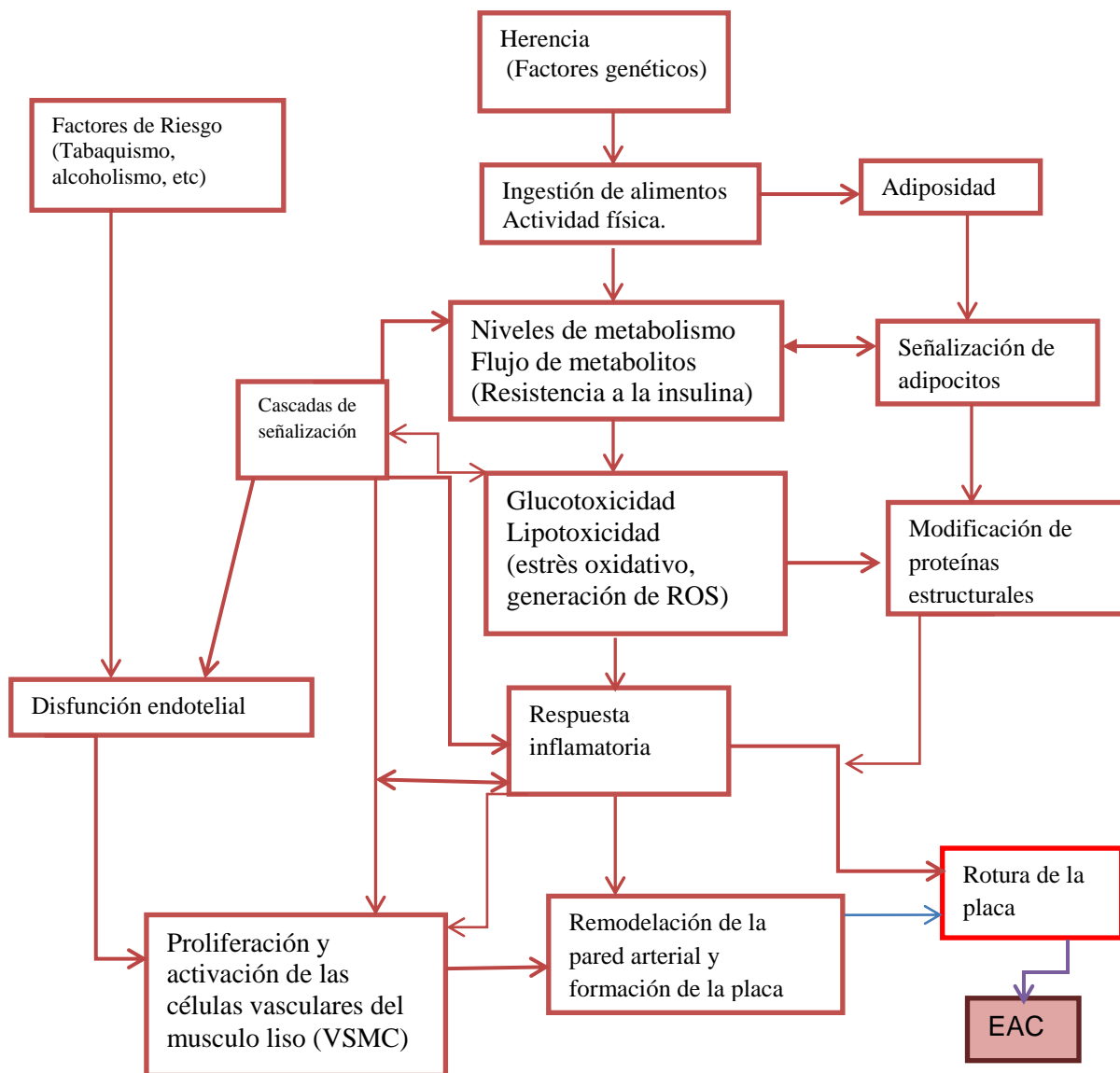


**Figura 1.** Progresión del proceso aterosclerótico La aterogénesis inicia como respuesta a una lesión del endotelio vascular lo que origina una disfunción endotelial; dicha lesión aumenta la permeabilidad de la pared arterial a los componentes de la sangre y propone tanto la formación de trombos como la infiltración lipídica que son elementos críticos en la progresión de los ateromas. La proliferación y acumulación de las células del músculo liso (CML) y macrófagos. Los monocitos migran hacia la lesión como respuesta a la acumulación de LDL's modificadas, se transforman a macrófagos que incorporan LDL modificadas transformándose en células espumosas. Esta captación de lípidos por macrófagos y CML forman parte de los elementos celulares que componen a la placa ateromatosa en el núcleo lipídico y necrótico. LDL: lipoproteínas de baja densidad; CMLV: células de músculo liso vascular..<sup>98</sup>

Aunque la EAC es típicamente considerada como una enfermedad de adultos, los eventos que conducen a la aterosclerosis comienzan décadas antes de que las manifestaciones clínicas sean evidentes. Por lo que la aterosclerosis es una enfermedad inflamatoria compleja que inicia en la infancia y que progresa con la edad.

El problema de la aterosclerosis es que no se produce por una sola causa si no por un conjunto de factores que actúan de manera simultánea lesionando las arterias. Alguna de estas causas se puede retirar totalmente porque son factores externos o ambientales que se pueden modificar o excluir. Aunque existen los factores genéticos que predisponen a las personas a desarrollar aterosclerosis precozmente, tales como las dislipidemias hereditarias, tener niveles elevados de lipoproteína (a) y de homocisteína.

Aunque en realidad entre las causas de la aterosclerosis predominan los factores ambientales que son prevenibles y modificables, tales como la dieta, ejercicio y obesidad. Siendo este último un problema metabólico caracterizado por un exceso de grasa corporal que se manifiesta con un exceso de peso; este trastorno está acompañado por una serie de problemas metabólicos tales como resistencia a la insulina, estrés oxidativo, aumento en los niveles de lípidos, entre otros problemas los cuales también están involucrados en la formación de placa aterosclerótica<sup>10</sup>. (Fig. 2)



**Figura 2.** Esquema general de los factores que participan en el desarrollo de aterosclerosis que desencadenan el desarrollo de EAC.

El aumento en la ingestión de alimentos y/o el descenso en la actividad física dan lugar a cambios en el flujo de los metabolitos y en la señalización de los adipocitos. Los cambios en el metabolismo generan moléculas derivadas de

la glucosa y los lípidos (glucotoxicidad y lipotoxicidad) y especies reactivas de oxígeno (ROS). Las ROS modifican aún más la estructura de las proteínas e interfieren con los sistemas de señalización celular. Aparece un grado debajo de respuesta inflamatoria: esto se ha observado en la obesidad y en la diabetes así como en la aterosclerosis<sup>99</sup>.

### **3.2 Factores de riesgo de EAC.**

El término riesgo implica la presencia de una característica o factor, o de varios de ellos, que aumentan la probabilidad de consecuencias adversas. En este sentido, el riesgo constituye una medida de la probabilidad estadística de que en el futuro se produzca un acontecimiento, por lo general no deseado. Un factor de riesgo sería un eslabón de una cadena de asociaciones que dan lugar a una enfermedad. Muchos factores de riesgo son observables o identificables antes de que se produzca el acontecimiento que predicen. El conocimiento y el control de estos factores son indispensables para la prevención.

Cuantificar la magnitud y el efecto de un determinado factor de riesgo en relación con una enfermedad es esencial, pero no solo interesa conocer la magnitud de la asociación de dos variables, factor de riesgo-enfermedad, sino también las características de dicha asociación. Primero es importante saber si esta asociación es de tipo causal (existente cuando al alterar la frecuencia o calidad de una se sigue de una alteración en la frecuencia o calidad de otra). Dicha asociación es positiva cuando el aumento del primer factor determina un aumento de la probabilidad de que ocurra el otro, sin embargo si al aumentar el primer factor el otro disminuye, se dice que la relación causal es de carácter negativo. En tanto que una asociación causal es directa cuando acontece inmediatamente al efecto, mientras que se habla de una asociación indirecta cuando una tercera variable ocupa una etapa intermedia entre la causa y el efecto<sup>11</sup>.

Para poder establecer a un factor como un factor de riesgo es necesario realizar una serie de estudios epidemiológicos para poder establecer una posible asociación.

Uno de los más conocidos estudios epidemiológicos es el que fue realizado en el pueblo de Framingham<sup>100</sup>, Massachusetts, en Estados Unidos de América, el cual

reveló la asociación de hipertensión arterial (HTA), tabaquismo e hipercolesterolemia con el desarrollo de enfermedades cardíacas en los residentes de esta población. Tanto los estudios epidemiológicos observacionales como los de intervención (ensayo clínico, ensayo de campo, ensayo comunitario) han confirmado la noción de que ciertos factores genéticos y el estilo de vida predisponen a los individuos a sufrir EAC.

La identificación de factores de riesgo proporciona una media para tomar una decisión en el tratamiento, a través de una determinación más exacta del estado de riesgo global y así disminuir el riesgo del desarrollo de EAC a través de la reducción de factores de riesgo modificables. (Fig. 2)

Los factores de riesgo para EAC se clasifican típicamente en base a su asociación positiva o negativa con la presencia de la enfermedad basada en la existencia de factores modificables o no modificables (Tabla 2)<sup>12</sup>.

**Tabla 2.** Factores de riesgo asociados al desarrollo de enfermedades cardiovasculares.

No modificables	Modificables
<b>Aumento de Edad</b>	<b>Fumar</b>
<b>Sexo masculino</b>	<b>Dislipidemia</b>
<b>Herencia (genes)</b>	<b>Hipertensión Arterial</b>
	<b>Sedentarismo</b>
	<b>Obesidad y sobrepeso</b>
	<b>Diabetes</b>

Fuente: American Heart association <http://www.americanheart.org>

En la actualidad aún no se ha llegado a comprender la causa de la enfermedad arterial coronaria, pero a través de una gran cantidad de estudios se ha demostrado que existen ciertos factores de riesgo asociados al desarrollo de ésta. En la tabla 3 se enlistan algunos factores de riesgo cardiovascular y la prevalencia de estos en nuestro país, que como se puede observar es elevada, por lo que es importante

tomar medidas preventivas para disminuirlas y por ende lograr así una disminución en el desarrollo de EAC, que cobra tantas vidas a nivel nacional<sup>12</sup>.

**Tabla 3.** Prevalencia de factores de riesgo cardiovascular en México

Factores de Riesgo	Prevalencia (%)
Hipertensión arterial	30
Hipercolesterolemia	27.1
Diabetes mellitus	10.7
Obesidad	24.4
Tabaquismo	36.6
Sedentarismo	55
Síndrome metabólico	13.6

A continuación se da una breve descripción de los principales factores de riesgo asociados al desarrollo de EAC:

### 3.2.1 Hipertensión arterial.

La Hipertensión arterial (HTA) puede definirse como la elevación persistente de la tensión arterial ya sea sistólica, diastólica o de ambas por encima de 140-90 mm Hg respectivamente (OMS).

La ENSA (Encuesta Nacional de Salud) 2000, reveló un incremento en la HTA a nivel nacional comparado con la encuesta de enfermedades crónicas de 1993, de un 24 a un 30 %. La HTA aumenta con la edad y en un inicio su prevalencia es mayor en el sexo masculino y después de los 55 años es mayor en el sexo femenino. Por otro lado la elevación en las cifras de la presión arterial tiene relación con el índice de masa corporal<sup>13</sup>.

Se cree que la HTA incrementa el riesgo de desarrollar EAC por daño directo del endotelio vascular y por los efectos adversos en el corazón. El incremento



de la presión representa un incremento en la postcarga, lo cual ocasiona un aumento de presión en la pared del miocardio así como estrés y también se ocasiona un incremento en la demanda de oxígeno del miocardio

### **3.2.2 Diabetes mellitus**

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica. Se divide en dos categorías, la tipo 1 y la 2. Ambas se caracterizan por un aumento de glucosa en la sangre. Lo que se debe a una disminución en la producción o no producción de insulina por el páncreas lo que resulta en una resistencia a la insulina. El efecto de la diabetes no controlada es la hiperglucemia que con el paso del tiempo causa severos daños en muchos órganos y sistemas.

La Diabetes tipo 1 se caracteriza por una producción deficiente de insulina y requiere de la administración de esta hormona. Sus síntomas consisten en poliuria (excreción de volumen urinario superior a 3 L), polidipsia (aumento en la sed y por lo tanto en la ingesta de agua), polifagia (aumento en la ingesta de alimentos), pérdida de peso, trastornos visuales y cansancio.. La etiología de la DM tipo I posee una predisposición genética (HLA del cromosoma 6, DR3 y DR4) más una serie de factores ambientales, tales como la dieta.

La diabetes tipo 2 se debe a la utilización ineficaz de la insulina. Este tipo representa el 90% de los casos mundiales y se debe en gran medida a un peso corporal excesivo y a la inactividad física. Los síntomas pueden ser semejantes a los de la diabetes mellitus tipo 1, pero a menudo menos intensos<sup>14</sup>.

La diabetes mellitus es un factor de riesgo cardiovascular, se estima que entre 7 y 8 de cada 10 personas con diabetes mueren por problemas cardiovasculares<sup>15</sup>.

Haffner y cols. reportan, en un estudio epidemiológico, que la supervivencia de pacientes que padecen diabetes mellitus tipo 2 y EAC menor a ocho años

comparada con personas que solo tiene diabetes, por lo que el tiempo de vida se reduce de manera considerable además de que la calidad de vida del paciente disminuye también de manera importante<sup>16</sup>.

### **3.2.3 Tabaquismo**

Desde hace varios años se sabe que el consumo de tabaco y la exposición al humo inducen una elevada morbi-mortalidad. De hecho ya ha sido demostrada la participación del tabaquismo como factor de riesgo cardiovascular.

El tabaquismo actúa de forma sinérgica con otros factores de riesgo, de forma que los fumadores con hipertensión e hipercolesterolemia pueden multiplicar su mortalidad cardiovascular 20 veces más que la de los no fumadores no hipertensos ni hipercolesterolémicos.<sup>17</sup>

El mecanismo de acción del tabaco sobre el sistema cardiovascular es complejo, alterando las condiciones hemodinámicas, y produciendo disfunción endotelial, alteraciones protrombóticas y aterogénica, empeoramiento del perfil lipídico y del metabolismo de carbohidratos, y circulación de numerosos factores proinflamatorios. De hecho se ha visto que el perfil lipídico de los fumadores es más aterogénico. Los fumadores presentan mayores niveles de triglicéridos, colesterol total y LDL, y menores niveles de HDL y apoproteína A-1 que los no fumadores, cambios que son mayores en relación con el mayor consumo de tabaco<sup>18</sup>.

La importancia del tabaquismo y su impacto en la salud son devastadores. En México fallecen 122 personas al día y más de 44 000 al año: 55 % de hombres y 45 % de mujeres<sup>19</sup>. Debido a la gran prevalencia de este padecimiento a la relación que guarda con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares es importante su estudio como factor de riesgo de EAC.

#### **4 .PROTEINAS DESACOPLANTES MITOCONDRIALES (UCP)**

El índice de masa corporal (IMC) está regulado por el balance entre la ingesta y el gasto energético, y este último depende del metabolismo basal, del ejercicio y de la termogénesis. Un gasto energético bajo se ha asociado con un incremento en el desarrollo de la obesidad. La termogénesis es un componente importante que participa en la regulación del peso corporal y el gasto energético. Las proteínas desacoplates (UCPs por sus siglas en inglés) juegan un papel importante en la termorregulación (producción de calor) y mantenimiento de la tasa metabólica basal. Estas proteínas participan en el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa y la síntesis de ATP y disipan la energía normalmente usada para estos procesos en forma de calor en vez de almacenar la energía en forma de grasa<sup>20</sup>.

Las UCPs son proteínas que están implicadas en la termorregulación y en el metabolismo energético, por lo que están involucradas en el desarrollo de la obesidad como un factor de riesgo para el desarrollo de EAC <sup>21</sup>.

Desde el descubrimiento de estas proteínas su estudio ha cobrado un gran interés por parte de la comunidad científica por su posible participación en el desarrollo de la obesidad y síndrome metabólico. Diversos estudios genéticos en humanos han mostrado controversia, en el efecto de las UCPs (1, 2 y 3) en padecimientos como la obesidad, diabetes mellitus, dislipidemia, EAC, síndrome metabólico entre otros <sup>5</sup>.

Los datos actuales sugieren que las UCPs juegan un papel fundamental en el síndrome metabólico, a través de varios mecanismos entre los que destacan el aumento del gasto energético, disminución de especies reactivas de oxígeno, disminución del peso corporal, todos ellos factores que participan ya sea de manera directa o indirecta en la formación de la placa aterosclerótica y por lo tanto su participación en el desarrollo de EAC.

## 4.1 Termogénesis.

La termogénesis es la producción de calor por los organismos. El proceso de termogénesis metabólica contribuye al gasto energético y puede ser clasificado en termogénesis obligatoria y termogénesis facultativa <sup>22</sup>. (Tabla 4)

El proceso de ingestión durante la alimentación, digestión, absorción y subsecuente almacenamiento también es un componente obligatorio de la termogénesis<sup>23</sup>. Los cambios en la termogénesis obligatoria son usualmente pequeños y son controlados primeramente por el sistema hipotalámico. La termogénesis obligatoria también incluye el gasto de energía por el crecimiento, embarazo, lactancia y por crecimiento tumoral.

**Tabla 4.** Clasificación de la termogénesis y principales sitios en el cuerpo en los que se lleva a cabo<sup>22</sup>.

Categoría	Sitio
<i>1. Termogénesis obligatoria</i>	
Esencial y endotérmica	Todos los órganos
Efecto térmico debido a alimentos (por crecimiento, embarazo, lactancia, tumores e hipertiroidismo)	Intestino, hígado, tejido adiposo blanco.
<i>2. Termogénesis Facultativa</i>	
Inducido por ejercicio	Músculo esquelético
Termorregulatorio	Tejido adiposo marrón
Inducido por el frío (se manifiesta con escalofríos)	Todo el cuerpo
Inducido por el frío sin escalofrío	
Inducido por la dieta	Tejido adiposo marrón

La termogénesis facultativa es acompañada por procesos metabólicos que pueden ser modificados relativamente rápido por el sistema nervioso. El ejercicio induce

termogénesis en el musculo esquelético que está bajo el control del sistema nervioso central. Usualmente no es posible realizar la cuantificación de los componentes individuales tanto de la termogénesis facultativa como de la obligatoria, primero porque los componentes de estas pueden presentarse de manera simultánea y segundo porque la facultativa solo ocurre cuando el sujeto está consciente de ello, por ejemplo realizar ejercicio.

La termogénesis es también un componente del balance energético. El nivel de almacenamiento de la energía en el cuerpo es resultado del balance entre el ingreso de energía y la termogénesis. La termogénesis facultativa en el tejido adiposo marrón, parece ser regulada más por el desequilibrio térmico que por el equilibrio energético, esto debido a que cuando hay modificaciones en la reserva energética no parece haber modificaciones de la temperatura corporal a pesar de que los niveles energéticos varíen en un amplio rango. El balance térmico es mantenido por mecanismos que son específicamente controlados por el sistema nervioso central e incluyen el control periférico vasomotor que induce vasodilatación o vasoconstricción, transpiración y piloerección y en algunas especies, salivación. El balance térmico también se mantiene por mecanismos corporales periféricos<sup>22</sup>.

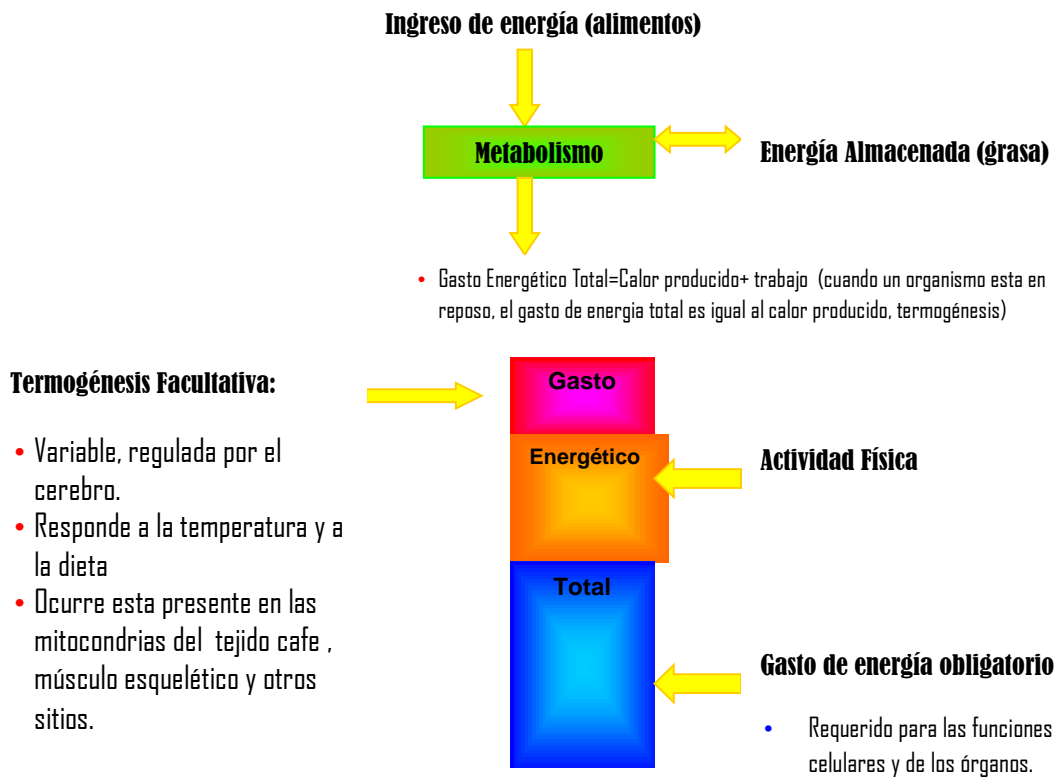
La disipación de un gradiente electroquímico de protones (generado por el transporte de electrones) trae consigo el desacoplamiento de la síntesis de ATP lo que origina la producción de calor. La generación de calor es la función fisiológica del tejido adiposo marrón. Este es diferente al tejido adiposo típico (blanco) dado que, a pesar de tener grandes cantidades de triglicéridos, contiene numerosas mitocondrias cuyos citocromos le dan una coloración parda. Los seres humanos al nacer tienen grasa marrón o parda en el cuello y en la parte superior de la espalda, que funciona en la termogénesis facultativa sin temblor (La hidrólisis del ATP que se produce durante la contracción del musculo al temblar o cualquier otro movimiento, también produce calor), pero esta grasa va disminuyendo con la edad.

El gasto de energía en humanos también es sensible a cambios de temperatura ambiental, pero el efecto en la tasa metabólica es pequeño. A bajas temperaturas de

28 a 22°C se ha reportado que causa un incremento del 7% en la producción de calor en humanos<sup>23</sup>.

La dieta también es un potente regulador de la termogénesis facultativa. En el ayuno la tasa metabólica puede disminuir en reposo o basal en un 40%. Los individuos con obesidad crónica tienden a presentar velocidades metabólicas más bajas que lo normal, lo que es probable se deba, en parte, a una velocidad reducida, de hecho, mientras que los individuos normales aumentan la velocidad de activación de la hormona tiroidea frente a la exposición al frío, los animales obesos por modificación genética y los seres humanos obesos no lo hacen<sup>23</sup>.

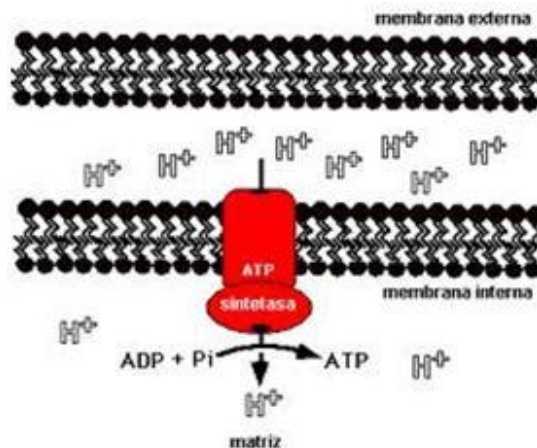
El cuerpo tiene varios mecanismos para evitar la obesidad, uno de ellos es el control del apetito. Otro es la termogénesis facultativa, el mecanismo de este tipo de termogénesis involucra la liberación de noradrenalina del cerebro en respuesta al frío, su unión a los receptores  $\beta$ -adrenérgicos del tejido adiposo marrón que induce un aumento en la concentración de AMPc el que a su vez inicia una cascada de fosforilación enzimática que activa el triacilglicerol lipasa. El aumento resultante de la concentración de los ácidos grasos no solo proporciona el combustible, sino que también induce la activación de las proteínas desacoplantes o UCP. La activación de estas proteínas trae como consecuencia la disipación del gradiente de protones a través de la membrana interna mitocondrial; de este modo desacopla el transporte de electrones de la producción de ATP. La energía, que de otra forma se hubiera empleado para conducir a la síntesis de ATP, es por tanto liberado como calor (Fig 4).



**Fig 4.** Perspectiva Termodinámica del Gasto energético. La entrada de energía en los organismos como alimento y la salida como calor y trabajo. La energía también puede ser movilizada del tejido adiposo. El gasto energético total requiere de un adecuado funcionamiento de celular y órganos; el gasto de energía ocurre como resultado de la actividad física, un gasto atribuido a la termogénesis facultativa, el cual es definido como la producción de calor en respuesta a la temperatura ambiental de a la dieta<sup>23</sup>.

## 4.2 PROTEINAS DESACOPLANTE (UCPs) LOCALIZACIÓN Y FUNCIÓN

La mitocondria es el orgánulo responsable de la síntesis de ATP. Este fenómeno está determinado por el flujo de protones obtenidos de substratos reducidos (NADH y en menor medida FADH) derivados del metabolismo de la glucosa y de los ácidos grasos. Los electrones son cedidos por los substratos reducidos creando un gradiente en la membrana interna de la mitocondria. De acuerdo con la teoría quimiosmótica definida por Mitchel<sup>24</sup>, la transferencia de electrones conduce a la transferencia de protones a través de la membrana interna mitocondrial, resultando en un gradiente electroquímico. Si este gradiente de protones es suficiente, se inicia el flujo de protones hacia la matriz mitocondrial a través del complejo F<sub>0</sub>-F<sub>1</sub> ATPasa, liberándose así la energía necesaria para fosforilar al difosfato de adenosina (ADP) y generar ATP que es la mayor fuente de energía celular, a este proceso se le conoce como fosforilación oxidativa. (Fig 4)



**Fig 4.** Fosforilación Oxidativa. Se esquematiza la síntesis de ATP a partir de la fosforilación de ADP<sup>101</sup>.

Para que la fosforilación oxidativa se lleve a cabo, se necesitan varios requerimientos, entre los cuales se encuentran, la impermeabilidad de la membrana interna mitocondrial a los protones que es una condición clave para asegurar el acoplamiento de la respiración a la síntesis de ATP. La libre permeabilidad de protones (Fuga de



protones) a través de la membrana interna mitocondrial disminuye la disponibilidad de protones para la ATP sintasa por lo que afecta el rendimiento de la síntesis de ATP por oxígeno consumido<sup>23</sup>. Teóricamente, los protones retornan a la matriz mitocondrial solo a través del complejo ATPasa, lo que daría como resultado un acoplamiento eficiente entre la degradación del sustrato y la formación de ATP. Sin embargo la eficiencia del proceso no es perfecta; la mitocondria utiliza oxígeno aún en ausencia de ADP. La parte final (etapa 4) de la cadena respiratoria se caracteriza por la generación de calor sin la producción de ATP. En esta fase el gradiente de protones se pierde, generando calor, a este fenómeno se le conoce como “desacoplamiento mitocondrial”, que se logra por una disminución del gradiente mitocondrial, que bien se puede alcanzar al permitir el flujo de protones del espacio intermembranal a la matriz (fenómeno conocido como fuga de protones en el que hay un aumento de la conductancia protónica) o a través de la exportación de aniones cargados negativamente de la matriz al espacio intermembranal. Esta característica confiere ventajas al sistema ya que permite mantener una cadena respiratoria sin saturación y disminuye la generación de radicales superóxido. En forma indirecta regula la concentración de NADH, factor determinante en la activación de la cetogénesis y la lipogénesis.

Las UCPs son proteínas de membrana de aproximadamente 32 KDa, que pertenece a la familia de acarreadores mitocondriales y se localizan en la membrana interna mitocondrial. Cada una estas proteínas catalizan la conductancia de protones, lo que causa una disminución del gradiente de protones originado durante la cadena respiratoria<sup>23</sup>. A través de este mecanismo las UCP participan en la termogénesis, mantenimiento del balance redox y disminución de la generación de especies reactivas de oxígeno; esto permite responder a las fluctuaciones en la demanda energética ya que como resultado del proceso de desacoplamiento se induce la movilización de triglicéridos almacenados, al mantenimiento de la homeostasis celular y un adecuado funcionamiento corporal<sup>5</sup>.

#### 4.2.1 Localización de las UCP's

La familia de las UCPs, tienen características estructurales y funcionales muy similares. Comparten una estructura con tres repeticiones con aproximadamente 100

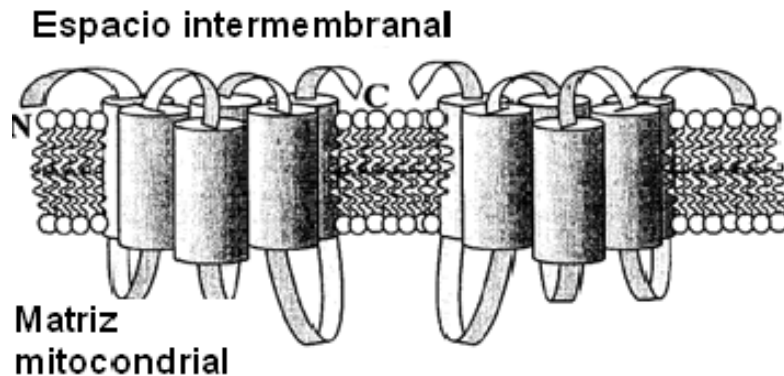


Figura 5. Estructura de las UCPs <sup>102</sup>

aminoácidos, cada uno está unida por dos regiones hidrofóbicas semejantes que corresponden a  $\alpha$ -hélices transmembrales. La cadena polipeptídica cruza la capa lipídica seis veces y la región amino y

carboxilo terminal sobresalen hacia el espacio intermembranal mitocondrial. Las hélices están conectadas por un bucle largo hidrofílico que se localiza en la matriz mitocondrial. La unidad funcional es un dímero formado por dos subunidades idénticas (Fig. 5).

Los mamíferos tiene 5 proteínas homólogas de UCP, de las cuales la UCP1-UCP3 están estrechamente relacionadas, mientras que la UCP4 y la UCP5 (BMCP1) son más divergentes<sup>25</sup>. La UCP4 tiene una homología 29%, 33 y 34 % de homología con la UCP1, UCP2 y UCP3 respectivamente. Se expresa exclusivamente en el cerebro y su concentración aumenta% con la exposición al frío. La UCP 5 o BMCP1 tiene una homología de 34, 38 y 39 de homología con la UCP1, UCP2 y UCP3 respectivamente, se expresa principalmente en el cerebro y en menor cantidad en el hígado. El frío incrementa su expresión<sup>26</sup>.

Después del descubrimiento de la UCP1, se encontraron otras dos proteínas mitocondriales más, que tenían la misma actividad desacoplante, la UCP2 y la UCP3. La UCP2 fue clonada en 1997, a partir de esto se dedujo que la secuencia de aminoácidos es 55% idéntica a la UCP1<sup>27</sup>, en tanto que la secuencia de UCP3 es

57% idéntica a la UCP1 y 73% idéntica a la UCP2<sup>28</sup>. La UCP4 y la UCP5 se expresan principalmente en el cerebro. El descubrimiento de esta familia de proteínas, su amplia distribución en diversos tejidos y su participación en la termorregulación las hace un tema de estudio interesante ya que se ha observado que participan en la regulación del peso corporal<sup>23</sup>. En la tabla 5 se muestran el nombre oficial de las UCP humanas y su *loci*<sup>103</sup>.

**Tabla 5.** Proteínas desacoplates humanas (Miembros de la familia de transportadores de solutos-slc-por sus siglas en inglés solute carriers)<sup>103</sup>

Nombre común	Nombre oficial	Localización del gen
UCP1	Slc25A7	428-q31
UCP2	Slc25A8	11q13
UCP3	Slc25A9	11q13
UCP4	Slc25A27	6p11.2
UCP5 (BMCP1)	Slc25A14	Xq24

#### 4.2.2 Proteína desacoplante 1 (UCP1)

La UCP1 se expresa principalmente en tejido adiposo marrón y promueve el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa y juega un papel importante en la termogénesis. La UCP1 aumenta la conductividad de los protones en la membrana interna mitocondrial lo que resulta en un desacoplamiento de la cadena respiratoria y la producción de calor. La acción de la UCP1 en este tejido constituye la base molecular para la termogénesis. A pesar de que la cantidad de tejido adiposo pardo disminuye en adultos humanos, este tejido es responsable del 1-2% del gasto energético previniendo así una ganancia de peso de entre 1-2 kg por año<sup>29</sup>, y aunque aparentemente la contribución de este tejido al gasto energético es pequeña, la

ausencia o disminución de este puede incrementar el riesgo de obesidad y estar relacionado con desórdenes metabólicos cuando la acumulación de energía en forma de grasa ha sido por décadas.

La importancia de la UCP1 en la termogénesis y en la regulación del peso corporal se demostró en animales transgénicos deficientes de esta proteína. Los Ratones deficientes de UCP1 no son obesos ni hiperfágicos<sup>36</sup> y son sensibles al frío, por otro lado cuando esta proteína se sobre expresa en tejido adiposo, los ratones no aumentan de peso cuando consumen una dieta rica en grasas. Cuando se sobre expresa en tejido musculoesquelético resulta en una resistencia al aumento de peso y niveles más bajos de glucosa, insulina y colesterol, además de una tasa metabólica mayor que en el estado basal o durante el ejercicio<sup>37</sup>.

Se sabe que la UCP1 se expresa en tejido adiposo marrón, sin embargo se ha reportado mRNA y proteína en tejido adiposo blanco en humanos y ratones<sup>30</sup>. La presencia de UCP1 también se ha reportado en grasa perirenal de pacientes adultos con feocromocitoma (tumor en la medula suprarrenal) y alrededor de las arterias del cuello y en el pericardio de humanos<sup>31</sup>. También se ha observado que los niveles de expresión de mRNA de UCP1 en tejido adiposo son significativamente más bajos en sujetos con obesidad que en sujetos delgados lo que hace suponer que está involucrado en la regulación del peso corporal tal como ya se mencionó<sup>32</sup>.

Su concentración aumenta con la exposición al frío, con la estimulación con catecolaminas (adrenalina, noradrenalina y dopamina), agonistas  $\beta$ -3 adrenérgicos, retinoides y/o hormonas tiroideas. Es activada por la presencia de ácidos grasos libres y es inhibida por diversos nucleótidos<sup>5</sup>. La UCP1 utiliza como cofactor a la ubiquinona (también conocida como coenzima Q) para el transporte de protones<sup>33</sup>.

Por otro lado, la secuencia de aminoácidos de la UCP1, sugiere que es acarreador de protones que modifica su estructura al entrar en contacto con diversos aniones (cloro, bromo, nitratos) y protones.

Los ácidos grasos juegan un papel fundamental en la actividad de la UCP-1. Hasta ahora aún no se sabe cómo es que los ácidos grasos activan a la UCP1, pero hay modelos que tratan de explicar este fenómeno.

En el modelo “flip-flop” se postula que la UCP1 une un ácido graso en el exterior de la membrana y lo transporta a través de ella hacia el interior de la mitocondria, donde se une a un protón que neutraliza la carga aniónica del ácido graso<sup>34</sup>. El complejo es transportado nuevamente al exterior de la mitocondria. Archega y col indican que desde el punto de vista estructural esto sugiere que ocurre una traslocación hidrofílica en el centro de la proteína, y que el acceso puede estar controlado por un mecanismo similar a compuertas, además de que proponen que los dominios transmembranales de las UCP1 están formados por alfa-hélices que constituyen canales hidrofílicos, mientras que los loops o bucles contribuyen a la formación de las compuertas<sup>35</sup>.

El segundo modelo refiere que los ácidos grasos protonados difunden a través de la membrana interna mitocondrial y que el pH derivado del gradiente promueve su disociación en aniones de ácidos grasos en la matriz mitocondrial, estos son posteriormente exportados de la matriz por la UCP1, en otras palabras en este modelo los ácidos grasos siguen un “circuito” en el que recogen los protones del espacio intermembranal, fluyen hasta la matriz donde se deshacen de los protones y la UCP es la que se encarga de hacer volver al ácido graso aniónico al espacio intermembranal. La actividad neta resultante es un aumento en la conductancia protónica a través de la membrana interna, aunque en este modelo la UCP1 no transloca protones<sup>5</sup>.

En el tercer modelo, los ácidos grasos no son requeridos directamente para la actividad de la UCP1, en vez de esto se propone que actúan como activadores alostéricos, es decir promueven un cambio conformacional en la proteína lo que lleva a la actividad protonofórica (o como translocador de iones hidroxilo), este último modelo se apoya en el hecho de que los ácidos grasos y los nucleótidos parecen afectar la conductancia protónica descrita como una cinética competitiva simple<sup>5</sup>.

Se ha estudiado de manera importante los polimorfismos de la UCP1. Diversos trabajos han sido conducidos en varias poblaciones para esclarecer la asociación de este polimorfismo con la obesidad, pero hay resultados controversiales. Aunque

algunos estudios sugieren asociación del polimorfismo -3826 A/G con la obesidad, otros no indican lo contrario y en algunos casos no han encontrado asociación<sup>73-75</sup>. Hasta ahora no se tiene conocimiento de que el polimorfismo de la UCP1 -3826 A/G modifique la expresión de esta proteína en humanos.

#### 4.2.3 Proteína desacoplante 2 (UCP2).

El gen de la UCP2 en humanos se encuentra en el cromosoma 11q1, cerca de una región asociada a obesidad y diabetes<sup>27</sup>. Una característica particular del gen es la presencia de varios codones de inicio (ATG) con un marco de lectura abierto para un péptido desconocido de 36 aminoácidos, por lo que podría existir splicing alternativo, aunque aún no está demostrado. La región promotora de la UCP2 no tiene caja TATA que es típica en muchas otras regiones promotoras, en vez de esto tiene una región rica en GC, con varios posibles sitios de unión para factores de transcripción como SP1, AP-1, AP-2, proteínas de elementos de unión de respuesta al AMPc (CREB) y regulador muscular MyoD<sup>38</sup>. Todo esto se ha inferido a través del uso de programas informáticos porque no se cuenta con evidencia experimental que lo sustente.

Los ligandos que estimulan la actividad catalítica de la UCP2 también pueden desempeñar un papel en la expresión de la proteína tales como ácidos grasos y especies reactivas de oxígeno. Los ácidos grasos estimulan la expresión de la UCP2 a través de los receptores PPAR gamma, el cual se sabe que induce la actividad del promotor de la UCP2 vía elementos de la caja E y en ausencia de unión en la región proximal del promotor. En el caso de las especies reactivas de oxígeno aún no se cuenta con evidencia directa de alguna interacción entre ROS con elementos de respuesta a ROS en la región reguladora del gen de la UCP2, solo se tiene la hipótesis de que así ocurre y que es por ello que esas ROS regulan la expresión de mRNA<sup>5</sup>.

En condiciones de hiperglicemia e hiperlipidemia, la transcripción del gen *UCP2* es activada por proteínas clave tales como receptor activado proliferador de peroxisoma (PPAR), y proteínas de unión a elementos reguladores de esteroides 1-c (SREBP1-C)

de igual manera especies reactivas de oxígeno (ROS) y sus productos han sido implicados en la regulación positiva de la expresión de la UCP2<sup>5</sup>.

La UCP2 se localiza en múltiples tejidos incluyendo el sistema inmune, tejido adiposo marrón, tejido adiposo blanco, músculo esquelético, corazón, riñones, páncreas, cerebro y en hepatocitos; pero sus niveles de expresión varían dependiendo del tejido y de la situación fisiológica. Desde su descubrimiento, se ha observado que la UCP2 participa en numerosos y variados procesos celulares<sup>27</sup>, que dependen del contexto fisiológico. Su dependencia a la presencia de ácidos grasos es significativamente menor que la observada con UCP1. Su concentración en la grasa aumenta con el frío y por acción de las hormonas tiroideas, como sucede con la UCP1.

La UCP2 juega un papel importante en la regulación de la termogénesis adaptativa en respuesta al frío y a la dieta.

La expresión de UCP2 en músculo esquelético aumenta durante el ayuno o con el consumo de dietas bajas en calorías, situación en que la tasa metabólica basal disminuye. Adicionalmente estudios en ratones han revelado que la conductancia protónica basal en ratones *Knockout* del gen de la *UCP2*, es la misma que en ratones control sin embargo estos ratones *Knockout* no presentan cambios en la termorregulación, termogénesis, gasto energético y peso corporal. Esta evidencia sugiere que UCP2 no contribuye significativamente a la termogénesis adaptativa.

También se ha reportado que en células de tejido adiposo blanco los niveles de expresión de UCP2 son elevados<sup>39</sup> y que estas células pueden asumir propiedades semejantes al tejido adiposo pardo bajo condiciones de estimulación adrenérgica. Los niveles de catecolaminas elevados aumentan las concentraciones de ácidos grasos libres en el plasma, debido a que aumentan la lipólisis, las cuales causan un aumento en la expresión de la UCP2<sup>5</sup>.

En trabajos previos se observó que en ratones deficientes de la proteína UCP2 no hubo desarrollo de obesidad ni resistencia al acumulo de grasa inducido por la dieta. Los animales tenían hiperinsulinemia y resistencia a la infección por toxoplasmosis, fenómeno explicado por un aumento de la producción de radicales libres superóxido<sup>32</sup>.

En la actualidad se cuentan con datos que sugieren que la UCP2 tiene funciones distintas a las de la UCP1. Recientemente se describió que la UCP2 regula la secreción de insulina esto se debe a que por su acción disminuye la cantidad de ATP y la secreción de insulina<sup>40</sup>. Por lo que en el mundo se han conducido diversos estudios en los que se estudia la relación de los polimorfismos de este gen con el desarrollo de diabetes y obesidad.

Otro mecanismo importante en el que se ha propuesto la participación de las UCPs en la regulación de estrés oxidativo esto se debe a que al desacoplar la fosforilación oxidativa de la cadena de transporte de electrones se interrumpe la formación de especies reactivas de oxígeno. El proceso de la conductancia protónica a través de las UCPs parece ser completamente dependiente de radicales superóxido, que sugiere un mecanismo de retroalimentación en situaciones fisiológicas donde el estrés oxidativo ocurre durante el ejercicio y ayuno<sup>41</sup>. Bajo condiciones de estrés oxidativo la expresión de UCP2 aumenta, en tales circunstancias la UCP2 desempeña un papel protector por una limitación de la producción mitocondrial de la producción de ROS y por lo tanto la prevención de apoptosis<sup>42</sup>.

Basado en el papel de las UCP2 en la limitación de la generación de especies reactivas de oxígeno y considerando que se expresa de manera relativamente alta en macrófagos hay estudios que han demostrado el efecto protector de la UCP2 en contra de la aterosclerosis<sup>43</sup>. Sin contar que además existe diversos estudios que asocian la participación de esta proteína con el desarrollo de obesidad que es un factor de riesgo para el desarrollo de EAC. Por ello es importante estudiar la participación de esta proteína y su relación con la EAC.

Por otro lado también se ha sugerido su posible participación en el desarrollo de Diabetes mellitus, esto debido a que se ha observado que en células del páncreas la *UCP2* actúa como regulador negativo de la insulina esto al atenuar la secreción de la misma. También se ha visto que la disminución en los niveles de *UCP2* aumenta la resistencia a la insulina en tejidos periféricos como el tejido adiposo blanco<sup>5, 44</sup>.

Estudios previos del papel del SNP (single nucleotide polymorphis, por sus siglas en ingles polimorfismo de un nucleótido sencillo) de la UCP2 en la región promotora en



la obesidad y diabetes han mostrado resultados controversiales en diferentes poblaciones.

Akami y col, reportaron que el SNP, en la región -866 esta asociada con los niveles de C-HDL en plasma esto en sujetos iraníes sanos, encontraron que el genotipo GG contribuye con altos niveles de HDL plasmáticos más que el genotipo AA<sup>45</sup>.

#### 4.2.4 Proteína desacoplante (UCP3)

En humanos los genes *UCP2* y *UCP3* forman un clúster en el cromosoma 11q13, una región sinténica (son genes se encuentran en el mismo cromosoma y muy próximos, tanto que comparten una región) que ha sido ligada a hiperinsulinemia en ratones<sup>46</sup>.

El gen *UCP3* consiste de 7 exones de aproximadamente 8.5 kb. En humanos este gen se expresa en dos variantes generadas por un splicing alternativo, un transcrito codifica para la proteína larga (UCP3L, 316 aminoácidos), mientras que el otro codifica para una proteína corta (UCP3S; 275 aminoácidos) deficiente del sexto dominio transmembranal. La variante UCP3S es generada cuando la señal de paro, localizada en el último intron termina el mensaje de elongación prematuramente<sup>47</sup>.

La expresión de UCP3 en el musculo esquelético es sometida a una regulación transcripcional estricta, pero el mecanismo que controla su expresión aún no ha sido totalmente elucidado. En la región proximal a 5' del gen de la UCP3 tiene una secuencia potencial para elementos reguladores como MyoD (proteína de diferenciación miogénica; regula la diferenciación del tejido muscular), MEF2 (factor potenciador de los miocitos, factor de transcripción que regula el desarrollo muscular), PPAR (peroxisome proliferator-activated receptor) y receptores para hormonas tiroideas que son factores de transcripción; estos factores de regulación ayudan a entender los patrones de expresión músculo específico de la UCP3. La región promotora también tiene un sitio para elementos de respuesta a ácido retinoico<sup>48</sup>. La presencia de elementos de respuesta a PPAR está de acuerdo con numerosas observaciones fisiológicas que muestran que altos niveles de ácidos grasos en el plasma, los cuales son ligandos de PPAR, inducen la expresión de UCP3<sup>49</sup>.

Actualmente ya se sabe que la transcripción del gen de *UCP3* es controlada por la activación de los receptores PPAR $\alpha$  y PPAR $\delta$ <sup>50</sup>.

La región promotora de *UCP3* también tiene una región para la unión de CREB (cAMP response element-binding, elementos de respuesta a cAMP), sugiriendo que la transcripción del gen puede ser activada por estímulos fisiológicos que involucren a cAMP como segundo mensajero, tal como un estímulo adrenérgico. De hecho una estimulación de receptores  $\beta$ -adrenérgico afecta en cierta medida la expresión de mRNA de *UCP3*, esto puede deberse a que al ser activado este receptor, hay un aumento en la lipólisis por lo que aumenta la cantidad de ácidos grasos libres en el plasma que son ligandos de los receptores PPAR los cuales aumentan la transcripción del gen de la *UCP3*.

La *UCP3* se expresa en tejido musculo esquelético, tejido adiposo pardo, células  $\beta$  del páncreas<sup>51</sup> y corazón; aunque los niveles de proteína parecen ser bajos en el corazón que oxida en gran cantidad ácidos grasos en comparación con el musculo esquelético<sup>52</sup>. Su respuesta fisiológica en el tejido adiposo es similar a la descrita para *UCP1*. Sin embargo, el frío no modifica su expresión en el tejido muscular.

El papel de la *UCP3* en la termogénesis parece ser compleja, el hecho de que en condiciones de ayuno su expresión aumente en células del musculo, tomando en cuenta que bajo estas condiciones el gasto energético es conservado resulta contradictorio, pero esto podría ser más a consecuencia del incremento de los niveles de ácidos grasos que una simple disminución en la ingesta de alimentos, a pesar de que este resultado es contradictorio, existe evidencia que la expresión de la *UCP3* aumenta en animales por exposición al frío y disminuye en ambientes cálidos<sup>53</sup>. Con esto se puede decir que la *UCP3* contribuye a la termogénesis adaptativa en humanos aunque no tan significativamente como la *UCP1*.

Sin embargo, como sucede con la ausencia de *UCP2*, la falta de *UCP3* causa aumento de la producción de radicales libres, es por ello que se ha sugerido que la *UCP3* desempeña un papel importante en la protección contra ROS. De acuerdo con esto se ha propuesto un modelo en el que se sugiere que la proteína puede ser

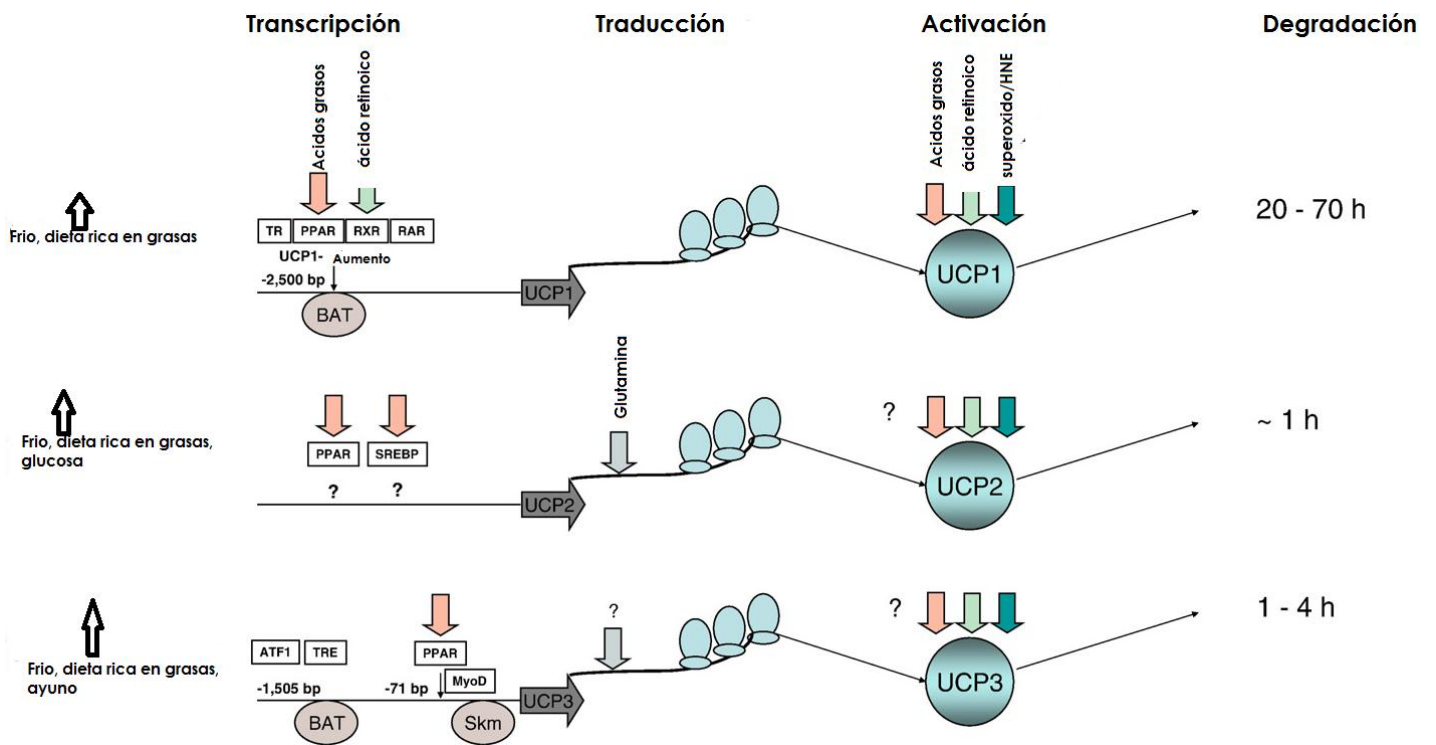
activada con superóxidos endógenos y exógenos así como productos de la peroxidación de lípidos, disipando así el potencial de membrana mitocondrial y teniendo como consecuencia una disminución en la producción de ROS. Esta teoría está basada en diversos trabajos que muestran que la UCP3 disminuye la oxidación de proteínas en el musculo esquelético y que aminora la producción de ROS durante ejercicio. También se ha observado que ratones transgénicos que sobrepresan UCP3, tienen una disminución en la producción de ROS. Otros trabajos han sugerido que la UCP3 está involucrada en el transporte de ácidos grasos en la mitocondria. La sobreexpresión de *UCP3* incrementa el transporte de ácidos grasos. En contraste, la sobre-expresión de la UCP3 en el tejido muscular tiene consecuencias clínicas. Los animales pierden peso a pesar de tener hiperfagia (aumento excesivo de la sensación de apetito), esos animales también presentan una mejoría en la sensibilidad a la insulina como sucedió en el animal que sobre-expresa UCP-1 en el músculo, es importante recalcar que, este fenómeno sólo se observó cuando se alcanzaron concentraciones muy altas de UCP3, además de que los ratones mostraron un aumento en el estado 4 de la respiración y un 12 % de disminución en el potencial de membrana, indicativo de desacoplamiento mitocondrial<sup>54</sup>.

La expresión de mRNA UCP3 es regulada positivamente en respuesta al estímulo de los factores de transcripción PPAR y MyoD, en el músculo. Por otro lado se ha sugerido la posible participación de la UCP3 en el metabolismo de la hormona tiroidea además de que ya se identificó un elemento de respuesta a esta hormona en la región promotora de la mRNA de la UCP3<sup>55</sup>, la estimulación de la transcripción de UCP3 por la hormona tiroidea sugiere que la UCP3 puede estar involucrada en el gasto energético y en el metabolismo de las grasas, debido a que la hormona tiroidea participa directamente en estas funciones fisiológicas.

En numerosos estudios se ha propuesto que el SNP en la posición -55 en la región promotora del gen de la UCP3 está relacionado con la obesidad y con la DM2, se ha observado que este polimorfismo está asociado con un aumento en la expresión de mRNA de *UCP3* en el musculo esquelético. En un estudio que relaciona el polimorfismo de la UCP3 en la posición -55 con la obesidad y diabetes, se observó que el alelo T está relacionado con el aumento de mRNA en el músculo<sup>56</sup> y en un

estudio diferente se relacionó a este alelo con altos niveles de gasto energético durante el reposo en comparación con el alelo C<sup>57</sup>. Por lo que se puede ser que la UCP3 intervenga en la regulación del IMC.

En la figura 6 se ilustra la regulación de las UCPs a niveles transcripcional, traduccional y la activación de las proteínas así como la degradación de estas por el proteasoma citosólico. En ella se resume la activación regulación y degradación de las UCPs <sup>5</sup>.



**Figura 6.** Expresión de los genes UCP y su actividad es regulada en múltiples pasos. Estímulos como frio y sobrealimentación activan las vías simpatomiméticas que actúan en la caja de UCP1 (2.5 Kb corriente arriba) de tal modo que hay un incremento en la expresión del gen UCP1 en tejido adiposo marrón. Estas vías también pueden incrementar la lipólisis resultando en un aumento de la cantidad de ácidos grasos que estimulan la actividad catalítica de la UCP1, la inhibición de las vías lisosomales que degradan a la UCP1 también puede contribuir a una óptima termogénesis mediada por la UCP1. UCP2 parece estar en varios tejidos. Su expresión genética es regulada por varios nutrientes y citosinas /inmunomoduladoras, los cuales actúan vía PPAR y SREBP a nivel transcripcional. La eficiencia de la traducción es regulada por el marco de lectura abierto que se encuentra corriente arriba o por un pseudo-codón de inicio en la región 5'UTR, y esta región parece ser activada por glutamina. La UCP3 que se encuentra principalmente en musculo esquelético por coordinación de PPAR y de los elementos MyoD. A 1.5 kb corriente arriba esta el elemento que controla su expresión tejido específica en el tejido adiposo marrón. Los elementos PPAR pueden transmitir información de cambios en el metabolismo de ácidos grasos y la expresión del gen de UCP3. El factor de transcripción ATF1 parece regular la transcripción de UCP3 inducida por hipoxia mientras que TRE's media la respuesta a la hormona tiroidea. La eficiencia de la traducción aún no ha sido estudiada, pero hay un pseudo codón de inicio en la región 5'UTR, que supuestamente captura ribosomas. UCP2 y UCP3 (pero no UCP1) parecen ser rápidamente retirados por el proteasoma. TRE= elemento de respuesta a hormona tiroidea, BAT= tejido adiposo pardo, SKM= tejido musculo esquelético.<sup>5</sup>

#### IV. Planteamiento del problema.

Los desórdenes metabólicos tales como la obesidad, diabetes mellitus y dislipidemias son las principales causas de desórdenes ateroscleróticos que es la causa primordial de EAC<sup>58</sup>, la cual se encuentra entre las primeras causas de muerte a nivel nacional. Los pacientes con EAC pueden desarrollar cardiopatía isquémica, arritmia y angina de pecho debido a la obstrucción de las arterias coronarias por formación de placa aterosclerótica, si la placa se desestabiliza y se rompe puede originarse un bloqueo arterial que desencadene un infarto al miocardio.

El tratamiento de este problema de salud puede abordarse de distintas maneras, lo más aconsejable es la prevención desde etapas tempranas, controlando factores de riesgo y estimulando hábitos de vida saludables. Una vez desarrollada la enfermedad, el tratamiento puede ser terapéutico o invasivo, considerando en esta última opción la cirugía de revascularización coronaria. El propósito de la cirugía de revascularización coronaria, es restablecer la circulación sanguínea al músculo cardíaco isquémico, como consecuencias de la obstrucción de la luz de los vasos. La cirugía cardíaca es considerada la última opción terapéutica debido a los riesgos que se corren al ser sometidos a ella, además de que implica elevados costos económicos.

En el Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez, tan solo en la última década se realizaron 1356 cirugías de revascularización coronaria y un total de 3104 pacientes fueron sometidos a cirugía de remplazo valvular, que representa casi el doble de la cantidad en comparación con las cirugías de revascularización, lo que indica la magnitud del problema y los elevados costos económicos que esto implica.

Como todos los desórdenes multifactoriales, la obesidad es determinada por factores genéticos y ambientales que se manifiestan por un desbalance entre el ingreso y gasto energético.

Es por ello que desde hace algunos años se inició la búsqueda de genes involucrados en su origen y desarrollo, debido a que las UCPs son proteínas que están involucradas en el gasto energético y al parecer también en el metabolismo de lípidos, es importante estudiar las variantes genéticas como los polimorfismos que pueden afectar el metabolismo y propiciar el desarrollo de obesidad y de EAC.

La UCP1, 2 y 3 son tres de las proteínas de la familia de las UCPs que están involucradas en el metabolismo energético.

En el presente trabajo se estudiaron los polimorfismos de tres genes la *UCP1*, *UCP2* y *UCP3* para determinar su relación con la EAC y con algunos factores de riesgo asociados al desarrollo de esta enfermedad tales como la obesidad, diabetes mellitus y niveles de lípidos. Los polimorfismos estudiados se encuentran en la región promotora (UCP1 -3826 A/G, UCP2 -866 G/A y UCP3 -55 C/T), por lo que el cambio de un solo nucleótido, se cree podría afectar los niveles de transcripción de la proteína y por ende se esperaría un cambio en la actividad de estas en el organismo que se traduciría en una ganancia o pérdida de peso corporal de igual manera se esperaría que el perfil lipídico se afectara, debido a que ambos factores están relacionados con el desarrollo de la placa aterosclerótica y de la EAC.

Es importante estudiar los polimorfismos de las UCPs en pacientes mexicanos con EAC para determinar su relación con el desarrollo de la EAC y sus principales factores de riesgo.

## V. **Objetivos General**

Determinar la relación entre la frecuencia genética de los polimorfismos de las UCPs (UCP1 -3826 A/G, UCP2 -866 A/G, UCP3 -55 C/T ) con la enfermedad arterial coronaria (EAC) en pacientes con cirugía de revascularización coronaria.

### **Objetivos Específicos.**

1. Determinar las frecuencias alélicas y genotípicas de las UCP (UCP1 A-3826G, UCP2 A-866G, UCP3 C-55T) en sujetos con cirugía de revascularización coronaria (casos) y sujetos con cirugía de reemplazo valvular (controles).
2. Determinar la asociación entre las UCP (UCP1 A-3826G, UCP2 A-866G, UCP3 C-55T) con las características clínicas en ambos grupos de estudio.
3. Analizar la relación entre los genotipos y las características clínicas, con la susceptibilidad a EAC.
4. Comparar las frecuencias alélicas y genotípicas de nuestra población con otras poblaciones del mundo previamente reportadas.

## **VI. Hipótesis.**

Si la obesidad y las dislipidemias son factores de riesgo para el desarrollo de EAC que conlleva a los pacientes a una cirugía de revascularización coronaria y las UCP están involucradas con estos factores de riesgo, entonces se espera que los pacientes con cirugía de revascularización coronaria presenten diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas de las UCPs (UCP1 -3826 A/G, UCP2 -866 A/G, UCP3 -55 C/T) en relación a los pacientes con cirugía de recambio valvular (grupo control).



## **VII. DISEÑO EXPERIMENTAL**

### **1. Descripción**

Se realizó un estudio transversal también conocido como estudio de prevalencia (estudio estadístico demográfico es de tipo observacional y descriptivo que permite estimar la magnitud y distribución de una enfermedad o condición en un momento dado), se estudiaron pacientes sometidos a cirugía cardíaca en el Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” de Marzo del 2010 a febrero del 2011, los cuales se clasificaron de acuerdo al tipo de cirugía al que fueron sometidos en 2 tipos:

- A. Pacientes de cirugía de revascularización de arterias coronarias.
- B. Pacientes de cirugía de reemplazo valvular.

A cada uno de ellos se les tomó una muestra de tejido adiposo de la región torácica, donde se evaluó la expresión génica de las UCPs. Así mismo, se tomó una muestra de sangre total periférica de los sujetos con al menos 12 horas de ayuno en tubos estériles con EDTA para la determinación del perfil de lípidos y el análisis de DNA. Todos los participantes del estudio firmaron una carta de consentimiento informado. El estudio fue aprobado por el comité de ética del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez y fue conducido de acuerdo con la declaración de Helsinki.

#### **1.1 Población de estudio:**

La población de estudio consistió de pacientes mexicanos que fueron sometidos a cirugía de revascularización coronaria y recambio valvular en el Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, de marzo del 2010 a febrero del 2011. El estudio fue aprobado por el comité de ética del INC. Los participantes firmaron la carta de consentimiento informado.

Todos son mexicanos de nacimiento y con dos generaciones de ancestros en el territorio nacional, con apellidos y características fenotípicas típicas de la población mexicana mestiza.

A continuación se enumeran los criterios de inclusión y exclusión por grupo de estudio:

- Criterios de inclusión por grupo de estudio:
  - *PACIENTES VALVULARES (Grupo control)*
    - ✓ Pacientes con enfermedad valvular con criterios de corrección quirúrgica, independientemente de la técnica quirúrgica empleada intervenidos en el Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” a partir de marzo del 2010 hasta febrero del 2011.
    - ✓ Pacientes con enfermedad valvular con etiología reumática, congénita, funcional, endocarditis y degenerativa.
    - ✓ Pacientes con enfermedad valvular programados para cirugía electiva o de urgencia. Con estudios de imagen y laboratorios completos que confirman el diagnóstico.
    - ✓ Pacientes con enfermedad valvular programados para cirugía correctiva con alguna otra patología agregada.
    - ✓ Pacientes sometidos a recambio valvular de manera electiva o de urgencia
    - ✓ Pacientes con enfermedad valvular programados para cirugía correctiva mayores de 45 años.

Los pacientes pertenecientes a este grupo no tienen relación con la EAC. Es importante mencionar que en general, las válvulas cardiacas pueden afectarse por dos tipos fundamentales de lesión: la estenosis (disminución del área valvular), la insuficiencia (imposibilidad de cerrar adecuadamente) o la combinación de las anteriores. La etiología es múltiple, en este medio predominan aun las secuelas de fiebre reumática, seguidas de la patología degenerativa, infecciosa, traumática, por alteraciones estructurales o isquémicas, en el caso de que está ultima hubiera sido la causa del padecimiento valvular el paciente se excluyó del grupo control y se incluyó en el grupo de EAC<sup>13</sup>.

- *PACIENTES CORONARIOS (Grupo de estudio)*
  - ✓ Pacientes con enfermedad coronaria con criterios de corrección quirúrgica independientemente de la técnica empleada y del tipo de hemoducto usado, independientemente de la edad de los pacientes, intervenidos en el Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” a partir de marzo del 2010 hasta febrero del 2011.
  - ✓ Pacientes con enfermedad coronaria, con enfermedad de tronco o su equivalente diabéticos y no diabéticos
  - ✓ Pacientes con fracaso de angioplastia primaria y con estenosis coronarias de alto riesgo.
  - ✓ Pacientes con estenosis post stent
  - ✓ Pacientes con trombosis post revascularización
  - ✓ Pacientes sometidos a cambio valvular por disfunción de origen isquémico con o sin revascularización coronaria.
  - ✓ Pacientes programados para cirugía electiva o de urgencia con laboratorios y estudios de imagen completos
  
- Criterios de exclusión.
  - ✓ Pacientes con patología neurológica que contraindique el procedimiento quirúrgico
  - ✓ Pacientes con alteración en las pruebas de función tiroidea
  - ✓ Pacientes que se negaron a participar en el presente estudio

## 1.2 Tamaño de la muestra:

La población total de estudio fue de 131 pacientes de los cuales 91 son del grupo de valvulares (grupo control) y 40 son coronarios. Todos los participantes firmaron la carta de consentimiento informado.

### CALCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA

Para el cálculo del tamaño de muestra de los pacientes se usó la fórmula de cálculo de proporciones en muestras independientes, con un poder estadístico del 95% ( $p < 0.05$ )

#### Prueba de 2 colas.

$p_1=0.26$	$p=0.26+0.57/2= 0.415$
$p_2=0.7134$	$q=0.585$
$p_2= 0.3184$	$p_1=0.26$
$q_2=0.6816$	$p_2=0.57$
$Z_{1-\alpha/2}= 1.96$	$(p_1-p_2)^2 \text{ Delta} : 0.09$
$Z_{1-\beta}=0.84$	

$M_s = M [ 1 + (m - 1)p ] = \text{Numero de observaciones por grupo}$

$$M = M_2 = (Z_{1-\alpha/2} \frac{\sqrt{2pq}}{(p_1 - p_2)} - Z_{1-\beta} \frac{\sqrt{p_1q_1 + p_2q_2}}{p_2})^2$$

$$M=[1+(5-1)p]$$

$$M=[1+ (5-1)0.28]$$

$p = \text{Correlación intraclase: } 0.28 \text{ (Casos} = 0.26 \text{ y controles.} 0.57)$

$$\frac{1 + (1.365 + 0.5820)^2}{(0.31)^2} = \frac{53}{5} = 11 \text{ por grupo de gen}$$

*(agrupado para casos y controles serían 33 en casos y 33 en controles).*

El nivel de confianza (1- $\alpha$ ). El nivel de confianza prefijado da lugar a un coeficiente ( $Z_{\alpha}$ ). Para una confianza del 95% = 1.96.

## **2. Metodología.**

A cada paciente se le tomó una muestra de sangre periférica después de al menos 12 horas de ayuno. Se tomaron aproximadamente 8 mL de sangre que fueron colectados en 2 tubos con EDTA.

### ***2.1 Determinación de perfil de lípidos***

Se usaron 4 mL de sangre periférica, tomadas en tubo que contenían EDTA como anticoagulante, los pacientes tenían al menos 12 horas de ayuno. Las muestras fueron centrifugadas a 2500 rpm durante 15 minutos para separar el plasma. A partir del cual se realizó el perfil de lípidos. El colesterol total y triglicéridos, fueron determinados por métodos colorimétricos enzimáticos (Boehringer Mannheim, Alemania) adaptados a un analizador Hitachi 705. El colesterol HDL (C-HDL) fue medido después de la precipitación de las lipoproteínas que contienen apoB mediante la utilización de fosfotungstato/ $Mg^{2+}$ . Las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) fueron calculadas en las muestras con triglicéridos menores a 400 mg/dL usando la fórmula de Friedewald (1972). Todos los ensayos se realizaron bajo un esquema de control de calidad externo (Lipid Standardization Program, Center for Disease Control in Atlanta, GA).

## **2.2 Extracción DNA**

Para la extracción de DNA se usaron 4 mL de sangre periférica recolectadas en tubos con EDTA. Se centrifugó a 2500 rpm durante 15 minutos y se separó el plasma del paquete celular.

La extracción de DNA se realizó con la técnica de expulsión de Miller con ligeras modificaciones en la misma. (Miller, 1988). El DNA se cuantificó mediante espectrofotometría a una longitud de onda de 260 nm. Posteriormente el DNA se ajustó a una concentración de 200 ng/ $\mu$ L. Ver apéndice B.

## **2.3 Determinación del genotipo**

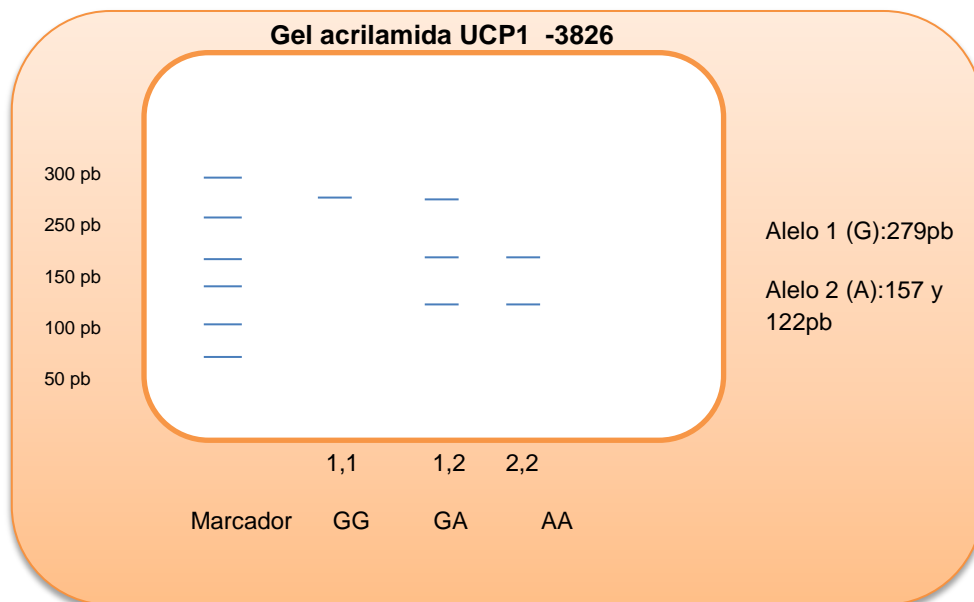
Para la determinación del genotipo se usó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés Polymerase Chain Reaction) para amplificar la región de interés de cada gen. En la tabla 5 se muestran las condiciones empleadas para la amplificación de los sitios polimórficos de cada gen. La mezcla de reacción incluyó: 1  $\mu$ g de DNA, 1 pmol/ $\mu$ L de cada iniciador, 20 $\mu$ M de cada deoxinucleótido trifosfatado (dNTP), 2 mM de MgCl<sub>2</sub>, 10% de dimetilsulfóxido, 1X de buffer de reacción y una unidad de *Taq polimerasa* (Applied Biosystems) en un volumen total de 25  $\mu$ L. La amplificación se llevó a cabo en un termociclador (Perkin Elmer 9700). Las condiciones de la reacción fueron 10 min a 95 °C y 40 ciclos a 95°C por 15 segundos y 1 minuto a 60 °C. Los niveles de fluorescencia de los productos de la PCR serán cuantificados usando un programa específico

Se determinó la región amplificada en la PCR mediante la electroforesis en gel de acrilamida a 80 V durante 2.5 horas. El tamaño de las bandas obtenidas para los polimorfismos UCP1 -3826 A/G, UCP2 -866 A/G y UCP3 -55 C/T fueron 279 bp, 363 bp y 105; respectivamente. Apéndice C.

Para determinar el genotipo fue necesario poner los productos amplificados obtenidos a digerir con enzimas de restricción específicas, ya que estas cortan en determinados sitios lo cual no ocurre si es que se presenta el cambio en una de las bases. En la tabla 6 se muestran las condiciones de la digestión y la enzima empleada en cada caso.

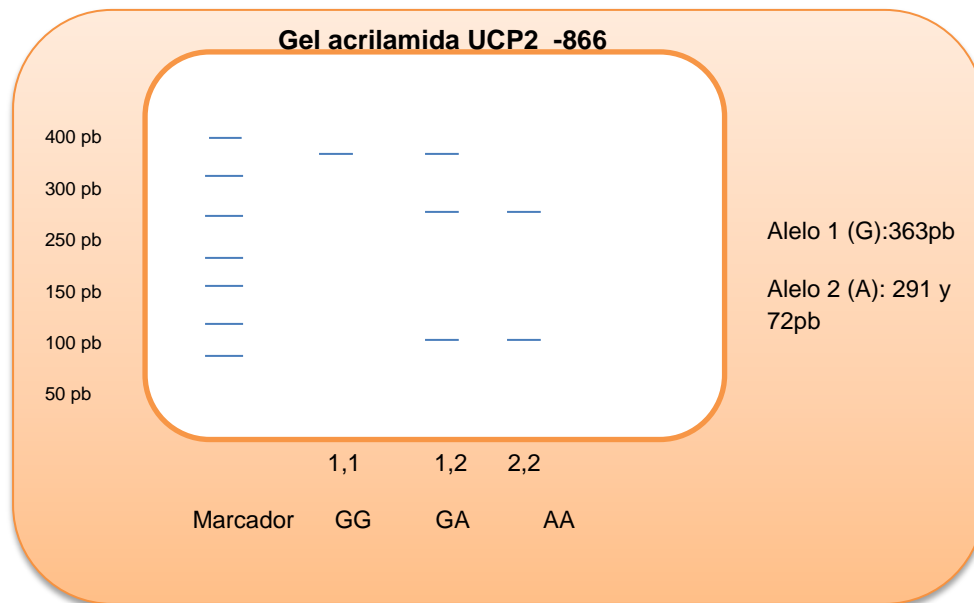
Después fue necesario realizar una electroforesis en gel de acrilamida para poder determinar los sitios de corte de cada una de las enzimas y de acuerdo al tamaño de las bandas obtenidas, determinar el genotipo de cada individuo para cada uno de los polimorfismos. Para revelar las bandas obtenidas en el gel de acrilamida fue necesario realizar la tinción con nitrato de plata (Ver apéndice F y G).

- Interpretación de los SNP's estudiados en el Gel acrilamida:
- ✓ Para el caso del SNP de la UCP1 -3826 A/G, se observaron las bandas correspondientes a los alelos presentes en el DNA, GG= 279 pb (una banda), AG=279, 157 y 122 pb (tres bandas), AA=157 y 122 (dos bandas) a continuación se muestra una figura que ilustra el patrón de bandas obtenido para este polimorfismo:



**Fig 7.** Representación grafica del gel de acrilamida y las bandas obtenidas despues de la digestión del amplificado de la UCP1 con la enzima Bcl1.

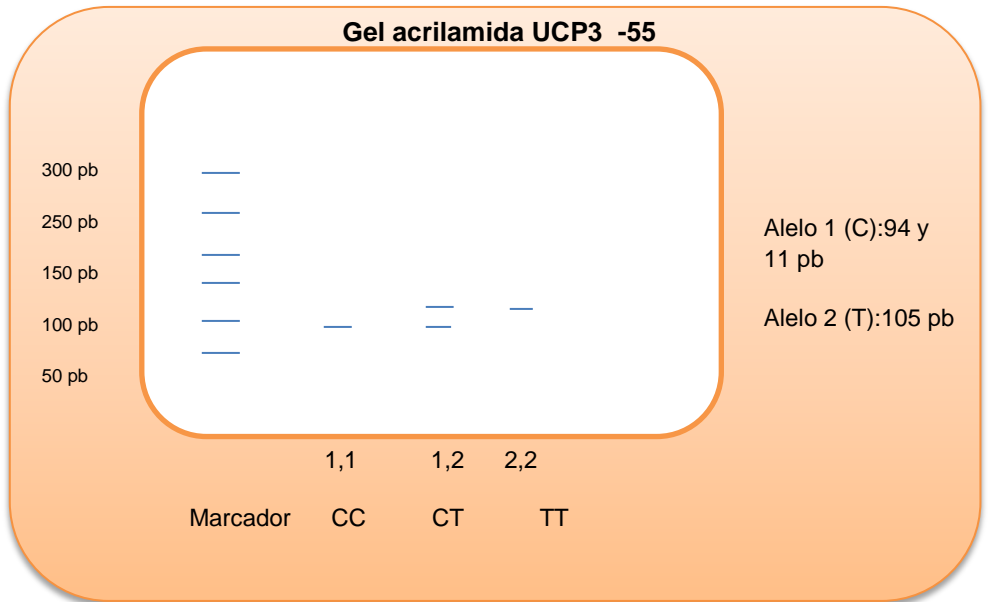
- ✓ Para el caso del SNP de la UCP2 -866 A/G, se observaron las bandas correspondientes a los alelos presentes en el DNA, GG= 363 pb (una banda) AG=363, 291 y 72 pb (tres bandas), AA=291 y 72 pb (dos bandas), a continuación se muestra una figura que ilustra el patrón de bandas obtenido para este polimorfismo:



**Fig 8.** Representación grafica del gel de acrilamida y las bandas obtenidas despues de la digestión del amplificado de la UCP2 con la enzima MiuI.

- ✓ Para el caso del SNP de la UCP3 -55 C/T, se observaron las bandas correspondientes a los alelos presentes en el DNA, TT= 105 pb (una banda), CT=105, 94 y 11pb (tres bandas), CC=94 y 11 (dos bandas) a continuación se muestra una figura que ilustra el patrón de bandas obtenido para este polimorfismo:





**Fig 9.** Representación grafica del gel de acrilamida y las bandas obtenidas despues de la digestión del amplificado de la UCP3 con la enzima BSeDI.

:

**Tabla 6 . Regiones amplificadas de la UCP:**

Gen	Loci	Posición	Iniciadores	Condiciones PCR						Condiciones de Digestión (Enzima/temperatura/tiempo de digestión)	Tamaño del Digerido (bandas que indican la región de corte de las enzimas y que permiten determinar el SNP)
				Iniciación	Nº de ciclos	Desnaturalización	alineación	Extensión	Terminación		
<b>UCP1</b>	A-3826G	Promotor	F: 5´CCA GTG GTG GCT AAT GAG AGA A3`  R: 5´GCA CAA AGA AGA AGC AGA GAG G3´	94 °C/ 5 minutos	35	94 °C/30 segundos	60 °C / 30 segundos	72 °C/ 30 segundos	72 °C/ 7 minutos	BclI/1 h /50 °C	<b>GG</b> = 279 pb (una banda) <b>AG</b> =279, 157 y 122 pb (tres bandas) <b>AA</b> =157 y 122 (dos bandas)
<b>UCP2</b>	A-866G	Promotor	F:5´CAC GCT GCT TCT GCC AGG AC 3´  R: 5´AGG CGT CAG GAG ATG GAC CG 3´	50 °C/2 minutos  Después 95 °C/ 10 minutos	45	95 °C/ 15 segundos	66 °C / 1 minuto	72 °C/ 30 segundos	72 °C/ 7 minutos	MiuI/16h/37°C	<b>GG</b> = 363 pb (una banda) <b>AG</b> =363, 291 y 72 pb (tres bandas) <b>AA</b> =291 y 72 pb (dos bandas)
<b>UCP3</b>	C-55 T	promotor	F:5´CCT CCC CTC TCA CCT CAC TG 3´  R:3´GGC ACT GGT CTT ATA CCC AC 3´	95 °C/ 10 minutos	35	95 °C/30 segundos	53 °C / 30 segundos	68 °C/ 30 segundos	68 °C/ 5 minutos	BSeDI/16h/37° C	<b>TT</b> = 105 pb (una banda) <b>CT</b> =105, 94 y 11pb (tres bandas) <b>CC</b> =94 y 11 (dos bandas)

## **2.4 Revisión de historial clínico**

Se realizó una revisión del historial clínico de cada paciente para extraer datos clínicos relevantes, la revisión se realizó vía intranet.

Para la revisión fue necesario conocer el nombre y el número de registro de cada paciente, ya que el acceso al historial clínico es a través de una red para la cual se requiere contar con una autorización. Todos estos datos fueron mantenidos bajo confidencialidad.

A partir del Historial clínico, se obtuvieron datos sobre el paciente, tales como alcoholismo y tabaquismo. El diagnóstico de estos dos parámetros fue hecho por médicos especialistas del INC, quienes para hacer este tipo de diagnóstico se basan en las reglas que establece la Asociación Americana de Psiquiatría en el manual de diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales <sup>104</sup>, donde se indica que se diagnostica alcoholismo cuando una persona bebe más de 40 gramos de alcohol al día de manera frecuente en los últimos 12 meses y tabaquismo cuando se consume al menos 1 cigarro por día durante los últimos doce meses, además el diagnóstico también se apoya en una serie de trastornos psicológicos y sociales.

## **3. Análisis estadístico.**

Las frecuencias tanto alélicas como genotípicas de las variantes de la UCP se obtuvieron por conteo directo. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para evaluar el efecto de los genotipos de las UCPs sobre el perfil de lípidos y el índice de masa corporal (IMC) y el resto de las variables.

Se realizó una prueba de chi cuadrada para evaluar diferencias significativas entre las diferencias de las variables nominales de los grupos de estudio.

Se realizó la prueba de chi cuadrada, con la comparación de las frecuencias observadas y esperadas, mediante la fórmula  $(p+q)^n$  donde p y q representan las frecuencias de dos alelos alternativos en un gen (donde  $p+q=1$ ) y  $n=2$  que representa el par de alelos de la posición en el gen autosómico, para determinar si las variantes individuales estaban en equilibrio de Hardy-Weinberg en cada loci en la población.

Cabe mencionar que el equilibrio de Hardy-Weinberg es un modelo teórico para genética de poblaciones, que se basa en las siguientes hipótesis :

1. La población es panmíctica (todos los individuos tienen la misma probabilidad de aparearse y el apareamiento es al azar, (panmixia).
2. La población es suficientemente grande (para minimizar las diferencias existentes entre los individuos).
3. La población no está sometida a migración, mutación o selección (no hay pérdida ni ganancia de alelos).
4. Las frecuencias génicas y genotípicas se mantienen constantes de generación en generación.

Bajo estas circunstancias las poblaciones genéticas se dice que las poblaciones se mantienen en equilibrio.

Los datos se expresan como la media desviación estándar (SD). Las frecuencias se expresan como porcentajes. La asociación entre las variables continuas se llevó a cabo por la correlación de Pearson.

El estudio de asociación múltiple de los polimorfismos fue calculado con SNPStats software<sup>97</sup>.

La fuerza de las asociaciones se calculó como riesgo relativo por el método de Woolf, razón de momio (OR), para lo cual se realizó una tabla de contingencia de 2 X 2, también se realizó la prueba de  $\chi^2$  para determinar la significancia estadística de las asociaciones. Un valor de p menor de 0.05 fue considerado significativo. Todos los análisis se realizaron con el programa estadístico SPSS v.17 (SPSS Inc. Chicago,IL).

## **VIII. Resultados y Discusión.**

Se llevó a cabo un estudio transversal de marzo del 2010 a febrero del 2011 en el Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” , se estudiaron 129 pacientes en total, 42 pacientes con cirugía de revascularización coronaria (33%), diagnosticados con EAC, por un médico especialista del INC y 87 pacientes (67%), correspondientes al grupo control a quienes se les realizó una cirugía de reemplazo valvular; es importante mencionar que el padecimiento de estos sujetos no está relacionado con la EAC.

### **1. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA POBLACION TOTAL Y POR GRUPO DE ESTUDIO (CONTROLES-VALVULARES Y CASOS-CORONARIOS)**

Los promedios de las características clínicas de la población total se muestran en la tabla 7. La edad de los sujetos fue de  $53 \pm 15.4$  años, el 60% de la población de estudio son hombres (77) y el 40% (52) mujeres. En cuanto a los niveles de lípidos, el colesterol total ( $160.0 \pm 63.4$  mg/dL) y glucosa ( $108.8 \pm 34.9$  mg/dL), se encontraron dentro del rango normal, sin embargo, los niveles de C-HDL se encontraron por debajo de los límites, esto es  $37.4 \pm 17.8$  mg/dL. Esto, de acuerdo con los rangos de referencia establecidos por el NCEP/ATPIII, en donde indican que valores menores a 40 mg/dL de C-HDL representan un factor de riesgo asociado con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares<sup>59</sup>.

Otro dato importante fue la frecuencia de tabaquismo 45.7 %, esto es, casi la mitad de la población total, en tanto que el 24 % de la población presentó algún grado de alcoholismo. Por otro lado el 40% de la población de estudio presentó HTA que es un padecimiento que aumenta el riesgo de sufrir EAC o accidente cerebrovascular<sup>13</sup>. Se sabe que las personas que padecen HTA y que además son obesas, fuman o tienen niveles elevados de colesterol en sangre, tienen un riesgo mucho mayor de tener EAC que si solo presentan HTA como factor de riesgo aislado<sup>13</sup>.

**Tabla 7.** Características clínicas de la población de estudio.

Características Clínicas de la población de Estudio.	
n=129	
Edad (años)	53.5±15.4
Peso(Kg)	68.9±11.6
Talla(m)	1.6±0.09
IMC	25.8±3.7
Hombres % (n)	59.7 (77)
Mujeres % (n)	40.3 (52)
TA sistólica (mmHg)	132±12.0
TA diastólica(mmHg)	69.6±9.0
Tabaquismo % (n)	45.7 (59)
Alcoholismo % (n)	24.0 (31)
HTA% (n)	41.1 (53)
Diabetes % (n)	20.9 (27)
Colesterol Total (mg/dL)	160.0±63.4
Triglicéridos (mg/dL)	164.4±220.8
C-HDL (mg/dL)	37.4±17.8
C-LDL (mg/dL)	93.0±38.9
Glucosa (mg/dL)	108.8±34.9
Frecuencia Cardiaca	71.7±10.0
Frecuencia Respiratoria	18.0±9.9

En base a las características anteriores, se dividió a la población de acuerdo al tipo de cirugía en controles (n=87) (cirugía de recambio valvular) y por el grupo de estudio (n=42) formado por sujetos a quienes se les realizó una cirugía de revascularización coronaria con diagnóstico de EAC. En la tabla 8 se muestran las características clínicas. Los datos se expresan como el promedio  $\pm$  la desviación estándar, las variables nominales (género, frecuencia de alcoholismo, tabaquismo, HTA, diabetes) se expresan como (%) frecuencias en cada grupo.

**Tabla 8.** Características clínicas por grupos de estudio.

	<b>Grupo Control</b>	<b>Grupo EAC</b>	<b>p</b>
	n=87	n=42	
<b>Edad (años)</b>	49.9± 17.0	60.8±8.7	0.000*
<b>Peso(Kg)</b>	67.7±12.3	71.3±9.8	0.100
<b>Talla(m)</b>	1.62±0 .09	1.66±.08	0.015*
<b>IMC</b>	25.7±4.0	25.9±3.0	0.863
<b>Hombres (n)</b>	40	37	0.000*
<b>Mujeres (n)</b>	47	5	0.000*
<b>HTA% (n)</b>	35.6 (31)	52.4(22)	0.071
<b>Tabaquismo% (n)</b>	36.8 (32)	64.3 (27)	0.003*
<b>Diabetes% (n)</b>	12.6 (11)	38.1 (16)	0.003*
<b>Alcoholismo% (n)</b>	21.8 (19)	28.6 (12)	0.387
<b>Estatinas% (n)</b>	9.5 (8)	72.5 (29)	0.000*
<b>TA sistólica (mmHg)</b>	112.6±13.2	113.8±9.4	0.400
<b>TA diastólica (mmHg)</b>	69.0±9.5	70.8±7.9	0.293
<b>Colesterol Total (mg/dL)</b>	165.6±48.8	148.6±51.3	0.071
<b>Triglicéridos (mg/dL)</b>	155.6±78.6	171.3±90.4	0.316
<b>C-HDL (mg/dL)</b>	37.8±10.9	33.8±9.3	0.050*
<b>C-LDL (mg/dL)</b>	97.9±34.8	86.6.0±35.9	0.111
<b>Glucosa (mg/dL)</b>	103.8±28.0	122.5±43.5	0.004*
<b>Frecuencia cardiaca</b>	73.9±9.3	68.1±7.3	0.000 <sup>+</sup>
<b>Frecuencia respiratoria</b>	16.8±2.3	17.1±1.8	0.449

IMC=Índice de masa corporal. Comparación grupo control vs grupo con EAC variables nominales, Análisis de varianza, \* p <0.05

Al comparar las características clínicas entre los grupos de estudio, se hallaron diferencias significativas con un aumento en los parámetros de edad (60.8 vs 49.9 años), talla (1.66 vs 1.62 m), glucosa (122.5 mg/dL vs 103.8 mg/dL) y diabetes (38.1% vs 12.6%), en los sujetos de estudio vs control, respectivamente. Mientras que en C-HDL, los valores más bajos se encontraron en el grupo de pacientes con EAC (33.8 mg/dL) en comparación con el grupo control (37.8 mg/dL). Como era de esperarse, el

grupo de pacientes con EAC presentaron mayor edad que en el grupo control, esto se debe a que el progreso de la enfermedad aterosclerosa en un principio es silenciosa y asintomática, porque es un proceso gradual que puede iniciar desde la niñez y que se agrava en personas de mayor edad y al no tratarse a tiempo lleva a ser candidatos para recibir un tratamiento quirúrgico en etapas ya muy avanzadas de la enfermedad.

En el caso del género, se pudo observar que la cantidad de hombres y mujeres que tuvieron una cirugía de reemplazo valvular (grupo control) fue muy semejante, pero en el caso del grupo EAC la cantidad de hombres intervenidos quirúrgicamente fue 7 veces mayor que el número de mujeres. Esto puede estar relacionado con el papel protector que ejercen los estrógenos durante el periodo fértil de la vida de las mujeres que retrasa las manifestaciones de la EAC. De hecho en la evaluación de síndrome isquémico en mujeres (WISE, por sus siglas en inglés Women's Ischemia Syndrome Evaluation) llevado a cabo en Estados Unidos de América del 2001 al 2007, se demostró que las mujeres jóvenes que tienen niveles de estrógenos deficientes tienen un mayor riesgo de padecer EAC, aproximadamente 7 veces más en comparación con las mujeres que presentan niveles normales de estrógenos<sup>60</sup>. Existen varias propuestas que intentan explicar el mecanismo por el cual las hormonas estrogénicas ejercen protección cardiovascular en las mujeres. Uno los más aceptados es aquel que indica que los estrógenos tiene un papel sobre el metabolismo de los lípidos, aunque también se ha descrito que desempeñan un papel importante sobre la homeostasis sanguínea. Otra propuesta es aquella en la que indica el papel de estas hormonas como moduladores que favorecen el balance de agentes vasodilatadores y vasoconstrictores. Una evidencia muy importante es que se ha observado que después de la menopausia la composición de la placa aterosclerótica cambia por lo que se vuelve más vulnerable a sufrir lesiones<sup>60</sup> y es cuando las mujeres presentan las secuelas características de la EAC.

Por otro lado, entre los factores de riesgo asociados a EAC, se encuentra el tabaquismo, el cual presentó una mayor frecuencia (30%) en los pacientes con EAC con respecto a los controles; al igual que los parámetros de diabetes (EAC: 26 % vs Control: 15%) y glucosa (grupo EAC: 122 mg/dL; grupo control: 104 mg/dL). Diversos



trabajos han demostrado que estos factores de riesgo están asociados frecuentemente con el desarrollo de la EAC. Se ha reportado que las enfermedades cardiovasculares representan el 80% de muertes en pacientes con diabetes tipo 2, de hecho pacientes con diabetes tiene 3 veces más riesgo que los no diabéticos de desarrollar aterosclerosis y sus complicaciones clínicas tales como accidente cerebrovascular e infarto al miocardio. De hecho la diabetes coexiste con otros factores de riesgo como HTA y dislipidemias. Sin embargo la diabetes tipo 2 es un factor de riesgo independiente para enfermedades cardiovasculares, aunque el mecanismo molecular no está completamente entendido. Se han propuesto una serie de anomalías metabólicas asociadas con la DM como factores que aceleran el proceso de aterosclerosis, incluyendo hiperinsulinemia (aumento de los niveles de insulina), hiperglicemia (aumento de los niveles de glucosa en sangre), aumento en la formación de productos finales de la glicosilación, hiperagregabilidad plaquetaria, anomalías en la coagulación, disfunción endotelial y aumento de estrés oxidativo<sup>90</sup>, todos ellos asociados con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares.

Con respecto a los niveles de lípidos, no se encontraron diferencias significativas en los valores a pesar de que están fuertemente asociados a la enfermedad arterial coronaria. Sin embargo, esto se puede explicar debido a que el 72.5% de los pacientes con EAC presentaron un esquema de medicación con estatinas, fármacos que disminuyen los niveles de colesterol endógeno en el organismo, que actúa inhibiendo a la enzima hidroximetil glutaril- CoA reductasa la cual participa en la síntesis de colesterol<sup>61</sup>.

## **2. FRECUENCIAS ALELICAS Y GENOTIPICAS DE LAS PROTEINAS DESACOPLANTES MITOCONDRIALES (*UCP1*, *UCP2* y *UCP3*), EN LA POBLACION TOTAL Y DIVIDIDAS POR GRUPO DE ESTUDIO.**

La tabla 9 muestra las frecuencias tanto alélicas como genotípicas de cada uno de los polimorfismos estudiados (*UCP1* -3825, *UCP2* – 866, *UCP3* – 55) divididas por grupo de estudio (control y EAC).

**Tabla 9.** Frecuencias genotípicas y alélicas de las UCPs por grupos de Estudio.

UCP1 -3826 A/G				UCP2 -866 A/G			UCP3 -55C/T			
Genotipo	Grupo Control (%)	Grupo EAC (%)	OR 95% (IC)	Grupo Control (%)	Grupo EAC (%)	OR 95% (IC)	Genotipo	Grupo Control (%)	Grupo EAC (%)	OR 95% (IC)
	n= 81	n= 38		n=79	n= 40			n=84	n=42	
<b>GG</b>	21	25	1.2 (0.5-3.0)	21	26	1.3(0.5-3.2)	<b>TT</b>	13	10	0.7 (0.2-2.3)
<b>GA</b>	58	58	0.9 (0.4-2.1)	47	50	1.6(0.7-3.4)	<b>TC</b>	38	50	1.6 (0.8-3.4)
<b>AA</b>	21	17	0.8 (0.3-2.1)	32	24	0.7(0.3-1.6)	<b>CC</b>	49	40	0.7 (0.3-1.6)
<b>Alelos</b>						<b>Alelos</b>				
<b>G</b>	50	54	1.3 (0.7-2.2)	45	51	1.5(0.8-2.9)	<b>T</b>	32	35	1.1(0.6-9.9)
<b>A</b>	50	46	0.8 (0.4-1.3)	55	49	0.6(0.3-1.2)	<b>C</b>	68	65	0.9 (0.5-1.6)
* $\chi^2$ p<0.05, OR: Razón de momios										

No se encontraron diferencias significativas tanto en las frecuencias genotípicas como alélicas entre el grupo de EAC y de remplazo valvular (controles) en ninguno de los polimorfismos estudiados (UCP1 -3825, UCP2 – 866, UCP3 – 55),

Para determinar si nuestra población se encontraba en equilibrio de Hardy-Weinberg, se realizó una prueba de  $\chi^2$  (Tabla 10). El cálculo las frecuencias genotípicas y alélicas se realizó por conteo directo. Se observó que la población de estudio se encontró en equilibrio.

**Tabla 10.** Frecuencias genotípicas observadas en la población de estudio.

Genotipo	UCP1 -3826 A/G		UCP2 -866 G/A		Genotipo	UCP3 -55 C/T	
	Frecuencia observada % n=121	Frecuencia esperada %	Frecuencia observada % n=117	Frecuencia esperada %		Frecuencia observada % n=126	Frecuencia esperada %
GG	22	31.5	23	25.8	TT	12	13.7
GA	58	60.5	48	58.3	TC	42	55.6
AA	20	29	29	32.9	CC	46	56.7
Alelos				Alelos			
G	51	51	53	47	T	33	33
A	49	49	47	53	C	67	67
X <sup>2</sup>	3.40		0.18		X <sup>2</sup>	0.27	
p	0.06		0.6		p	0.6	
<b>.prueba chi cuadrada, p &lt; 0.05</b>							

Finalmente, para conocer cómo se encuentra nuestra carga genética en relación a las UCP's, se realizó un análisis comparativo entre las frecuencias genotípicas y alélicas de nuestra población de estudio con otras poblaciones del mundo previamente reportadas (Tabla 11).

Es importante mencionar que únicamente se incluyó al grupo control de cada uno de los reportes de los SNP en las diferentes poblaciones del mundo para realizar la comparación, debido a que los grupos de estudio presentaban diversos padecimientos que pueden influir en las frecuencias obtenidas, que podrían estar alterados debido al padecimiento.

En el caso del polimorfismo -3826 de la UCP1 se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en el genotipo GG, con una disminución en la frecuencia del genotipo GG y del alelo G en la población tanto alemana (5.8%; 27.5%) como Caucásicos (europeos), (5.3%; 24%) mientras que en la población de afroamericanos fue a la inversa, esto es,

un incremento en esta población (42.2%; 62.5%) con respecto a nuestros sujetos de estudio (21%; 50%) respectivamente.

En el caso del polimorfismo -866 de la UCP2 se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) para el genotipo GG y el alelo G con población del norte de India (44%; 67.7%) y con caucásicos (41%; 63%, respectivamente) ya que nuestra población presento una frecuencia menor para este genotipo (21%; 45% respectivamente). Por otro lado, para el genotipo AA se encontraron diferencias con coreanos (24%), y del noreste de Colombia (17%); ya que en nuestra población la frecuencia fue de 31 %, sin embargo, diferencias tanto genotípicas como alélicas, nuevamente se encontraron con caucásicos (15% y 34%, respectivamente) y afroamericanos (19.2% y 43.2%, respectivamente), así como en la población del norte de India (8.8% y 32.3%, respectivamente). Nuestra población presentó la frecuencia más alta para el genotipo AA (31.6%), así como para el alelo A (45%) en relación a las reportadas hasta el momento en la población mundial.

Finalmente, para el polimorfismo -55 C/T de la UCP3, en el caso del genotipo TT que es el mutante, se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) con la población alemana (3%), caucásicos (8%), afroamericanos (4%) y con la población del noreste de Colombia (3%), es interesante notar que la población mexicana presenta frecuencias muy elevadas de este genotipo (13%) en comparación con las otras poblaciones. Para el genotipo CC se hallaron diferencia significativas únicamente entre mexicanos (49%) y afroamericanos (74%). Esta misma tendencia en las diferencias se observaron en los alelos correspondientes en las mismas poblaciones.

Estos datos indican que nuestra población tiene una carga notoriamente diferente a otras poblaciones principalmente con los de origen caucásico y afroamericano, así mismo, como se puede ver, en la población del noreste de Colombia se presentaron diferencias significativas en algunos alelos, y esto se explica por el alto porcentaje de población de origen negroide existente en esta población. Diversos trabajos han demostrado las similitudes genéticas utilizando marcadores genéticos que incluyen los marcadores de HLA, LMP (large molecular weight peptide), Apo-E, ACE (Angiotensin I converting enzyme) <sup>91-94</sup> de las poblaciones amerindias, incluyendo a mestizos e indígenas mexicanos como los nahuas, mixtecos, mazatecos entre otros, con las

poblaciones Asiáticas, pero con diferencias importantes con las poblaciones de origen Caucásico y/o Negroide. El conocimiento en la distribución de estos alelos en poblaciones Mexicanas puede ser de utilidad para entender el verdadero papel como marcadores genéticos en estas poblaciones.

**Tabla 11.** Frecuencias genotípicas y alélicas de las UCPs en la población mexicana estudiada y en distintas poblaciones del mundo.

Genotipo	Población	GG	GA	AA	Alelos	G	A	Fuente
		n (%)	n (%)	n (%)		n (%)	n(%)	
<b>UCP1</b>	México (Nuestro estudio) n=81	17(21)	47(58)	17(21)		81(50)	81 (50)	
	Japón n= 298	66 (22.2)	153 (51.3)	79 (26.5)		286 (48)	310 (52)	Kotani, et. Al., Archives of Medical Research 39 (2008) 142-146- <sup>62</sup>
	Alemania n=69	4 (5.8)*	30 (43.5)	35 (50.7)*		38 (27.5)*	100 (72.5)*	Martin Herrman Stefan, j mol med (2003)81:327-332. <sup>63</sup>
	Caucásico n= 227	12 (5.383)*	85 (37.4)*	130(57.3)*		109 (24)*	345 (76)*	Rudofsky, et al, Diabetes Care 29 (2006) 1:89-94. <sup>64</sup>
	Afroamericanos n=287	121(42.2)*	116 (40.4)*	50 (17.4)*		358 (62.4)*	216 (39.4)*	Sale M, Et. Al. BMC Endocrine Disorders, 29(2006) 1:89-94 <sup>65</sup>
	Hispanos EUA n= 494	71(14.4)	249 (50.4)	174(35.2)		391 (39.6)*	597(60.4) *	Sale M, Et. Al. BMC Endocrine Disorders, 29(2006) 1:89-94. <sup>65</sup>
	Nordeste Colombia n=449	72(16)	215(48)	162(36)*		359(40)*	539(60)*	Franco-Hincapié, et al, Biomédica 2009; 29:29:108-18. <sup>66</sup>
<b>UCP2</b>	México (Nuestro Estudio)	17 (21.5)	37 (46.8)	25 (31.6)		71 (45)	87 (55)	

n = 79						
Corea n=1385	366 (26.4)	691(49.9)	328(23.7)*	1429(51.6) <sup>1</sup>	1341(48.4)	H. J. Lee et. Al, clínica chimica acta 398 (2008) 27-33 <sup>67</sup>
Norte de India n= 240	106(44.1)*	113(47.1)	21(8.8)*	325(67.7)*	155(32.3)*	Srivasta a, et. Al, Mol CellBiochem (2010) 337: 293-298 <sup>68</sup>
PIMA, Nativos Americanos, Arizona n = 263	51 (19.4)	132 (50.2)	80 (30.4)	234 (44.5)	292 (55.5)	Kovacs, et. Al. Diabetologia, (2005) 48: 2292-2295 <sup>69</sup>
Caucásicos n= 227	93 (41)*	99 (43.6)	35 (15.4)*	285 (63)*	169 (37)*	Rudofsky, et al, diabetes care 29 (2006) 1:89-94 <sup>64</sup>
Afroamericanos n=287	89(32.8)	130(48)	52(19.2)*	308 (56.8)	266 (43.2)*	Sale M, Et. Al. BMC Endocrine Disorders, 29(2006) 1:89-94. <sup>65</sup>
Hispanos EUA n=494	132(27.2)	227(46.7)	127(26.1)	491 (50.5)	497 (49.5)	Sale M, Et. Al. BMC Endocrine Disorders, 29(2006) 1:89-94. <sup>65</sup>
Nordeste de Colombia n= 449	144(32)	229(51)	76(17)*	539 (60)*	359 (40) *	Franco-Hincapié, et al, Biomédica 2009; 29:29:108-18. <sup>66</sup>
	<b>TT</b>	<b>TC</b>	<b>CC</b>	<b>T</b>	<b>C</b>	
<b>UCP3</b>						
México (Nuestro estudio) n=84	11(13.1)	32(38.1)	41 (48.8)	54 (32.1)	114 (67.9)	
Japón n= 282	28 (9.9)	115 (40.8)	139 (49.3)	171 (30.3)	393(69.7)	T. Hamada et. Al/ Metabolism clinical and experimental (2008) 410-415 <sup>70</sup>
Corea n= 1387	120 (8.6)	588 (42.4)	679(49)	827(29.8)	1947(70.2)	H. J. Lee et. Al, clínica chimica acta 398 (2008) 27-33 <sup>67</sup>
Alemania n=69	2 (2.9)*	29 (42)	38(55.1)	33 (23.9)	105 (76.1)	Martin Herrman Stefan, j mol med (2003)81:327-332 <sup>63</sup>
Caucásicos	9 (8)*	74 (32.6)	144 (63.4)	92 (20)*	362 (80)*	Rudofsky, etl al, diabetes care 29

n= 227					(2006) 1:89-94 <sup>64</sup>
Afroamericanos n=57	2 (3.5)*	13 (22.8)	42 (73.7)*	17 (4.9)*	97 (85.1)* Kimm, et al, Am J ClinNutr 2002; 75:714-9 <sup>57</sup>
EUA n= 56	4 (7.1)	16 (28.6)	36 (64.3)	24 (21.4)	88 (78.6) Kimm, et al, Am J ClinNutr 2002 75:714-9. <sup>57</sup>
Nordeste de colombia  n=449	13(3)*	112 (25)	324 (72)	144 (16)*	754 (84)* Franco-Hincapié, et al, Biomédica 2009; 29:29:108-18. <sup>66</sup>

\* P≤0.05, Diferencia significativa entre genotipos de otras poblaciones comparadas con las obtenidas en nuestro estudio en la población mexicana, análisis  $\chi^2$

### **3. ANALISIS DE LAS CARACTERISTICAS CLINICAS DE CADA GRUPO DE ESTUDIO (CONTROLES-VALVULARES VS CASOS-EAC) DE ACUERDO AL GENOTIPO DE CADA UNO DE LOS POLIMORFISMOS ESTUDIADOS (*UCP1*, *UCP2*, *UCP3*)**

Los SNP's de las proteínas desacoplantes mitocondriales y su relación con los parámetros clínicos (edad, IMN, TAD, TAS, HTA, colesterol total, etc.) se agruparon de acuerdo a cada uno de los polimorfismos estudiados. Los datos se muestran como el promedio  $\pm$  la desviación estándar, las variables nominales se muestran como (%) frecuencias en cada grupo.

#### **UCP1 A-3826G**

Para el polimorfismo -3826 A/G de la UCP1 (tabla 12), se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en los siguientes parámetros: el genotipo AA ( $30.7 \pm 7.3$  mg/dL) presentó valores plasmáticos menores de C-HDL en comparación con el genotipo GA ( $37.5$  mg/dL) y GG ( $38.3$  mg/dL). El resultado obtenido concuerda con lo reportado por Kotani y cols<sup>62</sup>, en población japonesa; y por Sale y cols, en familias hispanas de San Antonio<sup>65</sup>, quienes reportaron que el genotipo AA está asociado con niveles disminuidos de C-HDL, que es lo que ocurre en nuestra población de estudio, esto está relacionado con un aumento en el riesgo de desarrollo de enfermedades cardiovasculares.

También se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en los niveles de glucosa; se presentaron niveles más elevados en los homocigotos GG ( $115.9 \pm 35.2$ ) y AA ( $114.7 \pm 42.0$ ), en relación con los heterocigotos ( $104.9 \pm 27.6$  mg/dL).



**Tabla 12.** Características clínicas de la población en general por genotipo *UCP1* para el polimorfismo -3826 A/G.

Genotipo <i>UCP1</i> -3826	GG	GA	AA
n= 121	n=27	n=70	n= 24
Edad	51.3±16.2	55.5±15.7	49.8±13.8
IMC	25.9±3.4	25.8±4.2	26.2±3.1
TAD (mmHg)	72.3±7.8	69.1±9.4	68.0±9.6
TAS (mmHg)	116.0±10.8	113.6±12.2	113.3±12.2
HTA % (n)	40.7 (11)	42.9 (30)	41.7 (10)
Diabetes % (n)	25.9 (7)	17.1 (12)	29.2 (7)
Tabaquismo %(n)	33.3 (9)	47.1 (33)	62.5 (15)
Alcoholismo % (n)	25.9 (7)	21.4 (15)	33.3 (8)
Estatinas % (n)	22.2 (6)	28.4 (19)	41.7 (10)
Colesterol total (mg/dL)	151.9±43.9	160.3±48.0	164.4±57.4
Triglicéridos (mg/dL)	151.1±70.5	157.5±81.9	180.0±95.2
C-HDL (mg/dL)	38.3± 8.5*	37.5±11.7 <sup>‡</sup>	30.7±7.3 <sup>+</sup>
C-LDL (mg/dL)	88.1±31.9	91.9±32.6	100.9±43.7
Glucosa (mg/dL)	115.9±35.2	104.9±27.6 <sup>+</sup> <sup>‡</sup>	114.7±42.0
IMC: índice de masa corporal, TAS: tensión arterial sistólica, TAD: tensión arterial diastólica, HTA: hipertensión arterial; p < 0.05, t student * AA vs GG, +GG vs GA, ‡ AA vs GA			

A continuación se muestran las características clínicas de acuerdo al grupo de estudio, las cuales fueron agrupadas por genotipo.

**Tabla 13.** Comparación de las características clínicas para el polimorfismo -3826 A/G de la UCP1.

UCP1 -3826	Grupo Control n= 81				Grupo EAC n= 40			
	GG n=17	GA n=47	AA n=17	p**	GG n=10	GA n=23	AA n=7	p**
Edad (años)	45.6±17.3*	51.9±17.1 <sup>+</sup>	46.6±14.9	0.310	61.0±7.8*	62.9±8.9 <sup>+</sup>	57.3±6.7	0.304
IMC	25.7±3.6	25.8±4.6	26.2±3.1	0.934	26.2±3.1	25.7±3.1	26.3±3.3	0.862
Tabaquismo % (n)	23.5 (4)	38.3 (18) <sup>+</sup>	52.9 (9)	0.217	50.0 (5)	65.2 (15) <sup>+</sup>	85.7(6)	0.333
Alcoholismo % (n)	17.6 (3)	19.1 (9)	41.2 (7)	0.155	40.0 (4)	26.1 (6)	14.3(1)	0.512
HTA % (n)	35.3 (6)	38.3(18)	35.3(6)	0.964	50.0 (5)	52.2 (12)	57.1(4)	0.961
Diabetes % (n)	23.5 (4)	8.5 (4) <sup>+</sup>	17.6 (3) <sup>*</sup>	0.266	30.0 (3)	34.8 (8) <sup>+</sup>	57.1 (4) <sup>*</sup>	0.501
Estatinas	5.9 (1)	6.8 (3) <sup>+</sup>	17.6 (3) <sup>*</sup>	0.375	50.0 (5)	69.6 (16) <sup>+</sup>	100 (7) <sup>*</sup>	0.144
TAS (mmHg)	116.8±13.4	113.2±13.4	108.9±14.1	0.934	113.3±5.8	114.6±9.6	111.1±10.8	0.507
TAD(mmHg)	71.6±8.7	68.5 ±9.6	68.3±11.1	0.489	73.6±6.8	67.9±6.1	69.4±8.6	0.294
Colesterol Total (mg/dL)	158.0±43.2	167.6±45.2	161.3±62.9	0.762	141.5±45.4	145.4±50.9	172.0±44.0	0.390
Triglicéridos (mg/dL)	152.4±75.6	157.0±84.8	155.8±76.6 <sup>*</sup>	0.980	148.9±64.9	158.5±77.5	238.7±115.8 <sup>*</sup>	0.062
C-HDL (mg/dL)	39.1±8.6	39.9±11.5 <sup>+</sup>	29.7±7.4 <sup>+ β</sup>	0.005**	36.9±8.6	32.5±10.4 <sup>+</sup>	33.0±7.1 <sup>+</sup>	0.502
C-LDL (mg/dL)	93.2±27.8	95.3±11.5 <sup>+</sup>	102.4±50.7	0.726	79.0±36.7	84.5±38.9 <sup>+</sup>	97.7±25.9 <sup>+</sup>	0.584
Glucosa (mg/dL)	113.3±35.8	100.3±14.6	109.6±45.0	0.212	120.4±35.5	114.2± 42.5	127.0±33.2	0.738

TAS: Tensión arterial sistólica, TAD= tensión arterial diastólica, HTA: Hipertensión arterial, IMC: índice de masa corporal.

\*\*p< 0.05 ANOVA comparación entre genotipos del mismo grupo, prueba Post Hoc: prueba tukey se compararon los genotipos del mismo grupo, β AA grupo control vs GA y GG del grupo control.

Para la comparación entre genotipos por grupo de estudio se realizó una ANOVA p< 0.05: comparación: <sup>+</sup>GA control vs GA EAC, <sup>\*</sup>AA control vs AA EAC, <sup>\*</sup>GG control vs GG EAC

Al comparar las características clínicas en el grupo control para el SNP -3826 A/G dividido por genotipos de la UCP1 (Tabla 13), se pudo determinar que existe la misma tendencia observada en la población total en varios parámetros como: C-HDL, C-LDL, colesterol total, tabaquismo o diabetes. Para el caso de los valores de C-HDL se observó una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) en función del genotipo, esto es, una disminución de mayor a menor en los genotipos GG > GA > AA, tanto para el grupo control como en los sujetos con EAC. Estas diferencias se mantienen al comparar por genotipo entre los controles y el grupo con EAC, excepto en el genotipo AA donde en los controles se observó un valor aún más bajo con respecto a los pacientes (29.7±7.4 vs 33.0±7.1 mg/dL). Sin embargo, estos niveles plasmáticos siguen siendo muy bajos con respecto a los valores promedio recomendados por la ATP III.

Con esto se puede observar los sujetos con el genotipo AA presentan niveles muy bajos de C-HDL, lo cual es un factor de riesgo fuertemente asociado con el desarrollo de EAC.

En las otras características clínicas de la *UCP1-3826*, no se encontraron diferencias significativas entre los genotipo de cada grupo. Sin embargo, se observan ciertas tendencias entre los genotipos; el genotipo AA vs GG y GA del grupo EAC presentó una mayor frecuencia de diabetes, tabaquismo e hipertensión arterial, todos ellos considerados factores de riesgo; además, se observó que en este genotipo hubo un IMC ligeramente elevado (AA:  $26.3 \pm 3.3$  mg/dL vs GG:  $26.2 \pm 3.1$  mg/dL y GA:  $25.7 \pm 3.1$  mg/dL grupo EAC) , niveles mayores de colesterol total (AA:  $172.0 \pm 44.0$  mg/dL vs GA:  $145.4 \pm 50.9$  mg/dL y GG:  $141.5 \pm 45.4$ ), triglicéridos (AA:  $238.7 \pm 115.8$  mg/dL vs GG:  $148.9 \pm 64.9$  mg/dL y GA:  $158.5 \pm 77.5$  mg/dL), C-LDL (AA:  $97.7 \pm 25.9$  vs mg/dL GG:  $79.0 \pm 36.7$  mg/dL y GA:  $84.5 \pm 38.9$ ) y glucosa (AA:  $127.0 \pm 33.2$  vs GG:  $120.4 \pm 35.5$  mg/dL y GA:  $114.2 \pm 42.5$  mg/dL), todos ellos son factores de riesgo asociados a la EAC. Se puede ver que estos parámetros siguen la misma tendencia independientemente del grupo de estudio, por lo que sugiere que el genotipo AA puede estar contribuyendo con el desarrollo de EAC en nuestra población.

Esto puede estar relacionado con algunos reportes en los que se indica que individuos con valores bajos de C-HDL, las HDL están enriquecidas en triglicéridos y tiene niveles disminuidos de esteres de colesterol. Esta composición anormal se asocia a una reducción de sus efectos antioxidantes, antiinflamatorios y a una menor capacidad para promover el eflujo de colesterol, lo que puede disminuir la actividad ateroprotectora de las HDL, es decir que hay un aumento en el riesgo de aterosclerosis, que conduce a EAC<sup>95</sup>.

La relación entre el SNP -3826 de la *UCP1* y características físicas o variables metabólicas, ha sido estudiada en muchos países y diferentes poblaciones del mundo<sup>57,65, 72-76</sup>, sin embargo, los resultados son controversiales.

Los resultados obtenidos en el presente estudio concuerdan con lo obtenido por Kotani y col. y Hamada y col.<sup>62,70</sup>, que reportan que en la población japonesa los niveles de C-HDL son mayores para el alelo G en comparación con el A, sugiriendo que el genotipo

GG es un factor protector independiente asociado con una baja incidencia de alfalipoproteinemia en su población, ocurre lo mismo en población Hispana que reside en San Antonio, Texas<sup>65</sup>. Esto puede deberse a que estas poblaciones presentan frecuencias genotípicas semejantes a la obtenida en el presente estudio (tabla 18), lo que indica una posible relación entre estas y la nuestra.

Las discrepancias pueden ser parcialmente explicadas por las diferencias entre los criterios de inclusión y exclusión en los diferentes estudios, y por haplotipos, ya que en algunos estudios al analizar haplotipos se han observado asociaciones que pueden explicar los resultados controversiales del efecto del alelo A. En algunos estudios han mostrado un efecto sinérgico entre el SNP -3826 A/G de la *UCP1* con la mutación Trp64/b-AR en el receptor  $\beta$ 3 adrenérgico con la ganancia de peso<sup>77</sup> con una baja tasa metabólica basal<sup>78</sup> y con la resistencia a la ganancia de peso<sup>79</sup>. Las diferencias entre los grupos étnicos, la edad y factores ambientales así como el efecto sinérgico de los genes puede ser la razón controversial de los resultados entre las diferentes investigaciones.

### **UCP2 A-866G**

En cuanto al análisis de los polimorfismos para el SNP -866 A/G en la población de estudio (tabla 14) de la *UCP2*, se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ), únicamente en los niveles de triglicéridos. El genotipo GG (188.3 mg/dL) presentó niveles más elevados con respecto al genotipo AA ( $163.9 \pm 87.2$  mg/dL) y GA ( $150.3 \pm 70.7$  mg/dL). Sin embargo se observan algunas tendencias en los parámetros estudiados de acuerdo al genotipo. Entre estas tendencias resaltan la HTA, diabetes, y glucosa, las cuales se encuentran en un mayor porcentaje de la población general con el alelo G en relación al alelo A.

**Tabla 14.** Características clínicas de la población en general por genotipo *UCP2* -886 A/G.

Genotipo <i>UCP2</i> -866	AA	GA	GG
n= 117	n= 34	n=56	n=27
<b>Edad</b>	50.9±17.3	52.3±15.2	55.7±14.2
<b>IMC</b>	26.1±3.2	25±3.7.3	26.7±4.6
<b>TAD (mmHg)</b>	68.9±9.1	68.8±9.9	70.5±7.6
<b>TAS (mmHg)</b>	112.2±10.5	113.7±14.1	111.8±9.7
<b>HTA % (n)</b>	44.1 (15)	35.7 (20)	55.6 (15)
<b>Diabetes % (n)</b>	11.8 (4)	23.2 (13)	25.9 (7)
<b>Tabaquismo %(n)</b>	44.1 (15)	46.4 (26)	51.9 (14)
<b>Alcoholismo % (n)</b>	29.4 (10)	21.4 (12)	25.9 (7)
<b>Estatinas % (n)</b>	23.5 (8)	35.7 (20)	25.9 (7)
<b>Colesterol Total (mg/dL)</b>	164.3±54.3	156.7±50.4	165.0±49.9
<b>Triglicéridos (mg/dL)</b>	163.9±87.2	150.3±70.7	188.3±101.8 <sup>¥</sup>
<b>C-HDL (mg/dL)</b>	36.1±9.2	36.4±11.2	36.5±10.9
<b>C-LDL (mg/dL)</b>	97.6±40.6	94.5±39.0	93.7±25.3
<b>Glucosa (mg/dL)</b>	109.0±32.7	107.9±38.3	114.9±35.4
IMC: índice de masa corporal, TAS: tensión arterial sistólica, TAD: tensión arterial diastólica, HTA: hipertensión arterial; *p < 0.05, t student. * AA vs GG, +GG vs GA, ¥ AA vs GA			

Al realizar el análisis de las características clínicas por genotipo para el SNP -866 A/G de la *UCP2* en cada uno de los grupos no se observaron diferencias significativas en los parámetros analizados entre los genotipos. (Tabla 15)

Se observaron ciertas tendencias. En el grupo control, el genotipo GG vs AA y GA, presentó niveles más elevados de colesterol total ( $171.6 \pm 52.0$  vs  $167.2 \pm 54.4$  y  $163.9 \pm 48.9$ ), triglicéridos ( $181.1 \pm 101.1$  vs  $161.4 \pm 81.6$  y  $143.9 \pm 68.6$  mg/dL), C-HDL ( $39.4 \pm 11.5$  vs  $36.7 \pm 9.7$  y  $37.2 \pm 12.3$  mg/dL) y glucosa ( $112.9 \pm 35.3$  vs  $99.8 \pm 11.9$  y  $102.7 \pm 33.3$  mg/dL, respectivamente), también presentó mayor frecuencia de pacientes con diabetes mellitus (17.6% vs 13.5% y 8%) e hipertensión arterial (53% vs 27% y 24%, respectivamente). Aunque los valores de estos parámetros son más altos en el genotipo GG en comparación con los otros dos genotipos, aún se encuentran dentro de los límites considerados como normales en nuestra población, mientras que los niveles de C-HDL se encuentran por debajo del límite considerado como adecuado (mayor a 40 mg/dL). Aguilar-Salinas y cols. reportaron en un estudio trasversal, que la población mexicana presenta en promedio niveles bajos de C-HDL (39.0 mg/dL) y que la prevalencia de hipoalfalipoproteinemia<sup>96</sup> (desorden en el que los niveles de C-HDL es < 40 mg/dL) es de aproximadamente 60%. Por lo que se puede ver que la población mexicana *per se* ya presenta niveles bajos de C-HDL, lo cual se ve reflejado en los datos obtenidos en el grupo control.

En cuanto al análisis del grupo EAC, se obtuvo una tendencia contraria a la observada en el grupo control. Esto es, en el grupo EAC se observó que los niveles de glucosa ( $134.8 \pm 54.4$  mg/dL vs  $118.4 \pm 37.2$  mg/dL y  $117.9 \pm 45.8$  mg/dL), C-LDL ( $98.5 \pm 26.8$  mg/dL vs  $89.1 \pm 29.7$  mg/dL y  $80.8 \pm 42.4$  mg/dL), C-HDL ( $34.1 \pm 7.5$  mg/dL vs  $30.5 \pm 7.1$  mg/dL y  $34.9 \pm 9.0$  mg/dL) y colesterol total ( $156.4 \pm 56.5$  mg/dL vs  $153.8 \pm 46.6$  mg/dL y  $142.8 \pm 51.6$  mg/dL) fueron más elevados para el genotipo AA vs GG y AA, respectivamente.

En cuanto a los niveles de triglicéridos se pudo observar que fueron mayores para el genotipo GG vs AA y GA, esto ocurrió tanto en el grupo control ( $181.1 \pm 101.1$  vs  $161.4 \pm 81.6$  y  $143.9 \pm 68.6$  mg/dL) como en el EAC ( $200.7 \pm 107.2$  vs  $171.0 \pm 106.3$  y  $162.7 \pm 74.8$  mg/dL). Esto indica que este SNP puede influir en el metabolismo de lípidos, ya que se observa la tendencia de niveles de triglicéridos altos en el genotipo GG vs AA y GA, al analizar las características clínica por grupo de estudio como en la población en general

En nuestra población los sujetos del grupo control con el genotipo GG presentaron un mayor porcentaje de pacientes con diabetes y niveles de glucosa en relación al genotipo AA y GA, mientras que en el grupo EAC se observa esta tendencia cuando se compara la frecuencia de pacientes diabéticos en los portadores del alelo A con los portadores del alelo G (22% vs 76%,  $p=0.012$ ), por lo que el alelo G podría estar relacionado con una mayor susceptibilidad a la diabetes mellitus en nuestra población de estudio, aunque es más notoria esta relación en el grupo EAC. Esto podría deberse a que los sujetos que conforman este grupo de estudio presentan algunos otros factores de riesgo que contribuyen al desarrollo de diabetes, tales como sobrepeso. De hecho se ha sugerido que las UCPs tiene un papel central en la regulación de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) que se incrementan debido a la hiperglicemia durante la diabetes, lo que trae consigo la activación de diversas vías, que tiene como consecuencia las características complicaciones de la diabetes (neuropatía diabética, nefropatía diabética, cetoacidosis diabética, etc.)<sup>71</sup>.

Los resultados encontrados en nuestra población de estudio coinciden con lo reportado en la literatura en la que se indica que los portadores del alelo G tienen un mayor riesgo de diabetes<sup>69,82</sup>. Esta relación puede deberse a que la UCP2 se expresa en células beta del páncreas y en tejido adiposo, lo cual sugiere una posible participación de esta proteína en la etiología de la DM, además de que está demostrado que regula la secreción de insulina negativamente, por lo que una variación en el gen podría modificar los niveles de expresión de la proteína que pudiese afectar los niveles de insulina que participa directamente en la etiología de la DM<sup>40</sup>.

Diversos estudios han arrojado resultados contradictorios sobre la asociación entre el polimorfismo de la UCP2 -866 A/G la obesidad, DM2, EAC y perfil de lípidos<sup>27, 43-46,57,64,66,68,80-84</sup>. Datos recientes sugieren que los polimorfismos de UCP2 -866 G/A y UCP3 -55 C/T pueden contribuir con el desarrollo de DM2. Se ha reportado que los haplotipos de estos dos polimorfismos están asociados con la presencia de DM2 en mujeres caucásicas obesas<sup>77</sup>. Estos resultados indican el efecto de los polimorfismos de la UCP2 y la UCP3 en la obesidad, resistencia a la insulina y DM2.

**Tabla 15.** Comparación de las características clínicas para el polimorfismo -866 G/A de la UCP2.

UCP2 -866	Grupo Control				Grupo EAC			
	AA n=25	GA n=37	GG n=17	p**	AA n=9	GA n=19	GG n=10	p**
Edad (años)	47.3 ±17.8*	47.4±15.5 <sup>+</sup>	54.9±17.6	0.835	61.0±11.5*	61.8±8.7 <sup>+</sup>	57.0± 5.1	0.364
IMC	26.6±3.4	24.9±4.1	26.4±5.2	0.806	24.8±2.3	26.2±2.8	27.1±3.5	0.231
Tabaquismo (%)	36 (9)	40.5 (15)	35.3 (6)*	0.887	66.7(6)	57.9 (11)	80.0 (8)*	0.512
Alcoholismo (%)	24 (6)	21.6 (8)	23.5 (4)	0.910	44.4 (4)	21.1 (4)	30.0 (3)	0.464
HTA (%)	44(11)	27.0(10)	52.9 (9)	0.974	44.4 (4)	52.6 (10)	60.0 (6)	0.808
Diabetes (%)	8 (2)	13.5 (5) <sup>+</sup>	17.6 (3)	0.147	22.2 (2)	94.7 (18) <sup>+</sup>	40.0 (4)	0.599
Estatinas	12 (3)*	10.8 (4) <sup>+</sup>	5.9 (1)*	0.648	55.5 (5)*	84.2 (16) <sup>+</sup>	60.0 (6)*	0.417
TAS (mmHg)	110.4±11.2	113.4±15.9	111.3±9.9	0.215	115.7±5.3	114.3±10.1	112.7±9.7	0.551
TAD (mmHg)	67.6±9.7	68.4 ±10.4	70.1±7.9	0.700	72.4±6.2	69.5 ±9.0	71.2±7.5	0.655
Colesterol Total (mg/dL)	167.2±54.4	163.9±48.9	171.6±52.0	0.673	156.4±56.5	142.8±51.6	153.8±46.6	0.761
Triglicéridos (mg/dL)	161.4±81.6	143.9±68.6	181.1±101.1	0.873	171.0±106.3	162.7±74.8	200.7±107.2	0.570
C-HDL (mg/dL)	36.7±9.7	37.2±12.3	39.4±11.5*	0.282	34.1±7.5	34.9±9.0	30.5±7.1*	0.465
C-LDL (mg/dL)	97.3±44.7	101.7±35.6	96.0±23.6	0.743	98.5±26.8	80.8±42.4	89.1±29.7	0.527
Glucosa (mg/dL)	99.8±11.9*	102.7±33.3	112.9±35.3	0.849	134.8±54.4*	117.9±45.8	118.4± 37.2	0.638

TAS: Tensión arterial sistólica, TAD= tensión arterial diastólica, HTA: Hipertensión arterial, IMC: índice de masa corporal.  
 \*\*p< 0.05 ANOVA comparación entre genotipos del mismo grupo de estudio, prueba Post Hoc: prueba tukey se compararon los genotipos del mismo grupo, Para la comparación entre genotipos por grupo de estudio se realizó una ANOVA p< 0.05: comparación: \*GA control vs GA EAC , \*AA control vs AA EAC, \*GG control vs GG EAC

### UCP3 C-55T

Para el polimorfismo -55 C/T de la UCP3 (tabla 16) se hallaron diferencias significativas en los niveles de triglicéridos, se observó que en el genotipo TT hubo valores más elevados de triglicéridos (178.3±105.9 mg/dL) en comparación con los otros genotipos (CC: 160.7±72.0 mg/dL y CT:160.4±87.1 mg/dL ).

**Tabla 16.** Características clínicas de la población en general por genotipo UCP3 para el polimorfismo -55 C/T.

Genotipo UCP3-55 C/T	CC	CT	TT
n= 126	n=58	n=53	n= 15



<b>IMC</b>	26.2±3.9	25.3 ±3.3	26.3±4.1
<b>TAD (mmHg)</b>	54.1±16.0	53.5±12.8	51.5±11.1
<b>TAS(mmHg)</b>	113.2±13.8	113.2±9.3	115.8±10.9
<b>HTA % (n)</b>	39.7 (23)	37.7 (20)	60.0 (9)
<b>Diabetes % (n)</b>	17.2 (10)	22.6 (12)	33.3 (5)
<b>Tabaquismo %(n)</b>	53.1 (31)	37.7 (20)	46.7 (7)
<b>Alcoholismo % (n)</b>	24.1 (14)	20.8 (11)	26.7 (4)
<b>Estatinas % (n)</b>	24.6 (14)	34 (18)	20.0 (3)
<b>Colesterol Total (mg/dL)</b>	164.0±53.4	157.8±46.9	156.9±51.7
<b>Triglicéridos (mg/dL)</b>	160.7±72.0*	160.4±87.1 <sup>+</sup>	178.3±105.9
<b>C-HDL (mg/dL)</b>	36.9±10.4	37.0±9.9	32.0±10.8
<b>C-LDL (mg/dL)</b>	99.8±40.1	87.9±31.2	96.7±32.3
<b>Glucosa (mg/dL)</b>	108.9±34.7	109.5±33.2	120.9±42.3
IMC: índice de masa corporal, TAS: tensión arterial sistólica, TAD: tensión arterial diastólica, HTA: hipertensión arterial;* p < 0.05 t student. * CC vs TT, +TT vs CT, †TT vs CT			

**Tabla 17.** Comparación de las Características clínicas para el polimorfismo -55 C/T de la UCP3.

<b>UCP3 -55</b>	<b>Grupo Control</b>				<b>Grupo EAC</b>			
	<b>CC n=41</b>	<b>CT n=32</b>	<b>TT n=11</b>	<b>p**</b>	<b>CC n=17</b>	<b>CT n=21</b>	<b>TT n=4</b>	<b>p**</b>
<b>Edad (años)</b>	50.4 ±16.7 <sup>+</sup>	49.2±18.4*	49.2±18.4	0.953	63.0 ±10.0 <sup>+</sup>	60.0±7.2*	55.8 ±8.0	0.275
<b>IMC</b>	26.0±4.4	25.4±3.5	26.4± 4.4	0.701	26.6±2.5	25.1±3.2	26.3±3.7	0.303
<b>Tabaquismo(%)</b>	46.3(19)	56.3 (18)	36.4 (4)	0.177	70.6 (12)	57.1 (12)	75.0 (3)	0.637
<b>Alcoholismo(%)</b>	24.4 (10)	12.5 (4)	27.3 (3)	0.384	23.5 (4)	33.3 (7)	25 (1)	0.803
<b>HTA (%)</b>	31.7 (13)	34.4 (11)	54.5 (6)	0.375	58.8 (10)	42.9 (9)	75.0 (3)	0.412
<b>Diabetes(%)</b>	7.3 (3) <sup>+</sup>	12.5 (4)	27.3 (3)	0.316	35.3 (6) <sup>+</sup>	38.1 (8)	50.0 (2)	0.871
<b>Estatinas</b>	4.9 (2) <sup>+</sup>	12.5 (4) <sup>*</sup>	0 (0) <sup>*</sup>		75.6(12) <sup>+</sup>	66.6 (14) <sup>*</sup>	75.0 (3) <sup>*</sup>	0.944
<b>TAS (mmHg)</b>	113.1±15.5	112.5±9.2	114.3±12.5	0.929	113.4±8.9	114.3±9.5	120.0±0.0	0.412
<b>TA D(mmHg)</b>	67.7±11.0	73. ±9.5	69.2±8.2	0.518	70.8±8.1	69.9±8.0	75.0±5.8	0.513
<b>Colesterol Total (mg/dL)</b>	168.8±55.7	163.4±40.0	166.9±49.7*	0.899	152.4±47.1	149.2±55.8	129.3±53.3	0.727
<b>Triglicéridos</b>	151.2±57.5	158.8±80.3	184.0±110.7	0.475	183.6±97.3	162.9±85.6	162.5±105.3	0.776

(mg/dL)								
C-HDL (mg/dL)	38.7±10.9 <sup>+</sup>	37.8±9.9	33.5±11.2*	0.360	33.3±11.7	35.7±10.0	23.7±0.7	0.176
C-LDL (mg/dL)	103.8±41.3	91.0±26.4	96.6 ±35.3	0.337	92.2±50.8 <sup>+</sup>	83.0±37.7	97.0±5.7	0.787
Glucosa (mg/dL)	105.9±34.5	101.2±18.7*	108.9±26.3*	0.673	131.8±44.9	122.0±45.4*	154.0±63.5	0.292

TAS: Tensión arterial sistólica, TAD= tensión arterial diastólica, HTA: Hipertensión arterial, IMC: índice de masa corporal.  
\*\*p< 0.05 ANOVA comparación entre genotipos del mismo grupo, prueba Post Hoc: prueba tukey se compararon los genotipos del mismo grupo de estudio.  
Para la comparación entre genotipos por grupo de estudio se realizó una ANOVA p< 0.05: comparación <sup>+</sup>CC control vs CC EAC , <sup>\*</sup>CT control vs CT EAC, <sup>TT</sup> control vs TT EAC

En el caso del SNP de la UCP3 (tabla 17) al realizar el análisis genotípico por grupo de estudio, no se encontraron diferencias significativas al comparar las características clínicas dentro del mismo grupo de estudio por genotipo.

A pesar de que no se observaron diferencias significativas, que puede deberse a que la muestra es pequeña, se lograron observar ciertas tendencias en el grupo control, el genotipo TT tuvo valores más elevados de triglicéridos vs CC y CT (184.0±110.7 vs 151.2±57.5 y 158.8±80.3 mg/dL) y de glucosa (108.9±26.3 mg/dL vs 105.9±34.5 y 101.2±18.7 mg/dL), en tanto que los valores de C-HDL fueron más bajos (33.5±11.2 mg/dL vs 38.7±10.9 y 37.8±9.9 mg/dL); además de una mayor frecuencia de pacientes con hipertensión arterial (54.5% vs 34.4% y 31.7%) y diabetes (27.3% vs 12% y 7% respectivamente).

El grupo EAC el genotipo TT vs CC y CT, tuvo niveles más elevados de C-LDL (97.0±5.7 vs 92.2±50.8 y 80.0±37.7 mg/dL), glucosa (154.0±63.5 vs 131.8±44.9 y 122.0±45.4 mg/dL) y niveles menores de C-HDL (23.7±0.7 vs 33.3±11.7 y 35.7±10.0 mg/dL) y las frecuencia de pacientes con HTA (75% vs 59% y 42%) y diabetes (50% vs 35% y 38%) fueron nuevamente mayores para este genotipo.

Al comparar las características clínicas entre ambos grupos de estudio se determinó que en el genotipo TT los sujetos del grupo control tuvieron niveles más elevados (p<0.05) de C-HDL (33.5±11.2mg/dL) en comparación con el grupo EAC (23.7±0.7mg/dL).

Mientras que se pudo observar los niveles de glucosa plasmática (control: 108.9±26.3 vs EAC: 154.0±63.5 ), la frecuencia de pacientes con diabetes (control:27% vs EAC: 50 %) y los niveles de colesterol total (control: 166.9±49.7 vs EAC: 129.3±53.3 mg/dL) fueron significativamente mayores para el genotipo TT del grupo EAC vs grupo control, por lo que este genotipo TT en nuestra población de estudio puede estar relacionado con factores de riesgo relacionados con EAC, además de que este genotipo presenta

una alta frecuencia en nuestra población comparada con otras poblaciones del mundo (tabla 11) lo que podría aumentar la susceptibilidad de nuestra población a desarrollar EAC y sus diversos factores de riesgo, como diabetes y niveles bajos de C-HDL.

En numerosos estudios se ha propuesto que el SNP en la posición -55 en la región promotora del gen de la UCP3 está relacionado con obesidad y DM2; Schrauwen y cols. reportaron que el alelo T se relaciona un aumento en la expresión de mRNA en UCP3 en músculo esquelético<sup>56</sup> en comparación con el alelo C, por lo tanto se esperaría que hubiera un aumento en la expresión de la proteína y que los pacientes con el genotipo TT tuvieran un IMC menor debido a un aumento en el desacoplamiento mitocondrial y por lo tanto a un aumento en el gasto energético, pero en el presente estudio no se encontraron diferencias significativas que permitieran determinar esta relación. También se ha asociado al alelo T con un aumento en los niveles de C-HDL, aunque en nuestra población se observó el fenómeno contrario<sup>57,70</sup> Lo que puede deberse a las diferentes frecuencias poblacionales, tal es el caso de la población afroamericana reportada por Kimm y cols<sup>57</sup>, o por la influencia de factores ambientales y estilo de vida en el caso de la población japonesa<sup>70</sup> que presenta una frecuencia genotípica muy semejante a la nuestra.

En otro estudio, el alelo T fue asociado con una disminución del riesgo de DM2 y con altos niveles de colesterol total y C-LDL en plasma en comparación con otros genotipos<sup>82</sup>, sin embargo, estos datos son contradictorios con los obtenidos en el presente trabajo donde se halló que los pacientes con genotipo TT tanto del grupo control como del EAC tiene niveles elevados de glucosa y una mayor frecuencia de pacientes con diabetes mellitus en comparación con los otros dos genotipos. En otros estudios, no se encontró una asociación entre el SNP -55 C/T UCP3 y gasto energético, obesidad, IMC, secreción de insulina o DM2<sup>86-89</sup>.

Las discrepancias entre los estudios que se han reportado hasta ahora y el nuestro pueden ser explicadas en parte porque estos fueron conducidos en diferentes poblaciones del mundo, las cuales muestran diferentes frecuencias genotípicas además de que los factores ambientales pueden influir en los resultados encontrados.

- **Análisis de asociación múltiple de los polimorfismos estudiados.**

Finalmente, se realizó el análisis de asociación múltiple de los SNPs de las UCP's (*UCP1* -3825, *UCP2* – 866, *UCP3* – 55) tanto para los pacientes como para los sujetos control. Los resultados se muestran en la tabla 18. El riesgo para cada haplotipo se comparó con respecto a la combinación de polimorfismos más frecuente en la población de estudio.

**Tabla 18.** Análisis de asociación múltiple para los SNP *UCP1* -3825, *UCP2* – 866, *UCP3* – 55, ajustado por sexo, edad e IMC en pacientes con EAC y el grupo control.

	Polimorfismos			Frecuencias			p	OR 95% (IC)
	-3826 <i>UCP1</i>	-866 <i>UCP2</i>	-55 <i>UCP3</i>	Grupo EAC	Grupo control	Total		
1	G	G	C	0.212	0.199	0.210	-----	NS
2	A	A	C	0.127	0.225	0.204	0.24	NS
3	G	A	C	0.142	0.1455	0.136	0.22	NS
4	A	G	C	0.173	0.109	0.120	0.077	NS
5	A	A	T	0.122	0.096	0.102	0.024	0.03 (0.00 - 0.61)
6	G	A	T	0.094	0.082	0.086	0.81	NS
7	G	G	T	0.086	0.081	0.084	0.15	NS
8	A	G	T	0.042	0.061	0.057	0.03	16.10 (1.35 - 191.69)

\*p < 0.05, OR: Razón de momios, IC: intervalo de confianza. Modelo de regresión logística ajustado por edad. Sexo e IMC usada para calcular el OR (95% IC)

Se observaron diferencias estadísticamente significativas para la combinación A A T, (p= 0.024,) se observó que el grupo EAC tiene una frecuencia 3% mayor para esta combinación en comparación con el grupo control (12.2% vs 9.6%), con un OR de 0.03 (IC 95% 0.00 - 0.61) lo que indica que este haplotipo podría ser protector en contra de la EAC, pero solo el 10.2% de la población total en nuestra población presenta este haplotipo.

En la combinación A G T (p<0.03), se observaron diferencias significativas en las frecuencias, en la que el grupo con EAC presentó 4.2% mientras que el grupo control

presentó una frecuencia de 6.1 %, con un OR de 16.1 (IC 95%1.35 - 191.69) lo que indica que este haplotipo está asociado con la presencia de EAC, aunque la frecuencia en nuestra población de estudio es baja (5.7%), lo que representa un factor que aunado al estilo de vida y factores ambientales contribuyen al desarrollo de EAC en nuestra población. De igual manera el grupo de estudio HIFMECH que realizó un estudio de seguimiento durante 10 años, determino que los hombres caucásicos portadores de las variantes *UCP2* -866 A y *UCP3* -55 T tienen un alto riesgo de desarrollar diabetes mellitus<sup>83</sup>, que es un factor de riesgo de EAC. Sin embargo, el haplotipo del alelo A de la *UCP2* y el alelo C de la *UCP3* puede proteger contra la resistencia a la insulina, esto se observó en niños españoles obesos y población adolescente<sup>84</sup>, estos resultados difieren con lo encontrado en nuestro estudio pero eso puede deberse a que en nuestro estudio se realiza la asociación del SNP de la *UCP1*, *UCP2* y *UCP3* con el desarrollo de EAC, mientras que en el reportado en niños españoles obesos se hace solo con los dos últimos, además de que es una población caucasica que muestra diferencias significativas en las frecuencias genotípicas y que el estilo de vida también puede influir el desarrollo de esta enfermedad de origen multifactorial.

A través de la realización del estudio de asociación múltiple se pudo detectar un haplotipo (AGT) que está relacionado con EAC en nuestra población, ya que con el análisis de asociación por cada uno de los polimorfismos no se pudo detectar ninguna relación.

La gran mayoría de los estudios realizados se han enfocado en investigar una posible asociación de los polimorfismo de las *UCP1*, *UCP2* y *UCP3* con obesidad, DM2, EAC y enfermedades relacionados con lípidos y lipoproteínas, sin embargo han mostrado resultados controversiales, dependiendo de la población o raza de estudio. Esto demuestra que factores como: grupos étnicos, estilos de vida, factores ambientales, , edad, género y características nutricionales de la población aunados a los factores genéticos, da como resultado variaciones en el efecto de estos polimorfismos sobre la obesidad, EAC, DM2 y metabolismo de lípidos. Las mutaciones en estos genes, puede cambiar la actividad o expresión de las UCPs y puede disminuir el gasto energético basal por variación del acoplamiento de la fosforilación oxidativa.

## **IX. Conclusiones.**

Para nuestro conocimiento, este es el primer reporte en nuestro país en el que se estudia la relación de los polimorfismos genéticos de las UCP's (UCP1 -3826 A/G, UCP2 -866 G/A y UCP3 -55 C/T) en la región promotora con el desarrollo de EAC y con factores de riesgo asociados a este padecimiento.

En cuanto al SNP de la UCP1 -3826 A/G, se pudo determinar que el genotipo AA está relacionado con niveles disminuidos de C-HDL tanto en pacientes valvulares como en pacientes con enfermedad arterial coronaria, además de que se encontró que los sujetos con este genotipo tienen IMC, niveles de C-LDL, Colesterol total y triglicéridos más elevados vs GG y GA, así como una mayor frecuencia de pacientes con diabetes mellitus, hipertensión arterial y tabaquismo por lo que este genotipo en nuestra población puede estar asociado con los factores de riesgo que conllevan al desarrollo de EAC.

En el caso del SNP de la UCP2 -866 G/A se encontró que el genotipo GG está relacionado con niveles elevados de triglicéridos en comparación con GG y GA tanto en pacientes valvulares como en pacientes con EAC. También se pudo observar que hay una asociación entre el alelo G con diabetes mellitus y altos niveles de glucosa en pacientes con EAC.

En tanto que el polimorfismo UCP3 -55 C/T, se pudo determinar que el genotipo TT está asociado con altos niveles de triglicéridos en comparación con CC y CT, además de que los sujetos con EAC con este genotipo presentaron niveles más elevados de glucosa, C-LDL y niveles menores de c-HDL. La frecuencia de pacientes con hipertensión arterial y diabetes mellitus fue mayor en los sujetos con el genotipo TT vs CC y CT en ambos grupos de estudio, por lo que el genotipo TT puede estar relacionado con los factores de riesgo de EAC. También se logró determinar que la frecuencia de este genotipo y del alelo T es muy alta en comparación con otras poblaciones del mundo.

Se encontró que el haplotipo (AGT) está relacionado con la EAC y su frecuencia en nuestra población de estudio es de 5.7% (OR=16.10, IC 95%: 1.35 - 191.69) mientras

que el haplotipo (AAT) desempeña un papel protector contra la EAC (OR= 0.03, IC 95%: 0.00 - 0.61) con una frecuencia de 10.2%.

## X. Referencias bibliográficas:

1. Reaven G. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988;37:1595-607.
2. Morales Villegas E, Síndrome X vs síndrome metabólico: Entendiendo sus coincidencias y sus diferencias hacia una "nueva cardiología". *Arch. Cardiol. Méx*, (2006) 76: 173-188
3. Haffner C, Peter W. M, Packard CJ, Cobbe SM , Sattar JN, Gaw A, Scherbakova A , Ford ,. O'Reilly DSTJ, Steven M, Metabolic Syndrome With and Without C-Reactive Protein as a Predictor of Coronary Heart Disease and Diabetes in the West of Scotland Coronary Prevention study, *Circulation* (2003) 29: 414-419
4. Fujiwara s, Emoto M, Komatsu M, Motoyama K, Morioka T, Koyama H, Shoji t, Inaba M, Nishizawa Y, Arterial wall thickness is associated with insulin resistance in type 2 diabetic patients, *Journal of atherosclerosis and Thrombosis*, 10 (2003) 4:246-252.
5. Vian azzu, The regulation and turnover of mitochondrial uncoupling proteins, *Biochimica et Biophysica Acta* 1797 (2010) 785-791.
6. Groop L, Orho-Melander M. The dysmetabolic syndrome. *J Intern Med.* 2001;250:105-120.
7. Posadas Romero, *Dislipidemias y Aterosclerosis*, Ed. Interamericana. McGraw-Hill, 1ª Edición, México 1995, pp. 1-22.
8. Assmann G, Cullen P, Schulte H., The Múnster Heart study (Procamb) Results of follow up at 8 years, *European Heart journal*, Feb 1998, 19 suppl A:A2-1-
9. Wilson, et. Al, *Harrison Principios de Medicina Interna*, Edición 12, editorial Interamericana McGraw-Hill, Vol. I, pp. 1149-1156.
10. Baynes JW, Dominiczak MH, *Bioquímica médica*, ed. Elsevier, España 2005, pp.703
11. Miguel angel Ruiz Jimenez, factores de riesgo cardiovascular en niños y adolescentes, ediciones Diaz de Santos, 2005, pp 2-8
12. Ruesga Zamora Alejandro, et al, *Cardiología*, Ed Manual moderno, Mexico, 1-9.



13. Velázquez O, Peralta Martín, Lara Esqueda A, Pastelín Hernández G, Grupo Ensa 20, Attié Fause, Tapia Conyer Roberto, Hipertensión arterial en México: resultados de la encuesta nacional de salud 2000. Arch Cardiol Mex, 2003: 73:62-77
14. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/index.html>, 22 enero 2011
15. <http://www.dof.gob.mx/documentos/3868/Salud/Salud.htm> consultado el 24 enero 2011.
16. Haffner Steve Lehto Seppo, Rönnemaa Tapani, Pyörälä Kalevi, Laakso Markku, Mortality From coronary Heart Disease in subjects with type 2 Diabetes and in non diabetic subjects with and without prior myocardial infarction, The New England Journal of Medicine, 4 (339) 229-234
17. López García-Aranda V, García Rubira JC. Tabaco y enfermedad coronaria. Rev Lat Cardiol 2001, 22: 242-8.
18. López García-Aranda, Víctor; García Rubira, Juan Carlos, Tabaco y enfermedad cardiovascular, revista adicciones; 2004 (16) S2: p. 101-113.
19. Secretaría de Salud. INEGI Anuarios de Mortalidad. 1990-2003, 2004 (preliminar). México.
20. Argyropoulos G, Harper ME. Uncoupling proteins and thermoregulation, journal applied physiologic, 2002: 92: 2187-98
21. Jean Himms-Hagen, Brown Adipose tissue thermogenesis and obesity, prog. -- Lipid Res, Vol 28, pp67-115, 1989.
22. Voet D, Voet J, Bioquímica, Ed. Médica Panamericana, 2006, pp.637.
23. Lowell B, Spiegelman B, Towards a molecular understanding of adaptive thermogenesis, Nature (2000) 404:652-660.
24. Peter Mitchell, Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemi-Adams of mechanism, Nature (1961) 191: pp. 144–148.
25. Adams S, Uncoupling protein homologs; emerging views of physiological function, J nutr, (2000) 130:711-714.
26. X.X. Yu, J.L. Barger, B.B. Boyer, M.D. Brand, G. Pan, S.H. Adams, Impact of endotoxin on UCP homolog mRNA abundance, thermoregulation, and

- mitochondrial proton leak kinetics, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 279 (2000) 433–446.F
27. Fleury c, Neverova m, Collin, Raimbault, s; Champigny O, Levi. Meyrueis c, Bouillaud, f Seldin, m.f. Surwit R. S., Ricquier, D; Warden, C. ; Uncoupling protein 2, a novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia, *Nature Genetics* , 15:269-272; 1997.
  28. Boss o, Bobbioni.Harsh E. Assimocopoulos.Jeannet F, Muzzin P, ;Munger R, Giacobino JP, Golay A, Uncoupling protein 3 expression in skeletal muscle and free fatty acids in obesity, *Lancet* 351(1998) 9120:1933.
  29. Lean, Brown adipose tissue in humens, *Proc. Nutr. Soc.* 48 (1989) 243-256,; f. Boyillaud, E. Couplan. Et al. Homologues of the uncoupling protein from Brown adipose tissue (UCP1): UCP2, UCP3 BMCP1 and UCP4, *Biochim. Biophys. Acta* 1504 (2001) 107-119
  30. G. Garruti, d. Ricquier, Analysis of uncoupling protein and its mRNA in adipose tissue deposits of adult humans. *Int. J. obes. Rel metab. Disord.* 16 (1992)383-390)
  31. Huttunen P., Hirvonen J, Kinnula V, The occurrence of Brown adipose tissue in outdoor workers, *European Journal Applied of Physiology* 46 (1981) 339-345
  32. Oberkofler, Uncoupling protein gene: quantification of expression levels in adipose tissue of obese and non obese humans, *j. lipid. Research*38(1997) 2125-2133.
  33. Echaty Ks, Winkler, E. Klingenberg. Coenzyme Q is an obligatory cofactor for uncoupling protein function, *nature* 408 (2000) 6029-613.
  34. Jaburek M, Varecha M, Gimeno R, Dembski M, Jezeki P, Zhang M, Burn P, Tartaglia L, Garlid k, Transport, function and regulation of UCP2 and 3, *Journal Biological Chemistry* 274(1999) 26003-26007.
  35. Archeaga, Ledesma, Rial E., The micochondrial uncoupling protein UCP1: a gated pore, *IUBMB life*, 52 (2001) 165-173.
  36. Schrauwen P, Walder K, Ravussin E. Human uncoupling proteins and obesity. *Obes Res* 1999; 7: 97-105.

37. Bernal-Mizrachi C, Weng S, Li B, Nolte L, Feng C, Coleman T, Holloszy J, Semenkovich C. Respiratory uncoupling lowers blood pressure through a leptin dependent mechanism in genetically obese mice, *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 961-968.
38. Ledesma A, Garcia de Lacoba Rial E, The mitochondrial uncoupling proteins, protein family review, *genome Biology*, 3(2002) 12:3015.1-3015.9.
39. Earlanson-Albertsson, The role of uncoupling proteins in the regulation of metabolism, *Acta Physiologica Scandinavica* 178 (2003) 4:405-412.
40. Adams S. Uncoupling protein homologs: emerging views of the physiological function. *The Journal of Nutrition* ( 2000) 130: 711-714
41. Echtay Karim S; Murphy Michael P; Smith Robin A J; Talbot Darren A; Brand Martin D, Superoxide activates mitochondrial uncoupling protein 2 from the matrix side. Studies using targeted antioxidants. *The Journal of biological chemistry* 277 (2002)49:47129-35.
42. Diehl AM, Hoek JB, Mitochondrial uncoupling protein anion carriers and relationships to thermogenesis and control weight "The benefits of losing control" *J Bioenerg Biomembr* (1999) 31:493-506.
43. Alves- Guerra, Rousset S, Pecqueur S, Mallat A, Blanc j, Tedguis a, Bouillaud F, Cassard-Doulcier AM, Ricquier D, Miroux B, Bone Marrow Transplantation Reveals the in Vivo Expression of the Mitochondrial Uncoupling Protein 2 in Immune and Nonimmune Cells during Inflammation, *Journal Biological of Chemistry*, (2003) 278: 42307-42312.
44. Collins, J.Pi, Bai, Persistent oxidative stress due to absence of uncoupling protein 2 associated with impaired pancreatic beta cell function, *Endocrinology* 150 (2009)3040-3048.
45. Akami SM, Heidari J, Heshmat R, Amiri P, Fakhrzadeh H, Pajouhi M, the common polymorphisms of the UCP2 gene in healthy Iranians compared with world populations, *Human Biology* 79(2007) 1:103-10.
46. Gong DW, HeY, Reitman ML, Genomic Organization and regulation by dietary fat of the uncoupling protein 2 and 3 genes. *Biochem Biophys Res Commun* (1999) 256:27-32.

47. Solanes G, Vial-Puig, Grujic D, Flier JS, Lowell BB, The human uncoupling protein 3 gene, *Journal Biological Chemistry* (1997) 272:25433-25436.
48. Miranda Nabben, Joris Hoeks, Mitochondrial Uncoupling protein 3 and its role in cardiac and skeletal muscle metabolism, *Physiology & behavior* 94 (2008) 256-69.
49. Bosscher, Bobbioni-Harsh E, Assimacopoulos-Jeannet F, Muzzin P, Munger R, Giacobino JP, Golay A, Uncoupling protein 3 expression in skeletal muscle and free fatty acids in obesity, *Lancet* 351(1998) 9120:1933.
50. Solanes G, Pedraza N, Iglesias R, Giralt M, Villarroya A F, Functional relationship between MyoD and peroxisome proliferator activated receptor-dependent regulatory pathways in the control of the human uncoupling protein 3 gene transcription, *Molecular Endocrinology* (2003) 17:1944-58.
51. Vliet A, Maedler K, Shulman GI, Haataja L, UCP-2 and UCP3 proteins are differentially regulated in pancreatic beta cells, *PLoS ONE* 2008;3:e1397.
52. Hocks J., Hesseom MK, Van Bilsen M, Schaart G, Van der Vusse GJ, Saris WH, Schrauwen P, Differential response of ucp3 medium versus long chain triacylglycerols; manifestation or a functional adaptation, *FEBS Letter* 555 (2003) 631-637.
53. Cunningham O, McElligott AM, Carroll AM, Breen E, Reguenga E, Oliveira M, Acevedo J, Porter R, Selective detection of UCP 3 expression in skeletal muscle: effect of thyroid status and temperature acclimation, *Biochimica et Biophysica Acta Bioenergetics*, 3 (2003) 1604:170-179 .
54. Clapham JC, Archer JR, Chapman H, Haynes A, Herrityk N, Lister C, Moore GB, Piercy V, Carter SA, Lehner I, Smith S, Beeley I, Godden, Skehel M, Cangani K, Hockings PD, Reid D, Squires S, Hatcher J, Trail B, Latch J, Rastan S, Harper AJ, Cadenas A, Buckingham J, Mice overexpressing human uncoupling protein-3 in skeletal muscle are hyperphagic and lean, *Nature* 2000; 406:415-8.
55. Solanes, N. Pedraza, V. Calvo, A. J. Vidal-Puig, B.B. Lowell, F, Villarroya, Thyroid hormones directly activate the expression of the human and mouse uncoupling protein 3 genes through a thyroid response element in the proximal promoter region, *Biochem J* 386 (2005) 505-513.

56. Schrauwen P, Xia J, Walder K, Snitker S, Ravussin E. A novel polymorphism in the proximal UCP3 promoter region: effect on skeletal muscle UCP3 mRNA expression and obesity in male nondiabetic Pima Indians. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999; 23: 1242–1245.
57. Kimm SY, Glynn W, Aston CE, Damcott CM, Poehlman ET, Daniels SR, Ferrell RE. Racial differences in the relation between uncoupling protein genes and resting energy expenditure. *Am J Clin Nutr* 2002; 75: 714–719.
58. Kopelman PG, Obesity as a medical problem, *Nature* 200;404:635-43.
59. The Expert Panel. Third Report of National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (adults Treatment Panel III). Final report. *Circulation* 2002;106:3143-3421
60. Maas A. H. E M., Aplelman Y. E. A., Gender differences in coronary heart disease, *Netherlands Heart journal*, vol. 18, no. 12, 2010.
61. Rang H.P., *Farmacologia*, Ed. Elsevier, sexta edición 2008, España, pp. 8326.
62. Kotani K, Sakane N, Saiga K, Seiji A, hisashi S, Haosheng M, Kurozawa Y, Relationship between A-3826G polymorphism in the promoter of the uncoupling protein1 gene and Hig-density Lipoprotein colesterol in Japanese Individuals: A cross.sectional study, *Archives of medical research*.
63. Herrmann Martin S, Wang JG, Staessen JA, Kertmen E, Schmidt PK, Zidec W, Martin P, Brand E, Uncoupling protein 1 and 3 polymorphism are associated with wais to hip ratio, *J Mol Med* (2003)81:327-332.
64. Rudofsky G, Schroedter a, Shlotterer A, Voron'ko O, Schlimme M, Tafel J, Isermann B, Humpert P, Morocos M, Bierhaus a, Nawroth P, Hamman a, Functional polymorphisms of UCP2 and UCP3 are associated with a reduced prevalence of diabetic neuropathy in patients with type 1 diabetes, *Diabetes care*, 29 (2006) 89-94.
65. Sale M, Hsu F-C, Palmer n, Gordon C, Keene K, Borgerink h, Sharma A, Bergman R, Taylor K, Saad M, Norris J, The uncoupling protein 1 gene, UCP1, is expressed in mammalian islet cells and associated with acute insulin response to

- glucose in African American families from the IRAS Family Study, *BMC Endocrine Disorders*, 29 (2007) 1:89-94.
66. Franco-Hincapié L; Duque CE; Parra M V; Gallego N; Villegas A; Ruiz-Linares, A; Bedoya G, Asociación de variantes en genes de las proteínas desacoplantes con diabetes mellitus tipo 2 en una población del nordeste colombiano, *Biomédica*, . 29 (2009) 1:108-118.
67. Hye-Ja Lee, Ha-Jung Ryu, Associations between polymorphisms in the mitochondrial uncoupling proteins with T2DM, *Clinica Chimica Acta*, (2008) 398, 27-33.
68. Srivastava N, Prakash J, Lakhan R, Agarwal CG, Pant DC, Nalraj Mittal, A common polymorphism in the promoter of UCP2 is associated with obesity and hyperinsulinemia in northern Indians, *Mol Cell Biochem* (2010) 337:293–298.
69. Kovacs P, R. L. Hanson . P. Franks . M. Stumvoll . C. Bogardus . L. J. Baier, Genetic variation in UCP2 (uncoupling protein-2) is associated with energy metabolism in Pima Indians, *Diabetologia* (2005) 48: 2292–2295.
70. Hamada T, Kotani K, Fujiwara S, Sano Y, Domichi M, Tsuzaki K, Sakane N. The common -55C/T polymorphism in the promoter region of the uncoupling protein 3 gene reduces prevalence of obesity and elevates serum high-density lipoprotein cholesterol levels in the general Japanese population. *Metabolism* 2008; 57: 410–415.
71. Cardoso R, Queliconi B, Kowaltowski, Mitochondrial ion transport pathways: Role in metabolic diseases *Biochimica et Biophysica acta* 1797 (2010)832-838.).
72. Murray AJ, Anderson RE, Watson GC, Radda GK, Clarke K, Uncoupling proteins in human heart, *Lancet* 2004;364:1786-8
73. Esterbauer H, Oberkofler H, Liu YM, Breban D. Hell E, Krempler F, Patsch W (1998) Uncoupling protein-1 mRNA expression in obese human subjects: the role or sequence variations at the uncoupling protein-1 gene locus, *J Lipid Res* 39:834-844.
74. Proenza AM, Poissonnet CM, Ozata M et. Al (2000) Association of sets of alleles of genes encoding beta3-adrenoreceptor, uncoupling protein 1 and lipoprotein

- lipase with increased risk of metabolic complications in obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 24:93-100.
75. Oh HH, Kim Ks, Choi SM, Yang HS, Yoon Y (2004) The effects of uncoupling protein-1 phenotype on lipoprotein cholesterol level in Korean obese subjects. *Metabolism* 53:1054-1059.
  76. Shin Dh, Kim sK, cha M H, Yoon Y, The effect of UCP1 polymorphism on obesity phenotypes among Korean female subjects, *Biochemical and Biophysical Communications* 335 (2005) 624-630.
  77. Clement K. ruiz J, Cassard-Doulcier AM, Bouillaud F, Ricquier d, Basdevant A, Guy-Grand B, Froguel P, Additive effect of A- G (-3826) variant of the uncoupling protein gene and the Trp64Arg mutation of the beta 3-adrenergic receptor gene on weight gain in morbid obesity. *Int J Obes Relat Metab disord* (1996) 20:1062-1066.
  78. Valve R, Heikkinen S, Rissanen A, Laakso M, Uusitupa M, synergistic effect of polymorphism in uncoupling protein 1 and beta3-adrenergic receptor genes on basal metabolic rate in obese finnis, *diabetologia* (1998) 41:357-361.
  79. Fogelholm M, Valve R, Kukkonen-Harjula K, Nenonen a, Hakkarainen V, Laakso M, Uusitupa M, additive effects of the mutations in beta3-adrenergic receptor and uncoupling protein-1 genes on weight loss and weight maintenance in Finnish women, *J Clin endocrinol metab* (1998) 83: 4246-4250.
  80. Reis AF, Dubois-Laforgue D, Bellanné-Chantelot C, Timsit J, Velho G, A polymorphism in the promoter of UCP2 gene modulates lipid levels in patients with type 2, *Diabetes. Molecular genetics and metabolism*, 2004 Aug;82(4):339-44.
  81. Krempler F, Esterbauer H, Weitgasser R, Ebenbichler C, Patsch JR, Miller K, Xie M, Linnemayr V, Oberkofler H, Patsch W. A functional polymorphism in the promoter of UCP2 enhances obesity risk but reduces type 2 diabetes risk in obese middle-aged humans. *Diabetes* 2002; 51: 3331–3335.
  82. Bulotta A, Ludovico O, Coco A, Di Paola R, Quattrone A, Carella M, Pellegrini F, Prudente S, Trischitta V. The common -866G/A polymorphism in the promoter

- region of the UCP-2 gene is associated with reduced risk of type 2 diabetes in Caucasians from Italy. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 1176–1180.
83. Gable DR, Stephens JW, Cooper JA, Miller GJ, Humphries SE, Variation in the UCP2-UCP3 gene cluster predicts the development of type 2 diabetes in healthy middle aged men, *diabetes* 2006; 55: 1504-11
84. Ochoa MC, Santos JL, Azcona C, et. Al, Association between obesity and insulin resistance with UCP2-UCP3 gene variants in Spanish children and adolescents *Mol Genet Metab* 2007;92: 351-358.
85. Liu YJ, Long PY, Lu Y, Elze L, Recker RR, Deng HW. Linkage and association analyses of the UCP3 gene with obesity phenotypes in Caucasian families. *Physiol Genomics* 2005; 22: 197–203.
86. Walder K, Norman RA, Hanson RL, Schrauwen P, Neverova M, Jenkinson CP, Easlick J, Warden CH, Pecqueur C, Raimbault S, Ricquier D, Harper M, Silver K, Shuldiner AR, Solanes G, Lowell BB, Chung WK, Leibel RL, Pratley R, Ravussin E. Association between uncoupling protein polymorphisms (UCP2-UCP3) and energy metabolism/obesity in Pima Indians. *Hum Mol Genet* 1998; 7: 1431–1435
87. Dalgard LT, Andersen G, Larsen LH, Sorensen TI, Andersen T, Drivsholm T, Borch-Johnsen K, Fleckner J, Hansen T, Din N, Pedersen O. Mutational analysis of the UCP2 core promoter and relationships of variants with obesity. *Obes Res* 2003; 11: 1420–1427
88. Hsu YH, Niu T, Song Y, Tinker L, Kuller LH, Liu S. Genetic variants in the UCP2-UCP3 gene cluster and risk of diabetes in the women's health initiative observational study. *Diabetes* 2008; 57:1101–1107
89. Berentzen T, Dalgard LT, Petersen L, Sørensen TIA. Interactions between physical activity and variants of the genes encoding uncoupling proteins-2 and -3 in relation to body weight changes during a 10-year follow-up. *Int J Obes Relat etab Disord* 2005;29: 93–99.49.
90. Cheurfa N, Dubois-Laforgue D, Ferrarezi AFD, Reis A, Brenner GM, Bouché C, Le Feuvre C, Fumeron F, Timsit J, Marre M, Velho G, The common -866 GA variant in the promoter of coronary artery disease in type 2 diabetic men, *diabetes*, (2008) 57:1063-1068.



91. G Vargas-Alarcon, J Londono, G Hernandez-Pacheco, R Gamboa, E Castillo, C Pacheco-Tena, M Cardiel, J Granados, and R Burgos-Vargas Ann, Heat shock protein 70 gene polymorphisms in Mexican patients with spondyloarthropathies Rheum Dis. (2002) 61: 48–51.
92. Vargas-Alarcón G, Gamboa R, Zuñiga J, Fragoso JM, Hernández-Pacheco G, Londoño J, Pacheco-Tena C, Cardiel MH, Granados J, Burgos-Vargas R, Association study of LMP gene polymorphisms in Mexican patients with spondyloarthritis.. Hum Immunol. 65(2004) 12:1437-1442.
93. Gamboa R, Huesca-Gómez C, Pérez-Méndez O, Cruz-Robles D, Fragoso JM, Juarez-Cedillo T, Vallejo M, Posadas-Romero C, Vargas-Alarcón G. Apolipoprotein E polymorphisms in Mexican patients with coronary artery disease. Clin Chem Lab Med. (2008) 46:481-485.
94. Vargas-Alarcón, G, Hernández-Pacheco G, Rodríguez - Pérez, JM, Pérez - Hernández N, Pavon Z, Fragoso JM, Juárez-Cedillo T, Villarreal-Garza C, Granados J, Angiotensin-Converting Enzyme Gene (ACE) Insertion/Deletion Polymorphism in Mexican Populations, Human Biology (2003) 75: 889-896.
95. Posadas-Romero C, Posadas-Sánchez R, Juárez-Rojas JG, Medina-Urrutia A, Jorge-Galarza E, Cardoso-Saldaña G, Alteraciones de las lipoproteínas de alta y baja densidad en pacientes coronarios con C-LDL en meta pero C-HDL y triglicéridos anormales. Arch. Cardiol. Méx. (2008) Mar [citado 2011 Abr 07] ; 78(1): 30-39
96. Aguilar-Salinas CA, Gómez-Pérez FJ, Rull J, Villalpando S, Barquera S, Rojas R. Prevalence of dyslipidemias in the Mexican National Health and Nutrition Survey 2006. Salud Publica Mex 2010;52 suppl 1:S44-S53).
97. Sole X, Guino E, Valls J, Iniesta R, Moreno V, Bioinformatics 2006 22: 1928-1929.
98. Rodríguez JA, Orbe J, Páramo JA, Metaloproteasas, remodelado vascular y síndromes aterotrombóticos, Rev Esp Cardiol. 2007;60:959-67
99. De Dominiczak MH, Obesity, glucose intolerance and diabetes, and their links to cardiovascular disease. Implications for laboratory medicine. Clin Chem Lab Med 2003: 41: 1266-1278.

100. <http://www.framinghamheartstudy.org/about/spanish.html>, Framingham Heart study, consultado en febrero del 2011.
101. <http://c.1asphost.com/biologico/clase11.html>, consultado en febrero del 2011.
102. Gura T, uncoupling proteins provide new clue to obesity's causes. *Science*, (1998) 280, 1369-1370.
103. Palmieri Ferdinando, The mitochondrial transporter family (SLC25): physiological and pathological implications, *Arch Eur J Physiol* (2004) 447:689-709.
104. Juan J, López-Ibor aliño, Valdes Miyar M, DSM-IV-TR, Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales, ed. Masson, 2008, España. Pp1049.

**XII. Apéndice.**

**Apéndice A.**

**INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGIA “IGNACIO  
CHAVEZ”**

**CONSENTIMIENTO INFORMADO**

**Nombre del Paciente** \_\_\_\_\_

**Domicilio:**

\_\_\_\_\_

**Teléfono casa:** \_\_\_\_\_ **cel.** \_\_\_\_\_

**No. expediente/afiliación:** \_\_\_\_\_

Por medio de la presente doy mi consentimiento para participar de manera voluntaria y sin percepción económica alguna, en el protocolo de investigación intitulado “”.

Por lo cual acepto donar que me sea tomada una muestra de sangre y de grasa epicardica durante el procedimiento quirúrgico al cual voy a ser sometido. Entiendo que los datos generados así como el nombre (s) de (los) participante (s) son totalmente confidenciales y anónimos.

Me han explicado la importancia y utilidad de la investigación, así mismo he comprendido las explicaciones las cuales se me han dado de manera clara y sencilla, y que el médico que me ha atendido me ha permitido realizar todas las observaciones y me ha aclarado todas las dudas que le he planteado. También comprendo que, en cualquier momento y sin necesidad de dar explicación alguna puedo revocar el consentimiento que ahora presto.

\_\_\_\_\_  
NOMBRE Y FIRMA DEL RESPONSABLE  
DEL PROYECTO

\_\_\_\_\_  
NOMBRE Y FIRMA DEL PACIENTE

\_\_\_\_\_  
NOMBRE Y FIRMA DEL TESTIGO

\_\_\_\_\_  
NOMBRE Y FIRMA DEL TESTIGO

MEXICO D.F. A \_\_\_\_\_ DEL MES DE \_\_\_\_\_ DE 201

## Apendice B.

- **Técnica de obtención de DNA por el método de precipitación Salina.**
  1. Recolectar 8 mL de sangre total periférica con anticoagulante (EDTA).
  2. En un tubo falcon de 15 mL poner 6 mL de solución de lisis (SLR 1X) y vaciar toda la sangre. Mezclar vigorosamente la solución.
  3. Centrifugar la solución a 2000 rpm/ 10 minutos. Quitar el sobrenadante con una pipeta, hacer esto cuidadosamente, sin tocar el paquete.
  4. Agregar nuevamente la solución de lisis SLR 1X hasta 14 mL, mezclar vigorosamente y centrifugar a 2000 rpm/10 minutos.
  5. Retirar el sobrenadante sin tocar el paquete. En este paso se puede invertir el tubo y dejar escurrir. Repetir los lavados hasta que el paquete este completamente limpio, deberá tener una coloración blanca.
  6. Agregar al tubo falcon, 260 mL de agua estéril; 160 µL de amortiguador de proteinasa K; 40 µL de proteinasa K.
  7. Resuspender el paquete con la solución. Transferir a un tubo eppendorf de 1.5 mL previamente marcado. Mezclar vigorosamente.
  8. Incubar a 37 °C toda la noche o a 55 °C durante 3-4 horas (en este caso agregar a 20µL mas proteinasa).
  9. Una vez que haya finalizado la incubación agregar 240 µL de NaCl 5M. Mezclar vigorosamente. Centrifugar a 14000 rpm/10 minutos.
  10. Recuperar el sobrenadante en otro tubo Eppendorf previamente marcado sin tomar el precipitado.
  11. Centrifugar nuevamente a 14 000 / 10 minutos. Recuperar el sobrenadante. Repetir este paso hasta que el sobrenadante no tenga sedimentos.
  12. Agregar etanol frio al 95 % e invertir el tubo hasta que aparezca un precipitado blanco (DNA). Se recomienda dejarlo en el congelador unos minutos.
  13. Centrifugar a 14000/10 minutos. Eliminar el sobrenadante por decantación y agregar etanol frio al 70% (Lavado)
  14. Centrifugar nuevamente a 14 000 rpm / 5 minutos. Eliminar el sobrenadante por decantación y dejar escurrir el tubo boca abajo.
  15. Secar el tubo a 37 °C o en el concentrador de DNA.
  16. Agregar de 50 a 100 µL de agua estéril y dejar a temperatura ambiente durante 2 horas hasta que se re suspenda el DNA en el agua.
  17. Medir la absorbencia del DNA a 260 nm y la absorbencia de las proteínas a 280 nm, la relación entre las absorbencias (260/280) para obtener la pureza, para que una muestra sea considerada pura el valor debe estar entre 1.7-1.8.

Procedimiento para ajustar el DNA

$$(Abs_{260nm}) \times (50 \text{ ng}) \times (100 \mu\text{L}^{-1}) = (\text{ng}/\mu\text{L}) \times (\text{Vol total del tubo}) \\ = \text{ng totales en el tubo}$$

Para ajustar a 200 ng/µL dividir los ng totales entre 200 y al resultado restarle el volumen total del tubo eppendorf y ese valor es que que hay que agregar de TE al tubo para ajustar la concentración del DNA a 200 ng/µL.

UDO; unidad de densidad óptica a 260 nm= 50 ngX 100µL (Vol. De dilución)= 5000.

## Apéndice C:

### Amplificación por PCR.

En un tubo matriz se coloca la mezcla de reacción para posteriormente distribuir la en los tubos Eppendorf de 200  $\mu$ L para PCR

Reactivos	Volumen ( $\mu$ L)
Mezcla de dNTPs [1.25 mM]	4
Amortiguador libre de Mg [10 X]	2.5
MgCl <sub>2</sub> [25 mM]	1.5
Iniciador Forward [10 $\mu$ M]	2.5
Iniciador Reverse [10 $\mu$ M]	2.5
Taq polimerasa	0.125
Agua	9.3
DNA [200 ng/ $\mu$ L]	2.5
Volumen final	25

## **Apendice D. Soluciones**

### **Solucion para lisis de celular Rojas (SLR)**

Para un litro 20 X

50 mL de Tris 2M	12.12 g
50 mL de Mg Cl <sub>2</sub> 1M	10.16g
100 mL de NaCl 1M	5.78 g

Ajustar el pH a 7.6 y aforar a 1L.

### **Buffer de proteinasa K (5X)**

Para 100 mL

NaCl 0.375 M	2.19g
EDTA 0.12M	4.46g

Ajustar el pH a 8 y aforar a 10 ml con agua.

Filtrar con un filtro de nitrocelulosa.

### **Proteinasa K.**

Ajustar a 10 mg/ml con agua estéril.

SDS 20%

NaCl 5M	14.6 g en 50 mL
---------	-----------------



## Apéndice F

### Preparación gel de acrilamida al 8%.

#### Soluciones:

Agua	4.6 mL
Acrilamida	2.6 mL
Amortiguador TBE(Tris-borato-EDTA) 1X	0.8 mL
TEMED (N, N, N', N'- Trietilmetilendiamina)	16 $\mu$ L
Persulfato de amonio 10%.	64 $\mu$ L

#### Preparación:

1. Limpiar los vidrios con etanol, eliminar todos los residuos de grasa posible.
2. Montar los vidrios a la cámara, asegurarse de que no haya fuga.
3. Preparar el gel con las cantidades indicadas arriba de cada una de las sustancias en el orden descendente.
4. Verter cuidadosamente el gel a la cámara, colocar un peine de 1 mm de ancho.
5. Esperar a que polimerice el gel y después quitar el peine.
6. Llenar la cámara con un amortiguador de TBE 1x.
7. Cargar las muestras de DNA, colocar 8  $\mu$ L de DNA mas 2  $\mu$ L de colorante de carga.
8. Correr a 30 V durante 15 minutos, después aumentar el voltaje a 80 V durante 2 horas y media.



## **Apéndice G.**

### **Tinción con plata.**

**1. Solución fijadora del gel (preparar 300 mL) (10-15 minutos)**

Etanol al 10 % agregar 30 mL

Acido acético al 0.5 % agregar 1.5 mL.

Aforar a un volumen final de 300 mL con agua destilada.

**2. Solución de tinción (preparar 100 mL) (5 minutos)**

AgNO<sub>3</sub> al 0.2% pesar 200 mg

Disolver en 100 mL de la solución fijadora (1)

**3. Solución de revelado (preparar 100 mL) (5 min)**

NaOH al 3%: pesar 200 mg

Formaldehído: agregar 300 µL

Disolver en 100 mL de la solución fijadora (1)

**4. Solución de paro (preparar 100 mL)**

Acido acético glacial al 1.5 %: agregar 1.5 ml

Aforar a 100 mL.

### **Procedimiento:**

1. Enjuagar el recipiente de plástico. con agua destilada y con la solución fijadora.
2. Agregar 200 ml de la solución fijadora en un recipiente de plástico.
3. Colocar el gel en el recipiente con la solución fijadora, agitar suavemente durante 15 minutos.
4. Retirar la solución fijadora y adicionar la solución de tinción, mantener en agitación durante 5 minutos.
5. Retirar la solución de tinción y enjuagar con agua destilada.
6. Agregar la solución de revelado y agitar durante 10 minutos aproximadamente o hasta que se note la presencia de las bandas de DNA.
7. Adicionar la solución de paro.