



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**RELACIÓN ENTRE LOS POLIMORFISMOS DE LAS PROTEÍNAS
DESACOPLANTES MITOCONDRIALES, UCP2 Y UCP3, CON LA
OBESIDAD EN PACIENTES MENORES DE EDAD**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

ANDREA EUGENIA CASTELLANOS MENDOZA



MÉXICO, D.F.

AÑO 2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



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: DRA. MARISOL LÓPEZ LÓPEZ

VOCAL: DR. RICARDO GAMBOA ÁVILA

SECRETARIO: DR. VICENTE CASTREJON TELLEZ

1er. SUPLENTE: DR. GUILLERMO CELESTINO CARDOSO SALDAÑA

2° SUPLENTE: DRA. LUZ MARÍA DEL ROCIO VÁLDEZ GÓMEZ

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGIA "IGNACIO CHÁVEZ"

DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA

ASESOR DEL TEMA:

VICENTE CASTREJON TELLEZ

SUSTENTANTE (S):

ANDREA EUGENIA CASTELLANOS MENDOZA

DEDICATORIA

A mis padres, Manuel y Magda que me acompañaron en esta aventura y que de forma incondicional entendieron mis ausencias y mis malos momentos y me brindaron siempre su apoyo y amor ilimitado, espero que se sientan tan orgullosos de mí como yo de ustedes.

A mi hermano Arturo por ser mi fan #1, mi cómplice y compañero, te quiero latoso.

A mis amados abuelitos Geña, Lucha y Domingo porque siempre estuvieron atentos para saber cómo iba mi proceso y dispuestos a consentirme y animarme.

Los amigos son la familia que uno elige tener, y yo tengo a la mejor de todas. Anita, Lau, Ahira, Bere, Cinthia, Octavio, Carlos, Leo, Jazmin, Elenita gracias por haberme acompañado en este viaje, por haberme hecho reír tanto, por haber sido mis animadores, buzón de quejas, pañuelo de lágrimas, guías espirituales, compañeros de comilonas, copilotos, psicólogos y todo lo que se ofrecía. Los llevo en mi corazón.

Sarahí amiga, ¡lo hicimos! Gracias porque aparte de mi familia eres la persona que mas tiempo me ha aguantado, gracias por estar siempre ahí, por conocerme mejor que nadie y por creer en mi incluso cuando yo no lo hacia. Te quiero porra.

Charlie, carita de bola, gracias por ser incondicional, por hacerme tan feliz, por comprenderme y consentirme, gracias por tantos buenos momentos y por crecer conmigo, por tu sinceridad y tu sonrisa, tienes todo mi amor.

Por hacer mi estancia en el laboratorio de lo más divertida gracias Deni, Maggie, Yudi y Majo. Éxito en sus respectivos proyectos

A mis profesores por haberme enseñado tantas cosas dentro y fuera de las aulas, y por ser personas a las que admiro profundamente; especialmente a Ruth Martin y Benjamín Ruiz porque estuvieron conmigo y me vieron crecer, aparte de admiración tienen mi cariño.



La prueba más clara de
la sabiduría es una
alegría continua

-Montaigne



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Química por ser mi segundo hogar y por haberme brindado el conocimiento para ser una mejor profesionalista y persona.

Al departamento de Fisiología del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” por abrirme sus puertas y brindarme los recursos para realizar este proyecto.

Debo agradecer de manera especial y sincera al Doctor Vicente Castrejón Téllez por aceptarme para realizar esta tesis de licenciatura bajo su dirección por su apoyo y confianza en mi trabajo. Le agradezco también el haberme facilitado siempre los medios suficientes para llevar a cabo todas las actividades propuestas durante el desarrollo de esta tesis. Y ante todo gracias porque además de contar con su apoyo como tutor he contado con su amistad

Quiero expresar también mi más sincero agradecimiento al Dr. Ricardo Gamboa Ávila por su importante aporte y participación activa en el desarrollo de esta tesis.

Tema	Página
I. Resumen	1
II. Abreviaturas	2
III. Introducción	4
III.1 La fosforilación oxidativa	4
III.2 Los transportadores mitocondriales	6
III.3 Descripción de las UCPs	8
III.4 Filogenia de las UCPs	11
III.5 Estructura génica de las UCPs en mamíferos	13
III.6 Regulación molecular de las UCPs	16
III.6.1 Purinas	16
III.6.2 Ácidos grasos	17
III.6.3 Especies reactivas de oxígeno	19
III.7 Papel de las UCPs en el estrés oxidativo	20
III.8 Papel de las UCPs en el metabolismo de la glucosa	23
III.9 Relación de las UCPs en la obesidad	24
III.10 Papel de las UCPs en el síndrome metabólico	27
III.11 Relación de las UCPs con la obesidad infantil	28
III.11.1 Obesidad y dislipidemias pediátricas	30
IV. Justificación	32
V. Hipótesis	33
VI. Objetivos	34
VI.1 Objetivo general	34

VI.2	Objetivos particulares	34
VII.	Metodología	35
VII.1	Población de estudio	35
VII.2	Variables	35
VII.3	Medidas antropométricas	36
VII.4	Toma de muestra y separación de fases	37
VII.5	Purificación de DNA	37
VII.6	Perfil de lípidos	38
VII.7	Análisis de glucosa	38
VII.8	Distribución de subclases de HDL	38
VII.9	Determinación del Genotipo	39
VII.10	Discriminación alélica	40
VII.11	Análisis estadístico	41
VIII.	Resultados	43
VIII.1	Características clínicas de la población total y por grupo de estudio	43
VIII.2	Frecuencias alélicas y genotípicas de las proteínas desacoplantes en la población total y dividida por grupo de estudio	45
VIII.3	Análisis de las características clínicas de cada grupo de estudio (controles vs casos- SM) de acuerdo al genotipo de cada uno de los polimorfismos estudiados (UCP2 -866 C/T Y 55 ^a /G así como UCP3 -55 A/G)	48
VIII.3.1	UCP2 C-866T	48
VIII. 3.2	UCP2 A55G	51
VIII. 3.3	UCP3 A-55 G	54
VIII.4	Análisis de las subpoblaciones de HDL de acuerdo al genotipo de cada de uno de los polimorfismos estudiados (UCP2 -866 C/T Y 55 ^a /G así como UCP3 -55 A/G)	56

VIII.4.1. Polimorfismo C-866T del gen UCP2 y su relación con los subtipos de HDL	58
VIII.4.2. Polimorfismo A55G del gen UCP2 y su relación con los subtipos de HDL	59
VIII.4.3 Polimorfismo A-55G del gen UCP3 y su relación con los subtipos de HDL	61
VIII.5 Análisis de asociación múltiple de los polimorfismos estudiados	62
IX. Discusión	63
X. Conclusiones	75
XI. Bibliografía	77
XII. Anexos	86
XIII.1 Cartel presentado en el VII Congreso Mexicano de Cardiología	86
XIII.2 Percentillos de la circunferencia de cintura (cm) en niños y niñas	87
XIII.3 IMC para sobrepeso y obesidad en niños y niñas	88
XIII.4 Niveles lipídicos	89
XIII.5 Valores de tensión arterial para niños por percentillo de edad y peso	91

I. RESUMEN

Las proteínas desacoplantes (UCPs) son transportadores de la membrana interna mitocondrial involucradas en el desacoplamiento del gradiente electroquímico, formado a través de la membrana interna mitocondrial, y su actividad esta relacionada con la disminución de la síntesis de ATP. Se han descrito cinco miembros en esta familia, tres de los cuales (UCP1, UCP2, UCP3) han sido relacionados con la termogénesis, la obesidad, la diabetes, la biología de los radicales libres, además, se han considerado como genes candidatos de patologías como la obesidad y la diabetes. La obesidad es un trastorno metabólico, caracterizado por la excesiva acumulación de grasa, provocado por problemas genéticos, ambientales y psicosociales. A nivel bioquímico, la obesidad es resultado de un metabolismo energético anormal, que implica el desequilibrio entre la ingesta y el gasto energético del organismo. En este trabajo, se estudiaron tres polimorfismos relacionados con las proteínas desacoplantes, UCP2 y UCP3 en dos poblaciones de estudio: control y con síndrome metabólico. Se encontraron diferencias significativas al analizar y comparar la presencia del polimorfismo con respecto a parámetros como el IMC, TG, RS y HOMA. En ambos grupos se estudiaron tres variantes polimórficas, UCP2 -866, 55 y UCP3 -55 por PCR-TR. El SNP de UCP2 -866 C/T encontramos que el genotipo CT esta relacionado con TG, colesterol y HDL del subtipo HDL_{3A} aumentados en ambos grupos; asimismo se encontraron niveles de colesterol HDL disminuidos en el genotipo CC vs CT y TT. En el caso del SNP 55 A/G se observaron valores elevados de TA diastólica y sistólica en los genotipos, AG y AA vs GG. El genotipo AG presentó niveles de colesterol bajos así como valores de IMC y de TA sistólica y diastólica aumentados en el grupo de casos con respecto al control. El análisis del SNP 55 A/G del gen UCP2 respecto a las subpoblaciones de colesterol HDL no proporciono resultados significativos. En el polimorfismo -55 A/G del gen *UCP3* se observó un IMC elevado en aquellos genotipos con el alelo silvestre (A). También se encontraron valores significativamente menores de colesterol total en el homocigoto GG respecto al heterocigoto. Se observaron diferencias significativas en las HDL del subtipo HDL_{3c} en el genotipo AG del polimorfismo -55 A/G del gen *UCP3* en al comparación por grupo de estudio.

II. ABREVIATURAS

$\Delta\mu_{H^+}$	Gradiente electroquímico de protones
$\Delta\psi$	Gradiente eléctrico
ΔpH	Gradiente de pH
αMSH	α melanocito
AC	Adenilato ciclasa
ADR β 3	Receptor β 3 adrenérgico
ADP	Adenosín difosfato
ATP	Adenosín trifosfato
ATPasa	F ₁ F ₀ ATP sintasa
CC	relación cadera/cintura
CO ₂	Dioxido de carbono
FADH ₂	Flavín adenin dinucleotido
GDP	Guanosin trifosfato
GSH	g-glutamilcisteinilglicina (glutati6n)
H ₂ O ₂	Per6xido de hidr6geno
HNE	4-hidroxinonenal
HOMA IR	Índice de resistencia a la insulina
IMC	Índice de masa corporal
LEP	Leptina
LEPR	Receptor de leptina
MC4R	Receptor 4 de melanocortina
MACF	Familia de acarreadores ani6nicos mitocondriales

MEF2	Factor potenciador de miocitos
Mn-SOD	Superoxido dismutasa mitocondrial
MyoD	Proteína de diferenciación miogénica
NADH	Nicotín adenin dinucleótido
O ₂	Oxígeno
O ₂ ⁻	Ion superóxido
OMS	Organización Mundial de la Salud
Pb	Pares de bases
POMC	Propiomelanocortina
PPAR	Receptor de activación de proliferación peroxisomal
ROS	Especies reactivas a oxígeno,
SLR1X	Solución de lisis
TAB	Tejido adiposo blanco
TAP	Tejido adiposo pardo
TCA	Ciclo de los ácidos tricarbóxicos
TG	Triglicéridos
UCP	Uncoupling protein o proteína desacoplante

III. INTRODUCCIÓN

IV.1 LA FOSFORILACIÓN OXIDATIVA

Las mitocondrias son organelos esenciales en las células eucariotas aerobias; porque es donde se lleva a cabo el metabolismo oxidativo celular. Este organelo tiene su propio genoma (Grivell, 1999). Moléculas como los ácidos grasos, los carbohidratos y las proteínas son catabolizados en la mitocondria, a través de una serie de reacciones enzimáticas que los transforman en CO_2 , H_2O , así como coenzimas como el NADH y el FADH_2 , utilizadas como sustrato de la cadena transportadora de electrones en la membrana interna mitocondrial (Kennedy y Lehninger, 1949).

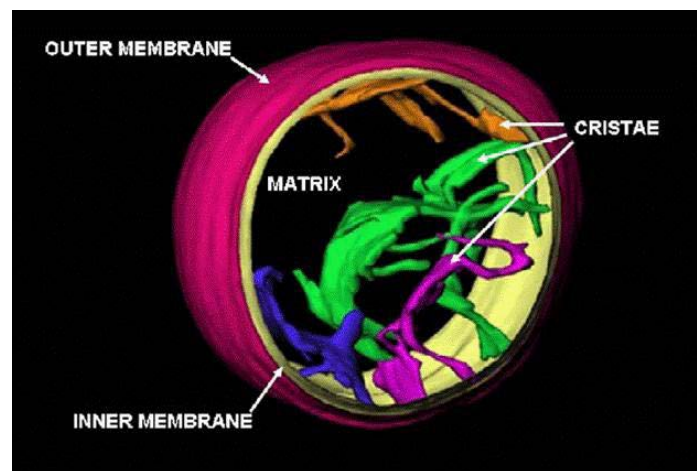


Figura 1. Tomografía crio-electrónica de una mitocondria hidratada y congelada, aislada de hígado de rata. Esta mitocondria tiene un diámetro de 700 nm (Mannella, 2006).

La mitocondria está formada por dos membranas: una externa y una interna que forman dos compartimentos, la matriz mitocondrial, rica en proteínas y contenida por la membrana interna, y el espacio intermembranal ubicado entre ambas membranas (Mannella, 2006). Sin embargo esta imagen ha cambiado con los avances en la microscopía. (Rasmussen N, 1995).

En la mitocondria se lleva a cabo una de las rutas metabólicas más importantes de la célula, la fosforilación oxidativa, que se divide en dos partes, la cadena respiratoria y la síntesis de ATP.

La cadena de transporte de electrones está formada por cuatro complejos enzimáticos: Complejo I (NADH:ubiquinona CoQ oxidoreductasa), Complejo II (Succinato: ubiquinona CoQ oxidoreductasa), Complejo III (Citocromo bc_1) y el Complejo IV (Citocromo c oxidasa) (Hatefi, 1985). Todos ellos localizados en la membrana interna mitocondrial. Esos complejos están conectados electrónicamente por la ubiquinona y el citocromo c; y se encargan de transferir electrones al O_2 de manera acoplada a la translocación de protones a través de la membrana interna mitocondrial. La translocación de protones genera un gradiente electroquímico útil para la síntesis de ATP vía la ATP (Figura 2) sintasa (Mitchell 1961).

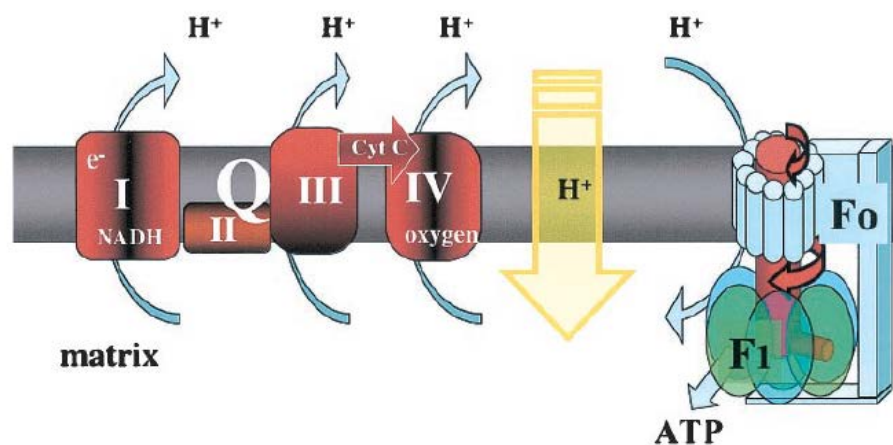


Figura 2. Componentes de la cadena respiratoria y formación del gradiente electroquímico de protones, formado a través de la membrana interna mitocondrial y utilizado por la F_1 - F_0 ATPasa para fosforilar al ADP y sintetizar ATP. También se muestra el “proton leak” o fuga de protones que desacopla la interacción entre la cadena respiratoria y la ATPasa (Rousset, 2004).

Se han propuesto dos modelos que describen la organización molecular de la cadena respiratoria; en el primero, los complejos proteicos de la cadena respiratoria difunden libres e independientes en el plano de la membrana y la transferencia de electrones entre ellos se lleva a cabo por colisiones (Gupte y cols., 1984). En el segundo, los componentes de la cadena respiratoria están interaccionando entre sí, formando estructuras macromoleculares o supercomplejos llamados respirasomas. Se han identificado y caracterizado diferentes supercomplejos de la cadena respiratoria, como

el dímero de la ATPasa, el supercomplejo I+III₂, el supercomplejo III₂+IV₁₋₂, o el supercomplejo I+III₂+IV₁₋₂. (Wittig y cols., 2006).

IV.2 LOS TRANSPORTADORES MITOCONDRIALES

Además de llevarse a cabo la síntesis del ATP, en la mitocondria se realizan diversos procesos metabólicos que implican un constante intercambio de metabolitos entre el citosol y la matriz mitocondrial. Debido a la alta impermeabilidad de la membrana interna mitocondrial a una gran cantidad de metabolitos, los transportadores de la membrana interna mitocondrial se hacen cargo de facilitar su intercambio (Palmieri, 2004).

La mayoría de estos sistemas transportan moléculas aniónicas y metabolitos neutros como la ornitina, carnitina o glutamina. Los acarreadores aniónicos son parte de la familia de proteínas de acarreadores aniónicos mitocondriales (MACF), de los cuales, se han descrito 17 miembros, con un peso molecular entre 28 y 34 kDa (Palmisano y cols., 1998).

En esta familia se encuentra la translocasa de adenín nucleótidos (ANT), que es un intercambiador ADP/ATP, las proteínas desacoplantes (UCPs) relacionadas con la eficiencia de la fosforilación oxidativa; el acarreador de fosfato (PiC) que transporta el fosfato citosólico a la matriz mitocondrial para ser utilizado principalmente en la síntesis de ATP. Se encuentran también, transportadores para el de piruvato (PYC), el oxoglutarato (OGC) y el de glutamato/aspartato (AGC) (Krammer y cols., 2009).

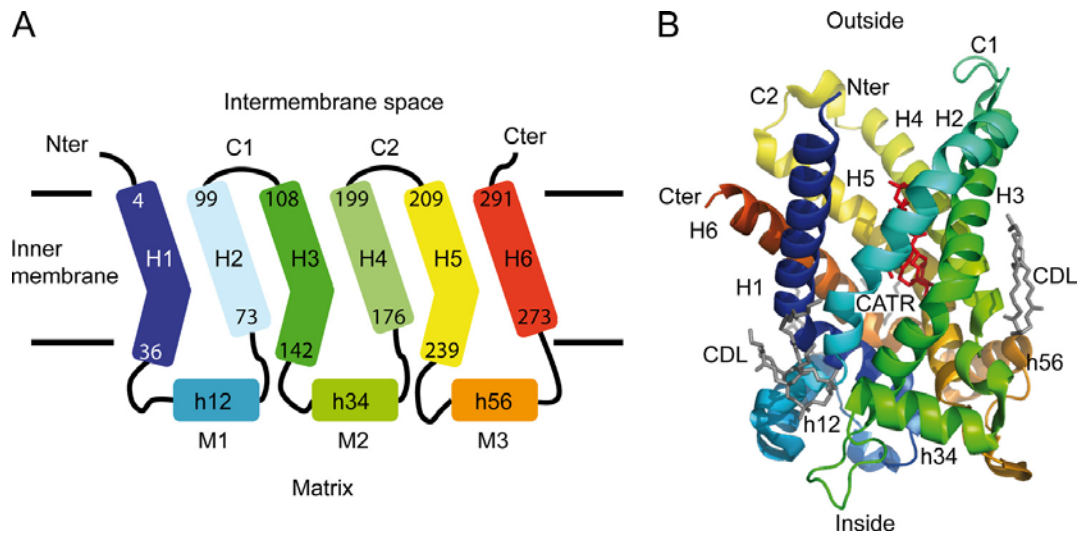


FIGURA 3 Estructura del acarreador de adenín nucleótidos. **A**, muestra la estructura secundaria del acarreador donde se observan, las hélices transmembranales (H), las hélices en la matriz (h), los loops entre las hélices transmembranales (C) y los loops entre las hélices de la matriz (M). **B**, muestra una vista lateral de la estructura terciaria del acarreador. La estructura esta coloreada de acuerdo a su secuencia, por ejemplo, azul (N-terminal) o roja (C-terminal) (Pebay-Peyroula, 2003).

Estos transportadores están formados por 3 dominios proteicos de 100 aminoácidos con una alta homología entre ellos, cada dominio está formado por dos regiones transmembranales altamente hidrofóbicas, unidas entre sí por una región hidrofílica localizada en la matriz mitocondrial; y una pequeña región hidrofílica localizada en el espacio intermembranal la cuál está encargada de ligar a los dominios. Se han descrito sitios altamente conservados en los dominios de estos transportadores considerados como las “huellas dactilares” de la familia, utilizados para localizar nuevos miembros. Estas secuencias están localizadas cerca del sitio de unión del sustrato. La primera, PX[DE]XX[RK] está en el extremo carboxilo terminal de la primera hélice de cada repetición y forma un puente salino cuando el sitio de unión al sustrato está abierto hacia el espacio intermembranal, y la segunda [FY][DE]XX[RK], esta en el extremo carboxilo terminal del loop, forma un puente salino cuando el sitio de unión del sustrato está abierto hacia la matriz. Se ha planteado que estos puentes salinos son necesarios para el transporte del sustrato y que la apertura y cierre del transportador depende de la formación y destrucción de estos puentes (Robinson y cols., 2008).

La alta homología entre los dominios y entre los transportadores sugiere que esta familia se originó tras la triplicación de una secuencia ancestral común a partir de la cual se diferenciaron los transportadores, como se ve en la estructura del acarreador de adenín nucleótidos (Figura 3) (Martial Rey y cols., 2010).

IV.3 DESCRIPCIÓN DE LAS UCPs

Las UCPs son transportadores mitocondriales localizados en la membrana interna; poseen una masa molecular de entre 31 y 34 kDa. Tienen seis cruces transmembranales y su grupo amino y carboxilo terminales están localizados en el espacio intramembranal (Miroux y cols., 1993) y fungen como . Los cruces transmembranales corresponden a α hélices ordenadas en pares, cada par está conectado por un loop hidrofóbico localizado del lado de la matriz. La unidad funcional de estas proteínas es un dímero formado por dos subunidades idénticas. Tienen un comportamiento dual tanto de acarreador como de canal; desde el punto de vista estructural se sugiere que hay una translocación hidrofóbica en el centro de la proteína, que se comportaría como un acceso controlado ya descrito en otros canales (Arechaga y cols., 2001).

La UCP1 fue la primer proteína desacoplante identificada (Ricquier y Kader, 1976), y se expresa exclusivamente en tejido adiposo pardo (TAP) formado por adipocitos ricos en mitocondrias, en los humanos, el TAP está presente principalmente durante la infancia después de la cual desaparece casi totalmente aunque se ha reportado su presencia en los adultos (Schrauwen y cols., 2006) (Figura 4). La función de UCP1 es permitir el paso de protones del espacio intermembranal a la matriz mitocondrial, provocando la disipación del gradiente electroquímico de protones, generando calor en lugar de ATP, proceso conocido como termogénesis (Nicholls y Rial, 1999). La termogénesis está regulada por el sistema nervioso simpático, la noradrenalina liberada en las fibras simpáticas que se conectan con el tejido adiposo pardo, interacciona con los receptores β_3 -adrenérgicos de la membrana celular, y activa la adenilato ciclasa que sintetiza AMPc, sustrato de una proteína cinasa dependiente de AMPc encargada de activar a la lipasa sensible a hormonas (HSL), quien promueve la liberación de los ácidos grasos almacenados en el TAP. Estos ácidos grasos actúan junto con la UCP1, activando el transporte de

protones y estimulando la producción de calor, o son transportados como acil-carnitina, a la matriz mitocondrial para ser degradados por la β -oxidación. Lo cual significa que los ácidos grasos funcionan como los segundos mensajeros de la noradrenalina (Rial y Gonzalez-Barroso., 2001).

La estimulación simpática prolongada del TAP promueve el aumento de la actividad de las UCPs, así como su transcripción, lo cual implica el aumento de los niveles de ARN. El frío también es un potente regulador, varios estudios han demostrado un incremento en el contenido de UCP1 del TAP tras una exposición al frío. (Ricquier y Bouillaud, 2000).

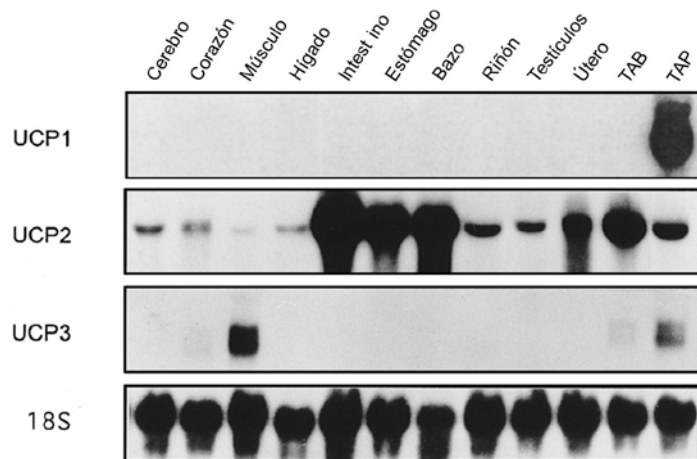


Figura 4. Esquema de expresión de las UCPs en diferentes tejidos TAB: tejido adiposo blanco, TAP: tejido adiposo pardo (Ricquier y Bouillaud, 2000)

En 1997 se identificó otra proteína con una homología del 59% a UCP1, a la cual se le llamó UCP2. La distribución de esta proteína es mayor que UCP1 ya que se ha encontrado en tejido adiposo blanco (TAB), bazo, pulmón, corazón, hígado, intestino, testículo, cerebro, útero y las células β -pancreáticas, entre otros (Figura 4). De acuerdo a los datos bibliográficos su papel parece estar relacionado con el control de las especies reactivas a oxígeno, la citoprotección, la modulación de células inmunitarias así como la regulación de niveles de glucosa en el cerebro y páncreas (Teshima y cols., 2003).

En células de timo se ha visto que la UCP2 disminuye el acoplamiento entre la oxidación de sustratos y la producción de ATP. La disipación del potencial de

membrana mitocondrial mediada por UCP2 y el gradiente de pH resultan en la formación de especies reactivas, particularmente durante el transporte de electrones reverso (Lambert y cols., 2004).

La UCP2 se encarga de atenuar la secreción de insulina, básicamente a través de dos sistemas, el primero es disminuyendo la eficiencia de la fosforilación oxidativa, debido principalmente al cambio de la relación ATP/ADP lo cual resulta en la disminución de la estimulación del canal K_{ATP} disminuyendo la secreción de insulina; y el segundo mecanismo funciona disminuyendo la producción de ROS (Krauss y cols., 2003).

Casi al mismo tiempo en que se identificó UCP2 se publicó el descubrimiento de otra proteína con una homología del 54% a UCP1 y 73% a UCP2, a la que se le dio el nombre de UCP3 (Vidal-Puig y cols., 1997). Esta proteína está localizada principalmente en músculo esquelético, corazón y tejido adiposo pardo donde su función parece ligada al metabolismo de los lípidos o al control de ROS (Figura 4).

La capacidad desacoplante de UCP3 no está relacionada directamente con el control sobre el consumo de energía, al parecer participa en la producción de calor, vía el metabolismo de los lípidos, principalmente a través de oxidación de los ácidos grasos en aquellos tejidos donde los ácidos grasos son el sustrato principal para la generación de energía vía fosforilación oxidativa, tal como sucede en grasa parda y músculo esquelético. Se ha demostrado que aunque la UCP3 si presenta una actividad desacoplante su ausencia no es capaz de afectar la respiración mitocondrial en el músculo, la temperatura corporal durante el frío, el peso corporal, la oxidación de ácidos grasos o la termogénesis inducida por frío, lo cual significa que la UCP3 no tiene un papel primordial en la termogénesis o en la regulación del peso corporal (Hesselink, 2003).

La UCP3 puede ser activada con iones superóxido y con productos derivados de la oxidación de los lípidos, provocando la disipación del potencial electro químico, disminuyendo de este modo los niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS). Además de su función sobre la regulación de la producción de ROS, a UCP3 se le ha relacionado con el metabolismo de los ácidos grasos en músculo esquelético, ya que

es rápidamente regulada durante el ayuno y cuando los niveles de ácidos grasos circulantes son elevados (Weigle y cols., 1998).

Otras dos proteínas, UCP4 y UCP5 (o BMCP1, del inglés brain mitochondrial carrier protein 1), fueron descritas poco después con una homología de 29% y 34% con la UCP1 respectivamente. Se encuentran principalmente en cerebro y actualmente no existen datos concluyentes sobre su función, aunque algunos autores han propuesto que estén involucradas en la respuesta a estrés oxidativo (Kim-Han y Dugan, 2005).

IV.4 FILOGENIA DE LOS UCPs

Estudios filogenéticos recientes sobre la línea evolutiva de las proteínas desacoplantes han mostrado que todos los transportadores mitocondriales evolucionaron a partir de la triplicación de una proteína primordial formada por dos dominios transmembranales. Las UCP1, UCP2, UCP3 y las UCPs de plantas comparten el mismo ancestro, mientras que UCP4 y UCP5 se les considera evolutivamente más distante, de hecho se ha propuesto que estas dos proteínas no deberían formar parte de esta familia. Por su parte, el gen ancestro de la UCP1 se duplicó generando UCP2 y UCP3, quien se encargó de duplicarse en *UCP2* y *UCP3* (Rial y Zardoya, 2009). Estos tres genes se han encontrado tanto en mamíferos como en anfibios y peces (Figura 5).

Se ha propuesto que el gen ancestro de UCP1 probablemente tenía una función antioxidante, el cuál, de acuerdo a los estudios evolutivos después de su duplicación presentó un fenómeno evolutivo llamado cooptación génica, en el que la selección natural encuentra usos nuevos para un gen ya existente. Este proceso ayudo a que la UCP1 se especializara en el procesos de la termogénesis en el tejido adiposo pardo (Jiménez-Jiménez y cols., 2006).

Mientras que hay genes ortólogos de *UCP1* en peces, anfibios y mamíferos su actividad termogénica sólo se ha observado en mamíferos euterios (o placentarios), lo cual significa que UCP1 en los placentarios sufrió variaciones en su estructura que a su vez han sido acompañados por cambios funcionales, uno de los ejemplos más conocidos es el de Glu 134, localizado en el en el segundo dominio de la proteína, este

residuo está en todos los mamíferos euterios y participa en la capacidad de conducir protones a través de la membrana interna mitocondrial por parte de la UCP, pero en organismos no euterios así como en las otras UCPs se ha demostrado que en lugar del Glu134 se encuentra un aspartato. Hay que tener en cuenta que el tejido adiposo pardo se encuentra solo en los mamíferos euterios, exactamente donde se ha detectado la función termogénica de UCP1 (Hughes y cols., 2009).

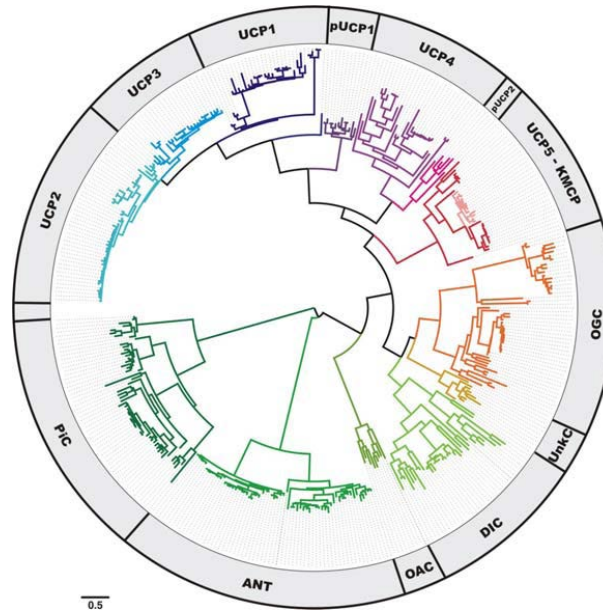


FIGURA 5. Árbol filogenético de las UCPs, que representa la línea evolutiva de las UCPs y de los transportadores mitocondriales con mayor homología a las UCPs. PiC (transportador de fosfato), ANT (translocasa de adenín nucleótidos), OAC (transportador de oxaloacetato), DIC (transportador de dicarboxilatos), UnkC (transportador con función desconocida), OGC (transportador de oxoglutarato), KMCP (proteína transportadora específica de riñón), pUCP1, UCP1, pUCP2 UCP2 de plantas (Luévano-Martínez y cols., 2010).

El árbol filogenético muestra que las secuencias correspondientes a diferentes acarreadores aniónicos mitocondriales están localizadas en diferentes centros, los cuales consisten de dos ramas de plantas y animales homólogos, como parece ser el caso de UCPs, AACs o PiCs (Figura 5).

En los últimos años se han descrito proteínas desacoplantes no solo en tejidos de mamíferos sino también de otros organismos incluidas las plantas. Las UCPS de mamíferos han sido llamadas UCP1, UCP2, UCP3, UCP4 y BMCP1 con una distribución de tejidos diferente (Tabla 1).

Tabla 1. Descripción de las proteínas desacoplantes y su papel fisiológico.

Proteína	Masa (kDa)	Distribución	Rol fisiológico	Identidad (%) con la UCP1
UCP1	33	TAP	Termogénesis Control de ROS	100
UCP2	33	Ubicua	Secreción de insulina. Termogénesis. Control de ROS	58
UCP3	34	Músculo esquelético	Termogénesis. Control de ROS	54
UCP4	-	Cerebro y sistema nervioso central	Termogénesis	29
BMPC1	-	Cerebro	Termogénesis	34

TAP: Tejido adiposo pardo, ROS: Especies Reactivas de Oxígeno

IV.5 ESTRUCTURA GÉNICA DE LAS UCPS EN MAMÍFEROS

En humanos el gen de la UCP1 se localiza en el brazo largo del cromosoma 4 (4q28-q31) con una longitud de 8.9 kb. El gen se compone de seis exones que codifican una hélice transmembranal cada uno (Ledesma y cols., 2002). Existen diferentes moléculas que funcionan como activadores de la expresión de UCP1, entre los que se encuentran las catecolaminas (vía AMPc), las hormonas tiroideas, los ácidos grasos, el ácido retinoico y los receptores que activan la proliferación de los peroxisomas (PPAR). Todos ellos interaccionan con una secuencia de aproximadamente 211 pares de bases (pb.) localizada antes del sitio de inicio de transcripción (Cassard-Doulcier y cols., 1993). También se moléculas como la insulina, TNF α , glucocorticoides y IGF-1 se encargan de regular de manera indirecta la expresión de UCP1 (Ricquie y Bouillaud, 2000).

En los últimos años se ha demostrado que los PPAR, tienen un papel importante en la regulación de la expresión de los genes *UCP1*, *UCP2* y *UCP3*. Por ejemplo en el tejido adiposo pardo se expresan tres subtipos de la familia de PPAR: PPAR α , PPAR γ y

PPAR δ , de los cuales PPAR γ está relacionado con la inducción de la diferenciación de los adipocitos debido a que regula la expresión de genes involucrados con la adipogénesis y del metabolismo lipídico (Barbera y cols., 2001).

Varios polimorfismos han sido encontrados en el gen de UCP1, como el -3826 A/G, que corresponde a un fragmento de restricción reconocido por la enzima *Bcl I* y que es una mutación adenina-guanina en la posición 3826 río arriba del codón de inicio de UCP1; 1766 A/G, es un polimorfismo localizado 1766 pb río arriba del codón de inicio y ha sido relacionado con la acumulación de grasa corporal (Figura 6). y el polimorfismo Ala64Th.

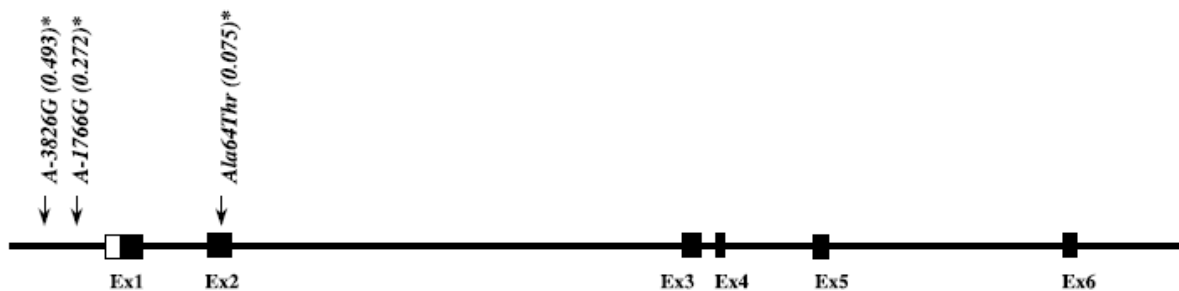


FIGURA 6. Mapa de UCP 1 en 4q28-q31 (Shin y cols., 2005).

El gen de la UCP2 se localiza en el cromosoma 11q13 cerca de una región asociada a obesidad y diabetes. Una característica de este gen es que tiene varios codones de inicio ATG con un marco de lectura abierto para un péptido desconocido de 36 aminoácidos. La región promotora de la UCP2 no tiene caja TATA que es típica en muchas otras regiones promotoras, en lugar de eso tiene una región rica en GC. Tiene seis exones codificantes y uno en el extremo 5' que no se traduce. La transcripción del gen inicia en el exón 3 (Figura 7) (Pecqueur y cols., 1999).

Se han descrito regiones cercanas al promotor, que son sitios de unión a factores de transcripción como Sp1, AP-1, AP-2 y sirven como receptores de PPAR, de hecho, se ha demostrado que la PPAR α , PPAR δ , SREBP-1c y Sirt-1 regulan la expresión del gen de UCP2 en el músculo esquelético y corazón (Villarroya y cols., 2007).

Traduccionalmente hablando, el cambio en los niveles de ARN mensajero no está acompañado de cambios en los niveles de proteína y viceversa, debido a que la

secuencia no codificante de 36 aminoácidos localizada en la posición 5' del gen es una región altamente conservada en distintas especies (Hurtaud y cols., 2006).

Varios polimorfismos relacionados con el gen que codifica para UCP2 han sido reportados, como el -866 G/A, localizado en el promotor y cuya presencia correlaciona con los fenotipos relacionados con obesidad (Dalgaard, 2011). En las células β pancreáticas el factor de transcripción PAX6 interacciona preferentemente con el alelo A, aumentando así la actividad de UCP2 (Sasahara y cols., 2004). En adipocitos los resultados han sido controversiales pues el alelo -866 A se ha relacionado tanto con el aumento como con el descenso de los niveles de expresión del ARNm (Kempner y cols., 2002).

En el humano, los genes de UCP2 y UCP3 están separados entre ellos por pocas Kb. El gen para UCP2 se localiza a unos 20 kb río abajo del codón de terminación del gen para UCP3. EL gen para UCP3 tiene seis exones codificantes y dos exones situados en el extremo 5' que no se traducen y se localiza en el cromosoma 11 (11q13); puede codificar para dos isoformas: UCP3L de 312 aminoácidos y UCP3S de 275 aminoácidos. El factor de transcripción biogénico MyoD, es un fuerte regulador de la transcripción del promotor del gen de UCP3, el cuál es sensible al estímulo mediado por PPAR, el ácido retinoico o las hormonas tiroideas. Como en el caso de la UCP2, también UCP3 es regulada por PPAR α y PPAR δ en músculo esquelético y corazón (Figura 7) (Villaroya y cols., 2007).

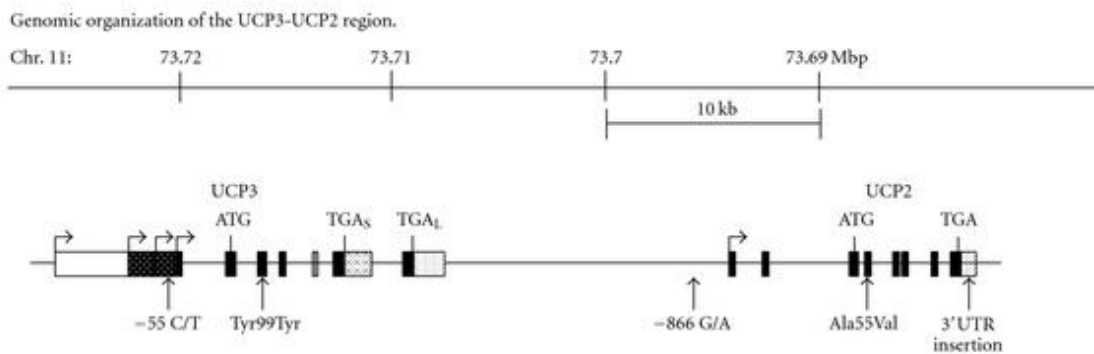


FIGURA 7. Organización genómica de la región UCP3-UCP2 en el cromosoma 11. ATG codón de inicio, TGA: codón de paro. Las flechas horizontales indican sitios de inicio transcripcionales reportados. La proteína UCP3 existe en forma corta (TGA_S) y forma larga (TGA_L) (Ricquier y Bouillaud 2000)

También se han descrito polimorfismos asociados al gen para UCP3, uno de ellos está localizado en el exón 3 del gen y se relaciona con la tasa metabólica, tanto antes como después de un periodo de sobrealimentación, pero no con los cambios inducidos por la sobrealimentación en la tasa de reposo metabólico. Otro de los polimorfismos de este gen es el localizado en el exón 5, asociado con la tasa de reposo metabólico en mujeres afroamericanas pero no en caucásicas. Adicionalmente se ha investigado la asociación entre los polimorfismos del gen *UCP3* y la regulación del peso corporal como resultado del metabolismo energético, pero no hay resultados consistentes, aunque se debe considerar que la regulación del peso corporal es compleja y no sólo depende del metabolismo energético (Kimm y cols., 2002).

IV.6 REGULACIÓN A NIVEL MOLECULAR DE LAS UCPs

Como ya se ha mencionado, la actividad de las UCPs está relacionada con el desacoplamiento de la respiración mitocondrial, disminuyendo la eficiencia energética y produciendo calor durante la termogénesis no dependiente de tiritación. Sin embargo, en condiciones normales (no termogénicas), la respiración en las mitocondrias del tejido adiposo pardo está acoplada a la síntesis de ATP. De esto se deduce que la actividad de las UCPs debe estar altamente regulada. Actualmente se conocen varios reguladores moleculares para las UCPs principalmente para UCP1, mientras que la regulación de la actividad de las proteínas UCP2 y UCP3 no se ha determinado aún con exactitud.

IV.6.1 Purinas

Las purinas inhiben el transporte de protones a través de la UCP1, con la siguiente afinidad: GTP>GDP>ATP>ITP>ADP>IDP y su interacción es dependiente del pH, a pH mayor de 6.5 la afinidad disminuye, mientras que a valores menores de 6.5 la unión de los nucleótidos es independiente del pH (Klingenberg, 1988).

El sitio de unión de los nucleótidos a la UCP1 esta localizado en el tercer loop de la proteína, ubicado del lado que ve hacia la matriz mitocondrial, por lo tanto, los

nucleótidos tienen que cruzar la membrana interna mitocondrial, y se ubican entre la región 261-269 de la proteína. Experimentos de mutagénesis dirigida, donde se elimina la región 267-269 generan una proteína no regulable por nucleótidos. Trabajos posteriores demostraron que son los tres loops los implicados en la unión de los nucleótidos, y por tanto, en los encargados de regular el transporte vía UCP1 (Gonzalez-Barroso y cols., 1999).

La alta homología entre las secuencias de UCP2 y UCP3 con la de UCP1 llevó a varios investigadores a buscar los posibles reguladores de UCP2 dentro de los conocidos para UCP1, algunos encontraron que el GDP era capaz de aumentar el potencial de membrana en mitocondrias que expresan UCP2 y lo que llevaba al aumento de ROS (Negre-Salvayre y cols., 1997). Otros reportes mostraron que en sistemas reconstituidos la actividad transportadora de UCP1, UCP2 y UCP3 podía ser inhibida por nucleótidos de purina en forma parecida (Jaburek y Garlid, 2003). Sin embargo, hasta la fecha no hay un dato completamente específico ya que, también se ha reportado que no hay efecto de los nucleótidos sobre la actividad desacoplante mediada por la UCP2 o la UCP3 (Rial y cols., 1999).

IV.6.2 Ácidos grasos

Los ácidos grasos desacoplan la fosforilación oxidativa y, durante mucho tiempo se creyó que su efecto era similar al efecto de los típicos desacoplantes, sin embargo, la presencia del carboxiatractilosido (CAT), inhibidor del acarreador de adenín nucleótidos, inhibió parcialmente el desacoplamiento inducido por ácidos grasos, indicando que el acarreador de adenín nucleótidos también forma parte de la acción desacoplante de los ácidos grasos (Wojtczak y Schonfeld, 1993).

Se han propuesto dos modelos que tratan de explicar la función de los ácidos grasos en la regulación de la actividad de UCP1. En el primero o *ciclo protonofórico*, se postula que los ácidos grasos entran a la mitocondria por difusión a través de la membrana, en forma protonada por un mecanismo de flip-flop y, ya en el interior de la mitocondria, el H⁺ es liberado en la matriz, provocando el desacoplamiento del gradiente electroquímico. El ciclo se cierra cuando los ácidos grasos son transportados

en su forma aniónica por la UCP1 hacia el lado citosólico, el resultado neto, es la transferencia de un H^+ hacia la matriz (Figura 8A) (Garlid y cols., 1996).

El segundo modelo supone que no existe transporte de los ácidos grasos vía membrana, sino que estos se unen a un sitio específico de la proteína actuando como grupo prostético, así el carboxilo del ácido graso, transfiere los protones a los aminoácidos del canal de translocación, desde donde pasan a la matriz (Figura 8B) (Winkler y Klingenberg, 1994).

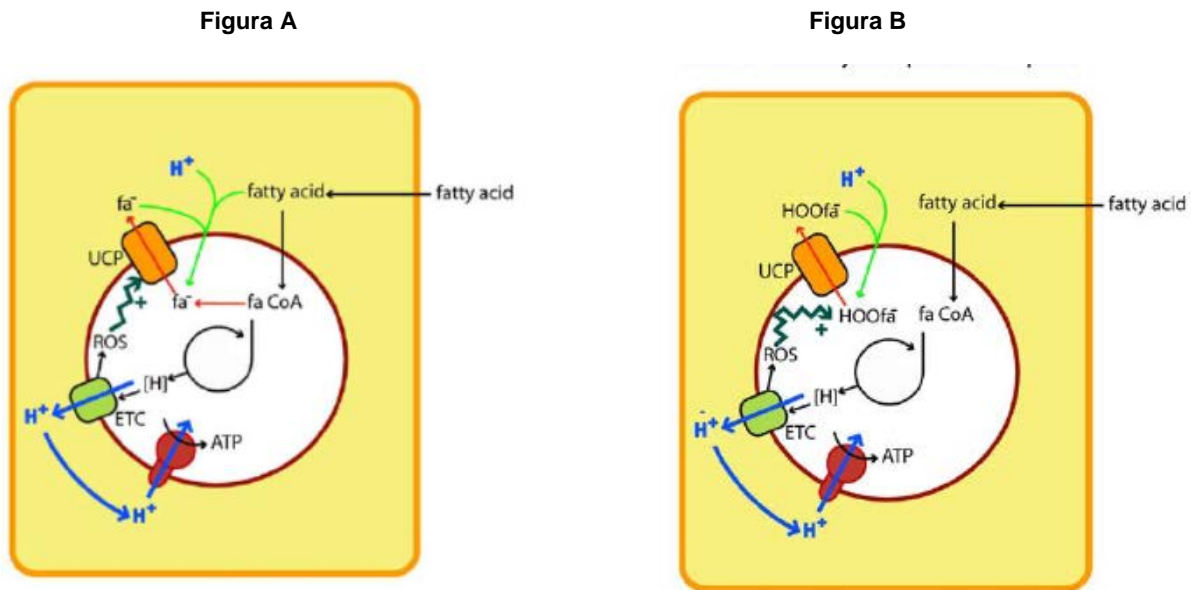


Figura 8. Acción de los ácidos grasos sobre la UCP1. **A**, la función principal de las UCPs es exportar ácidos grasos aniónicos cuando la acetil CoA unida a ácidos grasos es hidrolizada por tioesterasas para liberar CoA para continuar la oxidación de ácidos grasos (flecha roja). Por otra parte, los ácidos grasos aniónicos son producidos por una entrada excesiva de ácidos grasos protonados desde el citosol (flechas verdes) y este ciclo de entrada de ácidos grasos protonados y salida de ácidos grasos aniónicos produce una conductancia neta de protones como reacción secundaria. **B**, las ROS causan peroxidación de la membrana fosfolípídica generando aniones peróxido de ácidos grasos ($HOOfa^-$) que son exportados por la UCP (flecha roja). Si los peróxidos pueden protonarse y regresar (flechas verdes), el ciclo cataliza una conductancia neta a protones. (Brand y cols., 2004).

De hecho, se ha visto que la UCP3 podría estar implicada en el transporte de los ácidos grasos hacia la matriz mitocondrial, ya que se ha observado que una de las funciones de la UCP3 es exportar los ácidos grasos en su forma aniónica, de la matriz al espacio intermembranal, donde se reactivan por la acil-CoA sintasa lo que garantiza

la disponibilidad de la CoA y por lo tanto la alta tasa de oxidación de los ácidos grasos (Himms-Hagen y Harper, 2001). Una hipótesis sugiere que cuando hay un elevado aporte de ácidos grasos, el gradiente de pH facilita su acumulación dentro de la mitocondria, ejerciendo un efecto toxico. Entonces la UCP3 se encarga de transportar a los ácidos grasos en su forma aniónica desde la matriz hacia el espacio intermembranal, evitando su acumulación en la matriz y disminuyendo el daño mitocondrial. Aunque, en mitocondrias de músculo esquelético de ratón (UCP3 knockout y silvestre), no se observaron diferencias significativas en la exportación de los ácidos grasos en forma aniónica (Seifert y cols., 2008).

IV.6.3 Especies reactivas de oxígeno.

El ion superóxido ($O_2^{\cdot-}$) activa la UCP1, UCP2 y UCP3 de manera específica. Primero se observó el efecto del ion superóxido sobre la actividad de UCP1 en mitocondrias del tejido adiposo pardo, demostrando que tiene efecto sobre la conductancia mitocondrial regulada por UCP1. En el caso de UCP2, el efecto del ion superóxido se analizó en mitocondrias de hígado y corazón, donde no se expresa UCP2, y, en mitocondrias de células β pancreáticas, riñón y bazo, que si la expresan. En hígado y corazón no se observaron cambios en la conductancia a protones en presencia del ion superóxido, por el contrario, en páncreas, riñón y bazo si se detectó aumento en la conductancia. En UCP3 se demostró que el ion superóxido también funciona como activador de la conductancia a protones, al estudiarse en mitocondrias aisladas de músculo esquelético de ratas. En todos los casos, la activación requiere la presencia de ácidos grasos y se inhibe con nucleótidos de purina (Mika y cols., 2002)

Además del ion superóxido, moléculas como el 4-hidroxinonenal (HNE) tienen efecto sobre la actividad de las UCPs (Murphy y cols., 2003). Debido a que el superóxido generado en la matriz reacciona con los centros Fe-S de proteínas como la aconitasa, liberando el catión Fe^{2+} o, con proteínas como la MnSOD produciendo peróxido de hidrogeno. El Fe^{2+} y H_2O_2 al reaccionar entre sí, forman OH^{\cdot} , radical que promueve la peroxidación lipídica y la formación de aldehídos como el HNE, que activa las UCPs (Figura 9).

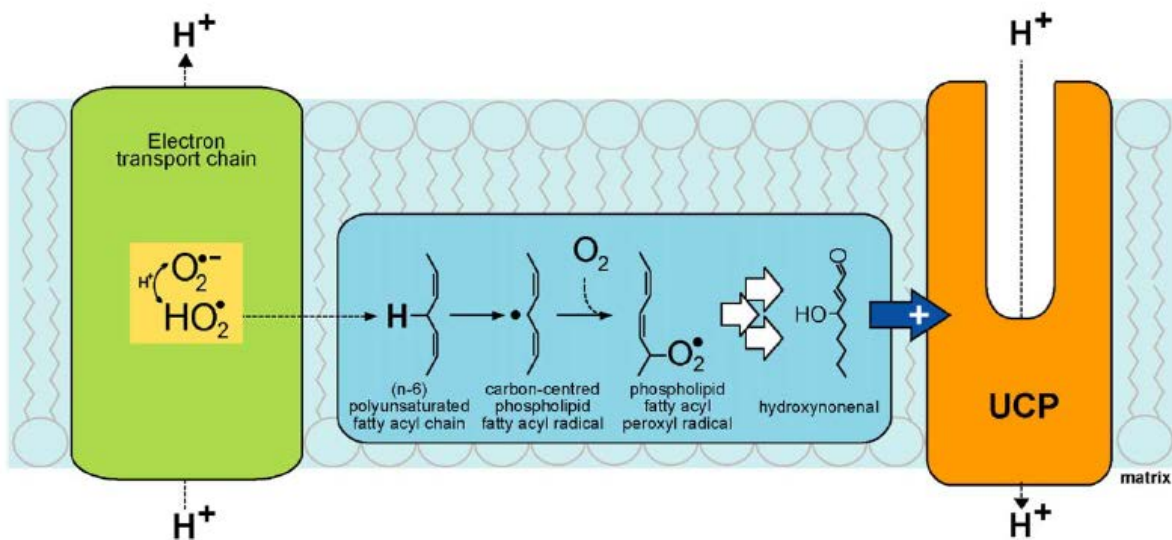


Figura 9. Modelo de activación de las UCPs por ROS (Brand y cols., 2004a).

La producción de superóxido en la cadena respiratoria es alta durante la oxidación de ácidos grasos, provocando que el ion superóxido interaccione con las cadenas poliinsaturadas de los ácidos grasos de la membrana, principalmente ácido araquidónico, formando radicales libres de oxígeno (ROS) que lleva a la producción masiva de HNE y otros alquenos reactivos. Los alquenos activan la conductancia de UCP a protones, disminuyendo la fuerza protón-motriz y atenuando la producción de superóxido. Lo cuál promueve una retroalimentación local en la que UCP2 y UCP3 controlan la producción de ROS

IV.7 PAPEL DE LAS UCPs EN EL ESTRÉS OXIDATIVO

La actividad de la cadena respiratoria mitocondrial promueve la liberación de diferentes especies reactivas a oxígeno en la célula, como el ion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrogeno (H_2O_2) y el radical hidroxilo (OH^{\bullet}). De hecho, se ha encontrado que hay electrones mitocondriales que pasan directamente al oxígeno molecular formando el radical superóxido, quien es disociado por la superóxido dismutasa mitocondrial (Mn-SOD) a H_2O_2 .

Termodinámicamente, la transferencia de electrones por la cadena respiratoria, es altamente específico, sin embargo, en dos sitios de la cadena respiratoria se pueden generar ROS, el complejo III y el complejo I (Figura 10) (Turrens y cols, 1985).

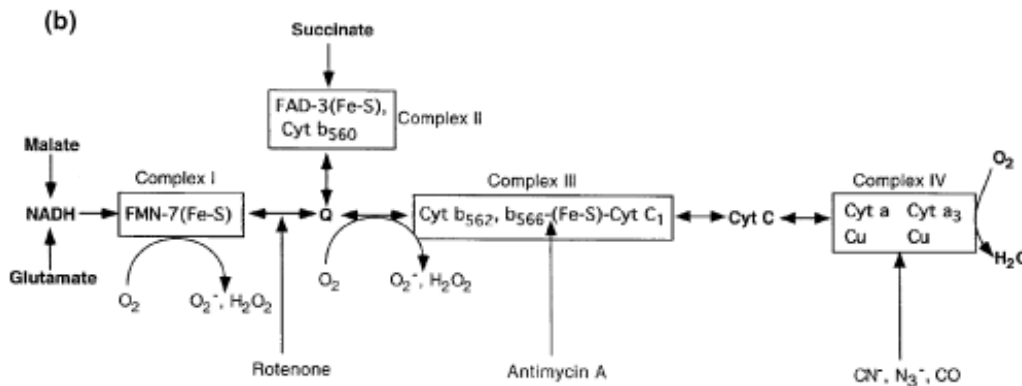


Figura 10. Los sitios en la cadena transportadora de electrones donde se producen ROS y los sitios de acción donde se usan inhibidores respiratorios (Turrens y cols., 1985).

La formación del ion superóxido depende de la velocidad del flujo de los electrones a través de los centros de los complejos I y III, si el flujo es lento ($\Delta\psi$ elevado), los centros redox se encuentran reducidos, por lo que el oxígeno tiene más posibilidad de captar un electrón y transformarse en el anión superóxido. En el complejo III la CoQ juega un papel clave en la generación del anión superóxido, sufriendo una oxidación y una reducción durante el llamado “ciclo Q”, en donde se genera la ubisemiquinona (CoQH \cdot), un radical libre intermedio altamente reactivo (Raha y Robinson, 2000). En este caso, la formación del anión superóxido es favorecida el tiempo en el que permanece el CoQ en estado de ubisemiquinona (cuando la respiración mitocondrial es lenta y el $\Delta\psi$ elevado).

Se ha demostrado que la UCP1 reduce potencialmente la producción de superóxido mitocondrial después de la aclimatación al frío y durante la oxidación de los ácidos grasos (Oelkrug y cols., 2010).

También se ha propuesto que UCP3 puede ser activada por superóxido, así como por los productos de peroxidación de los lípidos, disipando el potencial de membrana mitocondrial y disminuyendo así la producción de ROS. Esta teoría se apoya en

trabajos que muestran que UCP3 neutraliza la oxidación de proteínas en el músculo esquelético y puede reducir la producción de ROS durante el ejercicio (Jiang y cols., 2009). En ratones knockout de UCP3 hay un mayor daño oxidativo y la sobreexpresión de UCP3 en ratones reduce la producción de ROS durante el envejecimiento (Nabben, 2008).

A la UCP2 se le ha implicado en la protección contra el estrés oxidativo. Recientemente se observó que la sobreexpresión de la UCP2 consigue prevenir la apoptosis causada por una hipertermia (Zhang y cols., 2007).

También se ha demostrado que la expresión de UCP2 se induce en respuesta a un aumento de la formación de ROS, de hecho se ha visto que en presencia de TNF- α la expresión de UCP2 aumenta de manera proporcional al aumento de los niveles de ROS durante el proceso de regeneración de hígado (Lee y cols., 1999).

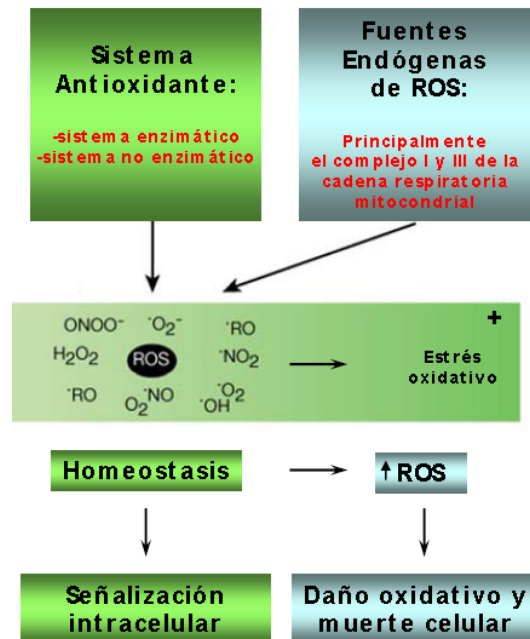


Figura 11 Esquema del balance redox celular. El equilibrio redox es el resultado de la formación y eliminación de ROS en la célula. Cuando la homeostasis de oxido reducción es alterada por una excesiva producción de ROS, la célula entra en un estado de estrés oxidativo que puede provocar importantes daños oxidativos y apoptosis (Anedda y cols., 2008).

Se ha postulado que UCP2 ejerce una acción sinérgica con el sistema antioxidante para prevenir que los niveles de ROS no sobrepasen el umbral fisiológico. Cuando la concentración intracelular de las ROS es excesiva y supera el umbral fisiológico, se origina un desequilibrio del balance redox conocido como estrés oxidativo, puede provocar daños por oxidación de lípidos, proteínas y nucleótidos produciendo la acumulación de agregados intracelulares, la disfunción mitocondrial y la apoptosis. (Figura 11) (Ott, Gogvadze y cols 2007)

Ya que la UCP juega un papel importante en la defensa contra el daño oxidativo ha adquirido un gran protagonismo en el campo de la patología porque se ha confirmado que el estrés oxidativo está implicado en desarrollo de las principales patologías humanas tales como enfermedades cardiovasculares, cáncer, enfermedades neurodegenerativas, diabetes mellitus, obesidad, envejecimiento y otras más. (Cannon y cols., 2006)

IV.8 PAPEL DE LAS UPCs EN EL METABOLISMO DE LA GLUCOSA

Recientemente se propuso que las UCPs podrían estar implicada en el metabolismo de la glucosa, el modelo sugiere que UCP2 no funciona como transportador de protones, sino que su función es limitar la entrada del piruvato a la mitocondria, lo cual implica que parte del piruvato se transforma en lactato, y que la oxidación de ácidos grasos y glutamina aumenta para mantener la demanda de ATP celular (Figura 12) (Bouillaud, 2009).

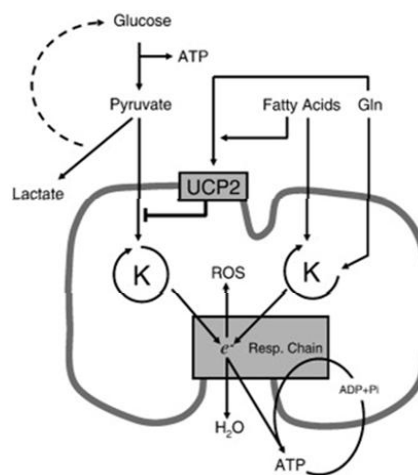


Figura 12. Esquema de la posible función de la UCP2 en la regulación del metabolismo de la glucosa (Bouillaud, 2009).

El posible papel de las UCPs sobre el metabolismo de la glucosa se determinó en fibroblastos embrionarios de ratones knockout para el gen de UCP2, donde se observó que la oxidación de la glucosa y la proliferación celular eran mayores con respecto a fibroblastos embrionarios de ratones silvestres, en decir que la síntesis de ATP dependiente de glucosa era del 67% en los ratones silvestres, frente al 89% en el caso de los ratones deficientes en el gen de *UCP2* (Pecqueur y cols., 2008).

Otra teoría propone que la exposición prolongada de los islotes β pancreáticos a altas concentraciones de glucosa o ácidos grasos libres causa secreción de insulina estimulada por glucosa. La oxidación de glucosa promueve la síntesis de ATP a través de la fosforilación oxidativa mitocondrial. El aumento en los niveles de ATP bloquea los canales de potasio sensibles a ATP, lo que resulta en la despolarización de la membrana y en el flujo de calcio ionizado estimulando así la secreción de insulina. Por lo tanto el aumento del gradiente de protones a través de la membrana mitocondrial, seguida de un proceso de oxidación de glucosa resulta en un aumento en la secreción de insulina. Un mecanismo que puede causar la disminución del gradiente de protones mitocondrial es la fuga de protones vía UCPs. De este modo los protones vuelven a entrar a la mitocondria de las células β vía proteínas desacoplantes y liberan energía en forma de calor no estando disponibles para la síntesis de ATP (Langin, 2001)

Se ha demostrado que la expresión de ARNm de UCP2 en músculo esquelético humano aumenta durante la pérdida de peso inducida por ayuno, una condición en la que la termogénesis es disminuida y aumenta el uso de lípidos por el organismo. Debido a que una mayor oxidación de lípidos puede alterar el metabolismo de la glucosa (el ciclo de Randle), el aumento de expresión de UCP2 podría resultar en la resistencia periférica a la insulina (Randle y cols., 1963).

IV.9 RELACIÓN DE LAS UCPs EN LA OBESIDAD

El balance energético es un estado metabólico donde el gasto energético está en equilibrio con la energía consumida en la dieta. Cuando la energía proveniente de la alimentación es mayor que la energía gastada, el exceso es acumulado en forma de grasa, provocando el aumento de peso, lo cual puede derivar a alteraciones

metabólicas como la obesidad, por ejemplo, la acumulación de lípidos en miocitos y hepatocitos está correlacionada con la resistencia a insulina en individuos diabéticos y obesos (Boden y Shulman, 2002).

La obesidad, es un trastorno metabólico que conduce a la acumulación excesiva de grasa. La clasificación de sobrepeso y obesidad aplicable tanto a hombres como mujeres en edad adulta (WHO, 1998), involucra para obesidad un valor de índice de masa corporal (IMC) mayor o igual a 30 kg/m², para sobrepeso un valor de IMC entre 25 – 29,9 kg/m² y para la normalidad un IMC de entre 18,5 – 24,9 kg/m² (Ferrira, 2008) (Tabla 2)

Tabla 2. Clasificación de sobrepeso y obesidad según el IMC (OMS)

Clase de obesidad	IMC (kg/m ²)
Infra peso	<18.5
Normal	18.5-24.9
Sobrepeso	25.0-29.9
Obesidad I	30.0-34.9
Obesidad II	35.0-39.9
Obesidad extrema o mórbida III	>40

WHO, 1998

En función de la grasa corporal, los sujetos obesos son aquellos que tienen porcentajes de grasa corporal arriba del 20% en los varones y del 30% en mujeres adultas. La obesidad se asocia con un aumento del riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular, diabetes mellitus tipo 2 y cáncer, en el que podría influir la inflamación crónica asociada con el exceso de adiposidad (Bray y cols., 1998).

Diversos estudios relacionan la expresión de las UCPs con una mayor o menor propensión al desarrollo de la obesidad. Los polimorfismos del gen UCP1 han sido asociados con el aumento de peso aún con una dieta baja en calorías. Sin embargo ésta proteína está relacionada en menor grado a la obesidad en comparación a sus homologas. Experimentos realizados con ratones deficientes de UCP1 han sugerido

que la proteína no ejerce un papel protector contra la obesidad sino que mas bien desempeña un papel primordial en la termogénesis inducida por frío (Enerback y cols., 1997).

Se han relacionado algunas mutaciones del gen de la UCP2, que parecen estar involucradas con desordenes metabólicos, por ejemplo, el polimorfismo -866 A/G, del gen de UCP2, aumenta su transcripción y disminuye el riesgo de tener desordenes metabólicos (Shen y cols., 2006). De la misma manera se ha observado que una mutación en el aminoácido 55 del exón 4 del gen de la UCP2, que consiste de la substitución de una alanina por una valina (Ala55Val), parece estar implicada en el desarrollo precoz de la obesidad (Wang y cols., 2007). Otras investigaciones han determinado que pacientes adultos con el genotipo Alanina/Alanina del gen de UCP2 con la mutación Ala55Val, tienen una mayor predisposición en desarrollar obesidad, con respecto a Alanina/Valina o Valina/Valina (Kosuge y cols., 2008).

Teniendo en cuenta que la función fisiológica de UCP3 esta relacionada con la regulación del gasto energético y la oxidación de ácidos grasos, su expresión ha sido sugerida como un factor de riesgo determinante para padecer obesidad. Estudios en humanos han demostrado que la expresión de ARNm de UCP3 en músculo esquelético es menor en sujetos obesos en comparación con sujetos sanos, lo cual pone en manifiesto una correlación positiva entre los niveles de UCP3 muscular y las concentraciones de ácidos grasos no esterificados, así como el metabolismo de reposo; en contraparte está relacionada negativamente con el índice de masa corporal. Esto significa que bajos niveles de UCP3 suponen un bajo consumo energético de reposo y un IMC elevado (Schrauwen P, y cols1999).

Asimismo en un estudio de sujetos con obesidad mórbida se asocio el alelo T con un aumento de IMC y dislipidemia, mientras que en otro se estima que el genotipo -55C/T tiene menor riesgo de padecer obesidad (Alonso y cols., 2005.). Por otra parte el genotipo C/C se ha asociado con una menor expresión de ARNm, en biopsias de músculo esquelético de indios Pima sugiriendo que el alelo -55T aumenta su expresión en comparación con el alelo C (Scrauwen y cols., 1999).

IV.10 PAPEL DE LAS UCPs EN EL SÍNDROME METABÓLICO

El síndrome metabólico (SM), es una enfermedad que ha ido en aumento, caracterizada por un grupo de rasgos físicos y bioquímicos relacionados con la obesidad asociada a la resistencia de insulina (Raven, 2005).

Se considera al SM como una constelación de factores de riesgo lipídicos y no lipídicos que pueden aparecer de forma simultánea o secuencial en un mismo individuo como manifestaciones de un estado de resistencia a la insulina cuyo origen parece ser genético o adquirido en útero.

No se trata de una simple enfermedad sino de un grupo de problemas de salud causados por la combinación de factores genéticos y factores asociados al estilo de vida, especialmente la sobrealimentación y la ausencia de actividad física.

El diagnóstico de SM se establece cuando se presentan tres o más de los factores de riesgo establecidos: obesidad abdominal, dislipidemias, hiperglicemia e hipertensión (Tabla 3) (NCEP, 2001).

Tabla 3. Criterios Diagnósticos del Síndrome Metabólico propuesta por el NCEP ATP III :

Criterio	Adulto	Niño
Obesidad abdominal, por toma del Perímetro de cintura en la consulta	> a 102 cm > a 88 cm	>= 90 percentillo >= 90 percentillo
Varones		
Mujeres		
Triglicéridos	>= a 150 mg/dl	>= a 110 mg/dl
Colesterol HDL	< de 40 mg/dl	=< de 40 mg/dl
Varones	< de 50 mg/dl	=< de 40 mg/dl
Mujeres		
Tensión arterial	>= 130/85 mmHg	>= 90 percentillo
Glucemia en ayunas	> = a 110 mg/ dl*	> = a 110 mg/ dl*
* Las nuevas recomendaciones de la Asociación Estadounidense de Diabetes (ADA) determina glucemia en ayunas >=100 mg/dl en vez de 110 mg/dl.		

NCEP ATP III 2005

En pediatría, para diagnosticar el síndrome metabólico también se requiere la presencia de por lo menos tres de estos criterios (obesidad abdominal, dislipidemias, hipertensión arterial, intolerancia a la glucosa o diabetes). Los valores normales para cada uno de estos componentes varían según la edad y sexo, lo que caracteriza al diagnóstico en la infancia y adolescencia, por que se hace necesaria la elaboración y consulta de tablas de valores normales para cada edad.

Las UCPs desempeñan una serie de funciones fisiológicas involucradas con la termogénesis, el gasto de energía, movimiento de ácidos grasos y control de glucosa, los cuáles están involucrados con los factores de riesgo determinados para el SM.

Las asociaciones genéticas recientes de los polimorfismos de las UCPs con fenotipos, en humanos han demostrados la influencia de estas proteínas en patologías como la diabetes tipo 2, la enfermedad arterial coronaria, la obesidad y las dislipidemias; enfermedades relacionadas con los factores de riesgo de el síndrome metabólico.

IV.11 RELACIÓN DE LAS UCP CON LA OBESIDAD INFANTIL

En México los problemas de mala nutrición se ven reflejados en el aumento en los casos de niños con sobrepeso, obesidad y desnutrición. El riesgo de obesidad en un niño es 4 veces mayor si alguno de los padres es obeso y, 8 veces mayor si ambos padres los son. Lo cual quiere decir que la obesidad puede estar relacionada con los hábitos alimenticios de una familia genéticamente predispuesta. También existen factores ambientales que pueden estar implicados en la patogénesis de la obesidad durante la infancia, como por ejemplo el exceso de alimentación durante el periodo prenatal y lactancia, la malnutrición materna, el nivel socioeconómico, los factores asociados con el clima, la falta de ejercicio físico, el aumento de tamaño de las porciones en los alimentos comercialmente, fuentes baratas de alimentos como la comida rápida, etc.

El sobrepeso en la población infantil de 5 a 11 años de edad aumentó del 18.6 al 26% en los últimos 7 años. En los adolescentes de 12 a 19 años, 1 de cada 3 jóvenes tiene sobrepeso u obesidad (Shamah, 2010).

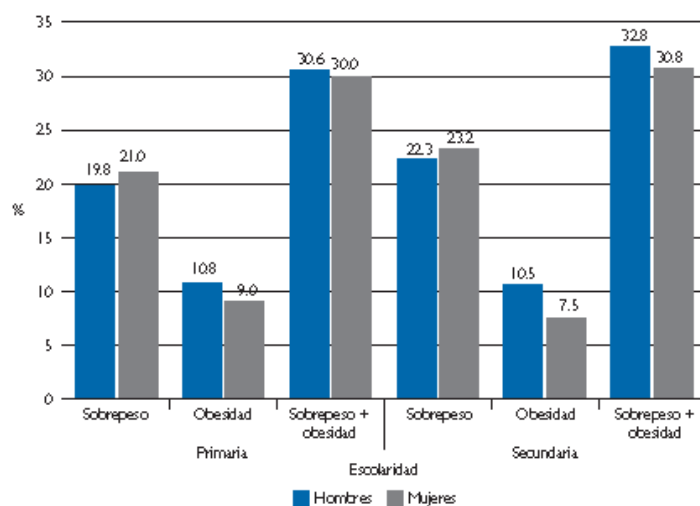


Figura 13. Prevalencia nacional de sobrepeso y obesidad en estudiantes de primaria y secundaria por sexo (Sepulveda, 2006).

La prevalencia nacional de sobrepeso se presentó en 19.8% de los hombres y 21.0% de las mujeres estudiantes de primaria y en 22.3 y 23.2%, respectivamente, de secundaria. La obesidad se observó en 10.8% de los varones y 9.0% de las mujeres de primaria y en 10.5 y 7.5%, respectivamente, de secundaria (Figura 13). Estas cifras representan más de 3 millones de estudiantes de primaria, de ambos sexos, y cerca de 1 500 000 estudiantes de secundaria, también de ambos sexos, con exceso de peso en nuestro país.

Es probable que el contenido corporal de grasa esté modulado a lo largo de la vida de una persona mediante una diversidad de efectos surgidos de interacciones entre genes, factores ambientales y estilo de vida. Estos efectos son el resultado de las diferencias en sensibilidad a la exposición al ambiente según la individualidad genética y a los diferentes estilos de vida de un individuo a otro.

Entre los genes que se han propuesto como candidatos a “generar o participar en la obesidad” (Tabla 4), cabe destacar los que codifican las proteínas desacoplantes (UCPs), el receptor β -3-adrenérgico (ADR B3), la Pro-opiomelanocortina (POMC), melanocortina (MCR) y el neuropéptido Y (NPY).

Entre los posibles factores genéticos asociados con la obesidad, las proteínas desacoplantes UCP2 y UCP3, han sido consideradas como genes candidatos para la

obesidad y el síndrome metabólico, ya que están implicados en la homeostasis de la energía. (Esterbauer y cols., 2001).

Tabla 4. Genes que han sido relacionados con el desarrollo de obesidad en humanos y su localización cromosómica

Nombre	Abreviatura	Locus
Leptina	<i>Lep</i>	7q31.3
Receptor de la Leptina	<i>Lep R</i>	1p31
Receptor β 3 adrenérgico	<i>Adrb3</i>	8p12-p11.2
Proteína desacoplante 1	<i>Ucp1</i>	4q31
Proteína desacoplante 2 y 3	<i>UCP2 UCP3</i>	11q13
Receptor de la 4- melanocortina	<i>MC4R</i>	18q22
Proopiomelanocortina	<i>PDMC</i>	2p23.3
Receptor β 2 adrenérgico	<i>ADRB2</i>	5q32-q34
Factor de necrosis tumoral	<i>TNF</i>	6p21.3
Sustrato 1 para el receptor de la insulina	<i>IRS1</i>	2q36
Receptor de la glucocorticoides	<i>GRL</i>	5q31

Aun son pocos los estudios de asociación de las variantes de la UCP y obesidad que han considerado factores externos como el estilo de vida o la edad. Un estudio sugiere que alteraciones en los genes que regulan la homeostasis energética (entre ellos UCP2 y UCP3) pueden contribuir al desarrollo de obesidad infantil en mayor medida que la obesidad en adultos (Ochoa y cols., 2007).

IV.11.1 OBESIDAD Y DISLIPIDEMIAS PEDIATRICAS

Es preocupante el incremento epidémico de la obesidad en los niños, ya que estudios de larga duración han demostrado la continuación de la obesidad, hipercolesterolemia e hipertensión desde la infancia hasta la vida adulta. Un estudio realizado con niños mostró que los niveles de colesterol elevados durante la infancia se asocian con hipercolesterolemia en la adultez (Lauer y cols 1988).

El desarrollo de la placa aterosclerótica, más que la simple acumulación de colesterol en la íntima de las paredes vasculares, representa la culminación de un proceso

complejo que involucra sustancias inflamatorias, macrófagos y linfocitos T activados, además de las lipoproteínas circulantes. En apretada síntesis, la secuencia comienza cuando el colesterol LDL se acumula debajo del endotelio de la pared arterial. La porción lipídica central de la LDL sufre oxidación y las proteínas de la superficie de la partícula se glucosilan. Así se desencadena la respuesta inflamatoria, ya que se estimulan las células endoteliales, del músculo liso, monocitos y linfocitos T. Estos últimos amplifican la respuesta inflamatoria, los monocitos maduran a macrófagos, éstos se cargan de lípidos y se convierten en las células espumosas, las cuales combinadas con las células T activadas forman la estría grasa en la íntima arterial, elemento aterosclerótico inicial. A medida que continúa el proceso inflamatorio, las células del músculo liso y fibroblastos cubren la estría grasa segregando colágeno y formando así una capa fibrosa. Esta placa va madurando y al crecer produce obstrucción de la luz arterial. Esto conducirá a fenómenos como enfermedad cerebrovascular, infarto de miocardio, o desencadenan la formación de trombos que produce el episodio coronario (Belay y cols 2004).

En los niños mayores de 2 años hasta los 20 años, se debe investigar los lípidos en los casos que presenten enfermedades con riesgo cardiovascular, tengan padres con colesterol total mayor o igual a 240 mg/dl o historia familiar de enfermedad cardiovascular temprana (IAM menores de 55 años, enfermedad cerebrovascular, enfermedad vascular periférica) en padres y abuelos

El estudio de Framingham demostró que la relación entre el colesterol LDL elevado (y el colesterol HDL bajo), y el riesgo de enfermedad cardiovascular era continuo y que no tenía valores umbral. Por ende, los límites de corte en los niveles de lípidos no representan valores ideales sino valores estadísticos, por encima de los cuales el riesgo de enfermedad cardiovascular es inaceptablemente alto. Los niveles de lípidos de lipoproteínas en los niños muestran pequeñas diferencias, aunque continuas, según la edad, sexo, estado puberal y raza. Cabe destacar que en la pubertad, los varones experimentan una disminución de los niveles de colesterol HDL y un leve aumento del colesterol LDL, lo que explica en parte la propensión de los hombres a padecer enfermedad cardiovascular a una edad más temprana que las mujeres.

IV. JUSTIFICACIÓN

Como ya se mencionó, el síndrome metabólico está asociado a la obesidad, dislipidemia y la resistencia a la insulina. La mayor incidencia de enfermedades cardiovasculares en personas obesas es en su mayor parte resultado de la asociación de estos factores de riesgo. Los niños obesos tienen niveles séricos más elevados de apolipoproteínas (APO-A1, APO-B= colesterol total y LDL colesterol), sin embargo, los niveles séricos de colesterol-HDL son más bajos en los obesos, hecho que constituye un riesgo de enfermedad cardiovascular independientemente de las concentraciones de colesterol LDL.

La obesidad infantil que existe en la población mundial, contribuye al aumento de la obesidad durante la edad adulta y con esto un aumento de las complicaciones metabólicas relacionadas. Por eso, es importante estudiar las alteraciones metabólicas que caracterizan a la obesidad juvenil y los factores genéticos asociados. Debido a su función, las proteínas desacoplantes UCP2 y UCP3 son algunos de los muchos genes que están asociados con los problemas como la obesidad. De acuerdo con este punto de vista los polimorfismos de las UCP, presentes en la población infantil, pueden predisponer que estos mismos individuos al llegar a la edad adulta, mantengan su sobrepeso.

Los niños portadores del genotipo UCP2 866 GA o AA así como el alelo 55Val en la misma proteína muestran un menor riesgo de padecer sobrepeso, comparados con aquellos que tienen el genotipo GG y el alelo 55Ala. Estas observaciones muestran que los polimorfismos de UCP2 tienen un papel predisponente en la obesidad infantil (Jun, 2008).

Los niños obesos con el genotipo -866 A/A, tienen un aumento significativo del gasto energético durante el reposo, posiblemente consistente con la disminución del riesgo de obesidad durante su etapa adulta (Esterbauer y cols., 2001). También se observó que la oxidación de la glucosa, los ácidos grasos libres y los niveles de insulina en los niños obesos con genotipo -866 A/A es mayor que en los infantes con los genotipos -866 G/G o G/A (Le Fur y cols., 2004).

V. HIPÓTESIS

Si las proteínas desacoplantes UCP2 y UCP3 han sido relacionadas como posibles factores genéticos involucrados con problemas como la obesidad, y la obesidad es un problema de salud provocada por complejas interacciones entre los genes y el ambiente; entonces, se espera que la presencia de los polimorfismos de las proteínas desacoplantes en pacientes menores de edad estén involucrados con los diferentes factores característicos de la obesidad.

VI. OBJETIVOS

VII.1 Objetivo general

Determinar la relación entre los polimorfismos de las UCPs (UCP2 -866 C/T y +55 A/G y UCP3 -55 A/G) con la obesidad en pacientes menores de edad.

VII.2 Objetivos particulares

- Determinar la frecuencia alélica y genotípica de las proteínas desacoplantes, UCP2 - C866T, UCP2 A55G y UCP3 -C55T, en una población infantil con síndrome metabólico y en una población sana.
- Comparar las características clínicas de cada grupo de estudio con los polimorfismos analizados para conocer si existe alguna relación entre ambos parámetros.
- Determinar la relación que existe entre la distribución de tamaños de las lipoproteínas de alta densidad con los polimorfismos de los genes de las proteínas desacoplantes UCP2 y UCP3, en las poblaciones de estudio.
- Una vez definidas las frecuencias, compararlas con otras poblaciones previamente reportadas para identificar las diferencias o semejanzas existentes.

VII. METODOLOGÍA

VIII.1. Población de estudio

El estudio se llevó a cabo utilizando dos poblaciones de estudio en menores de 17 años de edad, la primera consistió de pacientes con síndrome metabólico, seleccionados en el servicio de Endocrinología Pediátrica del Hospital Médico la Raza, y la segunda, fueron pacientes control seleccionados en el Hospital Infantil de México “Federico Gómez. Para ambas poblaciones no importó el sexo. Ambos grupos fueron informados del tipo de estudio a realizar y firmaron una carta de consentimiento informado.

Las siguientes características fueron tomadas en cuenta como criterios de inclusión:

- Pacientes con síndrome metabólico y confirmados como resistentes a insulina. Para ser clasificados con síndrome metabólico, los pacientes debieron cumplir con por lo menos tres de los siguientes criterios: 1. Obesidad central, circunferencia de la cintura mayor a la percentilla 90 para edad y sexo, 2. Niveles de triglicéridos mayores a 110 mg/dL, 3. Niveles de colesterol HDL menor a 40 mg/dL, 4. Tensión arterial sistólica mayor a la percentilla 90 para edad, sexo y altura, 5. Glucosa en ayuno mayor de 100 mg/dL y, 6. Índice de resistencia a la insulina HOMA mayor a 2.01

Las siguientes características fueron tomadas en cuenta como criterios de exclusión:

- Se excluyeron aquellos pacientes con problemas renales, tiroideos, hepáticos, con problemas cardiovasculares y/o neurovasculares previos al estudio, o cualquier otra enfermedad crónica relacionada con el síndrome metabólico. También se excluyeron aquellos pacientes medicados con fármacos hipolipemiantes (estatinas, fibratos o ácido nicotínico) o aquellos que ingerían fármacos que afectan el metabolismo de los lípidos y lipoproteínas (beta bloqueadores o tratamientos hormonales). Y a los pacientes que no desearon participar voluntariamente.

VIII.2. Variables

VII.2.1. Variables independientes

- Polimorfismos del gen *UCP2* en la región -866 (cambio C/T) y 55 (A/G)

- Polimorfismo en la región promotora de la proteína UCP3 con un cambio A/G en la posición -55
- Proporción de subclases de HDL: es el porcentaje de proteína determinado por densitometría óptica con respecto a la proteína total de HDL, comprendido entre 7.9-8.45nm para las HDL_{3c}, 8.45-8.98 nm para las HDL_{3b} , 8.98-9.94nm para HDL_{3a}, 9.94-10.58 nm para las HDL_{2a} y 10.58-13.5 nm para HDL_{2b} con respecto a la proteína HDL total

VII.2.2 Variables dependientes

- Síndrome metabólico: caracterizada la presencia de por lo menos tres de estos criterios: obesidad abdominal, dislipidemias, hipertensión arterial, intolerancia a la glucosa o diabetes.
- Resistencia a la insulina, se refiere a un índice HOMA>2.01

VII. 3. Medidas antropométricas

- La población de estudio consistió de 66 pacientes, con una edad promedio de 11.06±2.97, 36 femeninas y 30 masculinos. Sujetos de la misma familia no fueron reclutados.
- El peso y la estatura fueron medidos en posición estándar erecta, de espaldas al registro de la medida y sin zapatos.
- Las circunferencia de cintura fue medida entre la costilla inferior y la cresta iliaca en posición erecta con bolsillos vacíos y sin ropa abultada; la circunferencia de la cadera a la altura del trocante mayor. La relación entre estas dos medidas (C/C) representa una medida de adiposidad de la parte superior del cuerpo y fue utilizada en los análisis.(Anexo 2) El índice cadera cintura (C/C) se calcula mediante la división de la circunferencia de la cintura (en cm) por la circunferencia de la cadera (cm).
- El índice de masa corporal (IMC) fue calculado como peso (medido en kg) dividido entre la talla (medida en metros) al cuadrado.
- La presencia de obesidad se determino cuando el IMC ajustado por edad, talla y género se encontró por arriba de la percentilla 85 (Anexo 3)
- los niveles de lípidos considerados altos son valores estadísticos, por encima de los cuales el riesgo de enfermedad cardiovascular es inaceptablemente alto de acuerdo

a la percentilla 90 para edad y género (Anexo 4) o inaceptablemente bajos de acuerdo a la percentilla 90 para edad y género en el caso de HDL

- La presión arterial se midió con baumanómetro de mercurio, después de 10 minutos de reposo, en cada sujeto se tomaron tres mediciones y se reportó el promedio de la segunda y la tercera. La presencia de hipertensión (HTA) se consideró cuando la tensión arterial sistólica y/o diastólica, ajustada por edad, talla y género se encontró por arriba de la percentilla (TAS y/o TAD >p95) (Anexo 5)

VII. 4. Toma de muestra y separación de fases

A cada paciente se le tomo una muestra de sangre venosa después de un ayuno de 12 horas, colectada en tubos con EDTA o heparina como anticoagulante. Las muestras fueron centrifugadas a 2500 rpm durante 15 minutos, al término de este tiempo se separó el plasma, que fue almacenado a -70°C hasta el momento de su análisis. El paquete celular fue mantenido en refrigeración hasta su posterior extracción de DNA

VII.5. Purificación de DNA

Se llevó a cabo con la técnica de expulsión salina de Miller (Miller y cols. 1998). Al paquete celular almacenado, proveniente de sangre periférica, se le adicionan 40 ml en solución de lisis hipotónica (Tris HCl 10mM, pH 7.6, MgCl₂ 5mm y NaCl 10mM) para lisar los glóbulos rojos mezclados con los leucocitos. La muestra se agita con fuerza y centrifuga durante 10 minutos a 2500 rpm, el sobrenadante se desecha. Este proceso se repite hasta obtener un botón limpio y libre de eritrocitos. El botón se resuspende con 160 µL de buffer de proteinasa, 40 µL de proteinasa K (10 mg/ml) y SDS al 20%, y se transfiere a un tubo eppendoff estéril. La mezcla se deja incubar durante toda la noche a 37°C y al día siguiente se le agregan 240 µL de NaCl 5 M. Después de agitar la muestra se centrifuga a 14000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante se traspasa a un tubo nuevo, este paso se repite hasta que se obtenga un sobrenadante translucido libre de partículas suspendidas.

Una vez obtenido el sobrenadante se le agrega 750 µL de etanol frio al 96% y se agita suavemente, en éste paso el DNA precipita y se decanta el sobrenadante. Se agrega etanol frio al 70% y se agita hasta separar el pellet formado por la centrifugación. Se centrifuga nuevamente bajo las mismas condiciones. Posterior a la centrifugación se

retira el sobrenadante y se deja secar el precipitado, permitiendo que se evapore todo el etanol.

El DNA extraído se cuantifica por espectrofotometría a una longitud de onda de 260 nm y ajustamos todas las muestras a 10 ng/μL.

VII. 6. Perfil de lípidos

Se utilizaron métodos colorimétricos y enzimáticos de punto final estandarizados (Boehringer Mannheim, Germany) adaptado a un analizador Hitachi 750 para el análisis de los niveles séricos de colesterol total y triglicéridos. El colesterol HDL (C-HDL) fue medido después de la precipitación de las lipoproteínas que contienen apoB mediante la utilización de fosfotungstato /Mg²⁺. Las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) fueron calculadas en las muestras con triglicéridos menores a 400 mg/dL usando la fórmula de Friedewald (Friedewald, 1972).

VII. 7. Análisis de glucosa

La glucosa en ayunas se determinó por métodos enzimáticos colorimétricos comerciales (Boehinger-Mannheim, Alemania). La insulina se midió en alícuotas de suero conservadas a -70°C, mediante un radioinmunoensayo de fase sólida (Coat-A-count; Diagnostic Products, Los Ángeles CA). En donde un anticuerpo específico, inmovilizado en a pared de un tubo de polipropileno, es incubado en una cantidad constante de insulina marcada con 125I y la muestra del paciente. Éste es un ensayo de inmunocompetencia, en donde la concentración de insulina en la muestra es proporcional a la cantidad de marca (125I) desplazada. Cada muestra fue procesada por duplicado e interpolada en una curva patrón incluida en cada ensayo. El índice HOMA fue determinado de acuerdo al modelo propuesto por Matthews y cols. (Matthews y cols., 1985). Utilizando la siguiente formula: $\text{Insulina de ayuno } (\mu\text{U/mL}) \times \text{glucosa de ayuno } (\text{mmol/L}) / 22.5$.

VII.8. Distribución de subclases de HDL

Las subclases de HDL fueron determinadas en HDL aisladas por ultracentrifugación secuencial. Mediante electroforesis en gradiente (4% al 30%) en gel de poliacrilamida en condiciones nativas (PAGE) como referencia se utilizaron estándares de alto peso

molecular (Amersham Biosciences, England) con diámetros conocidos (tiroglobulina 17 nm, ferritina 12.2 nm, catalasa 10.4 nm, lactato deshidrogenasa 8.2 nm y albumina 7.1 nm). Posteriormente se tiñó el gel con azul de Coomassie R250 y la proporción relativa en las diferentes subpoblaciones de HDL fueron cuantificadas por densitometría con un scanner BIO-RAD GS670, considerando los siguientes intervalos: HDL_{3c} 7.8-7.2nm, HDL_{3b} 8.2-7.8nm, HDL_{3a} 8.8-8.2nm HDL_{2b} 9.7-8.8nm y HDL_{2a} 12.9-9.7 nm. El coeficiente de variación para cada una de las subpoblaciones de HDL fue menor al 10% (Warnick y cols., 2006). El tamaño promedio de partícula representa la distribución total de las subpoblaciones y se calculó considerando la proporción de cada subpoblación por su tamaño. El coeficiente de variación para esta determinación fue menor del 1%.

VII.9. Determinación del genotipo

El análisis de los polimorfismos se llevó a cabo mediante amplificación por PCR en Tiempo Real (Applied Biosystems Assay By Design). La detección de los polimorfismos se realizó por medio de sondas marcadas con dos fluorocromos (VIC y FAM Taq Man) para el alelo silvestre se utilizó la sonda marcada con VIC y el alelo mutante la sonda marcada con FAM. Las sondas utilizadas se enlistan a continuación:

SNPs	Fluorocromo	Sonda
UCP2 snp -866 C/T	VIC	TGACCCGTCTGTGGGGGTAAGTGA <u>C</u> GCGTGAACAGCCAACAATTGGGCC
	FAM	TGACCCGTCTGTGGGGGTAAGTGA <u>T</u> GCGTGAACAGCCAACAATTGGGCC
UCP2 snp 55 A/G	VIC	CATCACACCGCGGTACTGGGCGCTG <u>A</u> CTGTAGCGCGCACTGGCCCCTGACT
	FAM	CATCACACCGCGGTACTGGGCGCTG <u>G</u> CTGTAGCGCGCACTGGCCCCTGACT
UCP SNP -55 A/G	VIC	GGCTTGGCACTGGTCTTATACACAC <u>A</u> GGCTGACCTGAAACCTTATCCTAGA
	FAM	GGCTTGGCACTGGTCTTATACACAC <u>G</u> GGCTGACCTGAAACCTTATCCTAGA

La amplificación se llevo a cabo en las siguientes condiciones (por pozo):

Master Mix ^a (1X)	5 µL
SNP (sonda) (10x)	0.85 µL
ADN (10 ng/µl)	4.5 µL

^a AmpliTaq Gold DNA Polymerasa, dNTPs, con dUTP y buffer son componentes optimizados

Condiciones de PCR tiempo Real		
Desnaturalización inicial	50°C 2 minutos	1 ciclo
Desnaturalización	95°C 10 minutos	1 ciclo
Alineamiento	95° C 50 segundos	40 ciclos
Extensión	60°C 1 minuto	40 ciclos

El sistema de detección por fluorescencia (sondas TaqMan) empleado en la PCR en tiempo real son oligonucleótidos marcados con un fluorocromo donador en el extremo 5' que emite fluorescencia al ser excitado y un aceptor (apagador) en el extremo 3' que absorbe la fluorescencia liberada por el donador. Para que esto ocurra, las moléculas donadora y aceptor deben estar especialmente próximas. Mientras la sonda está intacta, la fluorescencia liberada por el donador. Para que esto ocurra, las moléculas donadora y aceptor deben estar especialmente próximas. Mientras la sonda este intacta la fluorescencia emitida por el donador es absorbida por el aceptor. Sin embargo, durante la amplificación de ADN diana, la sonda se hibrida con su cadena complementaria. Al desplazarse a lo largo de la cadena, en su acción de síntesis, la ADN polimerasa de *Thermus aquaticus* que tiene actividad 5' exonucleasa, hidroliza el extremo libre 5' de la sonda, produciéndose la liberación del fluorocromo donador. Como donador y aceptor están, ahora, especialmente alejados, la fluorescencia emitida por el primero es aptada por el lector (TD3)

VII.10. Discriminación alélica

La discriminación alélica se realizo con el programa ABI Prism 7000 SDS Software, el cual detecta la sonda específica para cada uno de los alelos, y los grupos indicando si son homocigotos o heterocigotos.

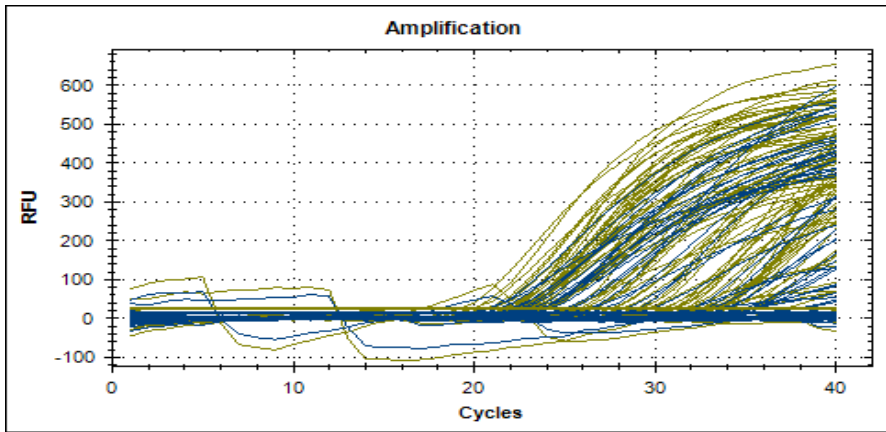


FIG 14. Discriminación alélica. En la imagen se muestra un ensayo de discriminación alélica en el que se observan agrupadas las muestras de acuerdo a la fluorescencia emitida en homocigotos silvestres, heterocigotos y homocigotos mutantes

VII.11. Análisis estadístico

Las frecuencias génicas se obtuvieron mediante cuenta directa para las familias y por medio de la fórmula de Haldane para los individuos no relacionados (TD)

$$F_g = 1 - \sqrt{1 - A}$$

Donde F_g es la frecuencia génica y A es la frecuencia del alelo en la población determinada como porcentaje. La comparación entre casos y controles se analizó por la prueba de t de Student y por un análisis de covarianza (ANOVA) para evaluar el posible efecto de los polimorfismos estudiados.

Se realizó una prueba de χ^2 cuadrada para evaluar diferencias significativas entre las variables nominales de los grupos de estudio. Se realizó la prueba de χ^2 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.

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

- La población es panmíctica (todos los individuos tienen la misma probabilidad de aparearse y el apareamiento es el azar)

- La población es suficientemente grande (para minimizar las diferencias existentes entre los individuos)
- La población no está sometida a migración, mutación o selección (no hay pérdida ni ganancia de alelos)
- Las frecuencias génicas y genotípicas se mantienen constantes de generación en generación.

Bajo estas circunstancias se dice que las poblaciones genéticas están en equilibrio. Las comparaciones estadísticas fueron realizadas con el software para Windows SPSS versión 19 (SPSS Inc. Chicago USA). Los resultados están expresados como media \pm S.D., para variables continuas. Las diferencias entre grupos fueron analizadas por ANOVA considerando significativo un valor de $p < 0.05$. La asociación simple entre las variables estudiadas fue analizada con la prueba de Pearson, y la independencia de las asociaciones mediante un análisis multivariado de regresión por pasos.

Para el análisis de asociación múltiple de los polimorfismos estudiados con al enfermedad se utilizó el programa SNPstat (Instituto Catalán de Oncología, Barcelona, España).

VIII. RESULTADOS

VIII.1 Características clínicas de la población total y por grupo de estudio (controles y casos-SM)

Los promedios de las características clínicas de la población de estudio se muestran en la Tabla 6. El estudio se realizó con 66 individuos menores de 17 años, el 55% de género femenino y el 45% restante fueron del género masculino. Siguiendo el criterio modificado para niños y adolescentes establecido por el NCEP/ATP III se consideró que los pacientes con valores de CT > 200 mg/dl tenían hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia con niveles > 110 mg/dl e hipoalfalipoproteinemia aislada cuando los niveles de C-HDL fueron < 40 mg/dl en hombres y mujeres. Los valores de glucemia mayores a 100 se asumieron como glucosa en ayuno alterada (GAA). Bajo estos criterios los niveles de CT en la población total del estudio fueron 171.14 ± 36.8 mg/dL, C- HDL 41.27 ± 10.40 y glucosa de 96.90 ± 9.30 mg/dL.

Tabla 6 Características clínicas de la población de estudio

Características clínicas de la población de estudio	
N=66	
Género (M/F)	36/30
Edad	11.06 ± 2.97
IMC	23.44 ± 4.92
CC	0.87 ± 0.06
TAS	96.03 ± 19.14
TAD	61.77 ± 11.60
Glucosa (mg/dL)	96.90 ± 9.30
TG (mg/dL)	140.96 ± 71.65
CT (mg/dL)	171.14 ± 36.84
C-HDL (mg/dL)	41.27 ± 10.40
insulina en ayuno	11.08 ± 7.69
HOMA IR	2.70 ± 1.96

IMC=Índice de Masa Corporal (peso/talla²). C/C= Coeficiente cintura-cadera.
TAS=Tensión Arterial Sistólica. TAD= Tensión Arterial Diastólica HOMA IR=
Índice de resistencia a la insulina. CT: colesterol total

En base a los criterios anteriores se dividió a la población en dos grupos, los diagnosticados con síndrome metabólico o casos (n=28) y el grupo control o individuos clínicamente sanos (n=39). Reclutados en el Hospital Infantil de México “Federico Gómez” en la Ciudad de México. Las características clínicas de nuestra población de estudio se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7 Características clínicas por grupo de estudio

	Grupo Control	Grupo Casos	P
N	39	28	
Género F/M	21/18	15/13	0.731
Edad (años)	9.8±2.6	12.9±2.5	0.41
IMC (kg/m²)	22.3±5.0	25.0±4.5	0.938
C/C	0.88±0.06	0.87±0.07	0.154
TAS	97.0±12.5	98.4±18.3	0.479
TAD	61.9±7.3	63.7±10.5	0.347
Glu (mg/dL)	94.4±6.14	100.5±11.8	0.017*
TG (mg/dL)	138.9±72.0	142.1±73.1	0.617
CT (mg/dL)	175.8±25.6	164.4±48.8	0.047*
C-HDL (mg/dL)	43.5±11.4	38.1±8.1	0.038*
Insulina ayuno (mg/dL)	10.3±5.1	14.5±9.3	0.643
Insulina 2 hrs (mg/dL)	54.8±6.3	83.7±13.9	0.010
HOMA-IR	2.7±1.3	3.2±2.6	0.05*

Valores medios ±D.E.; prueba post hoc *P<0.05. IMC=Índice de Masa Corporal (peso/talla²). C/C= Coeficiente cintura-cadera. TAS=Tensión Arterial Sistólica. TAD= Tensión Arterial Diastólica HOMA IR= Índice de resistencia a la insulina. CT: colesterol total

Con respecto a las medidas antropométricas, el nivel de glucosa en sangre (94.4±6.14 vs 100.5±11.8; p=0.017) presenta diferencias significativas con respecto al grupo control. El grupo de pacientes presenta niveles de colesterol total (175.8±26.6 vs

164.4±48.8; p=0.009) así como de colesterol HDL disminuidos con respecto al grupo control (43.4±11.5 vs 38.1±8.1; p=0.038).

También se observó un aumento en el índice de resistencia a la insulina en los sujetos con síndrome metabólico con respecto a aquellos clínicamente sanos (2.7±1.3 vs 3.2±2.6; p=0.05), lo cuál está relacionado con los niveles aumentados de insulina a las 2 horas en el grupo de pacientes (54.8±6.3 vs 83.7±13.9; p=0.01)

VIII.2 Frecuencias alélicas y genotípicas de las proteínas desacoplantes mitocondriales en la población total y dividida por grupo de estudio

La Tabla 8 muestra las frecuencias genotípicas y alélicas del SNP en la posición -866 del gen *UCP2* tanto en pacientes como controles.

Tabla 8 Frecuencias genotípicas y alélicas del SNP en la posición -866 del gen

	Grupo Control n=33	Grupo Casos n=30	P	OR 95% (IC)
CC	23.5%	21.4%	0.85	0.88 (0.026-2.94)
CT	58.8%	50.0%	0.48	0.70 (0.25-1.91)
TT	17.68%	28.6%	0.30	1.86(0.55-6.22)
Alelos				
C	53.0%	46.4%	0.47	0.77 (0.37-1.56)
T	47.0%	53.5%		

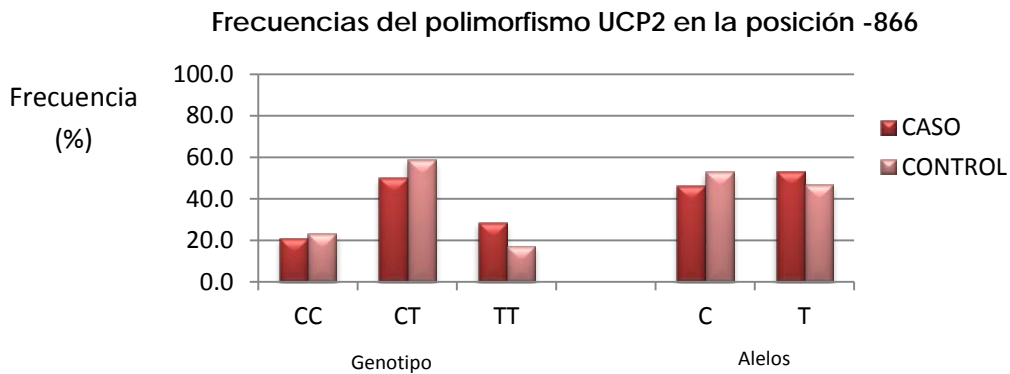
Valores comparados mediante χ^2 . Intervalo de confianza del 95%

La frecuencias alélicas para este polimorfismo mostraron una disminución del alelo C en los pacientes con síndrome metabólico con respecto a los sujetos control (46.4% vs 53.0%) y por ende un aumento del alelo T en los pacientes (53.5 vs 47.0%). Sin embargo no se encontraron diferencias significativas al comparar las frecuencias alélicas para este polimorfismo (Gráfica 1).

El análisis del genotipo TT se encontró aumentado casi al doble en los pacientes (17.6% vs 28.6) y el genotipo CT se observó disminuido en un 8.8% en los pacientes

(58.8% vs 50.0%); ambos comparados con los sujetos control. No obstante, ninguno de estos cambios mostró diferencias estadísticamente significativas.

Gráfica 1. Frecuencias genotípicas y alélicas del SNP en la posición -866 del gen UCP2 en pacientes y controles



La Tabla 9 muestra las frecuencias genotípicas y alélicas del SNP en la posición 55 del gen *UCP2* tanto en el grupo diagnosticado con síndrome metabólico como en controles.

Tabla 9 Frecuencias genotípicas y alélicas de UCP2 55 AG

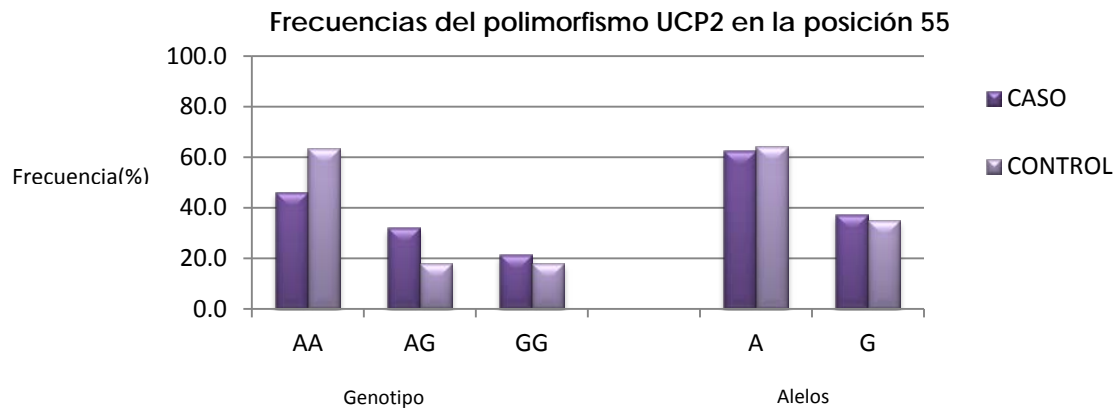
	Grupo Control n=33 %	Grupo Casos n=30 %	P	OR 95% (IC)
AA	63.64	46.4	0.17	0.48(0.17-1.38)
AG	18.2	32.13	0.20	2.13 (0.64-6.9)
GG	18.2	21.4	0.58	1.42 (0.39-5.08)
Alelos				
A	64.7	62.5	0.81	0.90 (0.41-2.0)
G	35.2	37.5		

Valores comparados mediante χ^2 . Intervalo de confianza del 95%

Para el análisis genotípico correspondiente a este polimorfismo se observa una disminución del 17.2% en el genotipo AA del grupo de pacientes con respecto al de individuos sanos (63.64% vs 46.4%) y el genotipo AG se observó aumentando a prácticamente el doble en el grupo con síndrome metabólico comparándolo con el

grupo control (32.13% vs 18.2%) pero sin encontrarse diferencia estadísticamente significativas (Gráfica 2).

Gráfica 2 Frecuencias genotípicas y alélicas del SNP en la posición 55 del gen *UCP2* en pacientes y controles



Para el último SNP estudiado, el referente al gen *UCP3* en la posición -55 en su análisis por genotipos observamos una disminución del 9.3% (12.9% vs 3.6%) del genotipo GG en el grupo de casos, es decir, que el genotipo GG se presenta en una proporción tres veces menor en el grupo con síndrome metabólico que en aquel con individuos clínicamente sanos. También se observó un aumento significativa del 9.8% (58.1% vs 67.9%; $p=0.05$) en el genotipo AA en el mismo grupo comparándolos con el grupo control. (Tabla 10 y Gráfica 3)

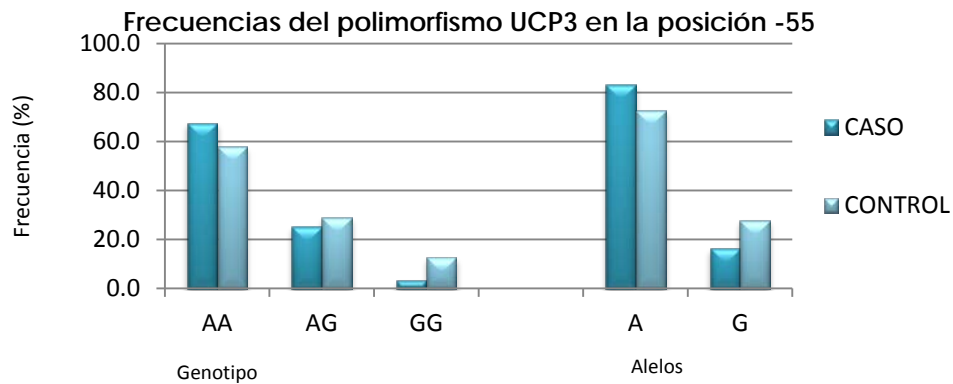
Tabla 10 Frecuencias genotípicas y alélicas de UCP3 -55 A/G

	Grupo Control(%) n=33	Grupo Casos (%) n=30	P	OR 95% (IC)
AA	58.1	67.9	0.05*	0.41 (0.16-1.03)
AG	29.0	25.3	0.79	0.85 (0.26-2.72)
GG	12.9	3.6	0.21	0.25 (0.02-2.47)
Alelos				
A	72.7	83.3	0.16	1.88 (0.76-4.68)
G	27.8	16.6		

Valores comparados mediante χ^2 . Intervalo de confianza del 95%

Respecto a las frecuencias alélicas de este polimorfismo se encontró una disminución del alelo G en el grupo de casos con respecto al control (27.8% vs 16.6%) y por ende un aumento del alelo A en los pacientes (83.3% vs 72.7%). Sin embargo no se presentaron diferencias estadísticamente significativas al comparar las frecuencias alélicas del polimorfismo (Gráfica 3)

Gráfica 3. Frecuencias genotípicas y alélicas del SNP en la posición -55 del gen *UCP3* en pacientes y controles



Para determinar si la población estudiada se encontraba en equilibrio Hardy Weinberg se realizó una prueba de χ^2 . El cálculo de las frecuencias genotípicas y alélicas se realizó por conteo directo y se observó que la población de estudio no presentaba sesgo ya que el valor de p no fue significativo en ningún caso (datos no mostrados)

VIII.3 Análisis de las características clínicas de cada grupo de estudio (controles vs casos- SM) de acuerdo al genotipo de cada uno de los polimorfismos estudiados (UCP2 -866 C/T Y 55^a/G así como UCP3 -55 A/G)

Los SNPS de las proteínas desacoplantes mitocondriales y su relación con los parámetros clínicos (edad, IMC, TAD, TAS, colesterol total, CHDL, etc.) se agruparon de acuerdo a cada uno de los polimorfismos estudiados. Los datos se muestran como el promedio y su respectiva desviación estándar.

VIII.3.1 UCP2 C-866T

En la Tabla 11 se muestran las características clínicas de la población de estudio total por genotipo para el polimorfismo en la posición -866 del gen *UCP2*. Se encontraron

diferencias significativas en los niveles de triglicéridos, colesterol total y colesterol HDL, insulina medida después de 2 horas de consumo de una solución glucosada. ($P>0.05$)

Se puede observar un aumento en los niveles de triglicéridos ($p<0.05$; 142.37 ± 62.41 mg/dL vs 102.42 ± 34.65 mg/dL), colesterol total (168.00 ± 36.02 mg/dL vs 154.13 ± 53.41 mg/dL; $p<0.05$); así como también se pueden apreciar niveles menores de colesterol HDL (39.28 ± 7.55 mg/dL vs 45.65 ± 9.93 mg/dL) en el homocigoto CC al compararlo con el homocigoto TT.

Tabla 11. Características clínicas de la población total para el genotipo *UCP2*. Polimorfismo -866 C/T

Genotipo	CC	CT	TT
N	14	33	14
Género (M/F)	5/9	15/19	7/7
Edad	12.46 \pm 2.93	10.58 \pm 3.04	12.15 \pm 2.55
IMC	22.82 \pm 4.11	23.41 \pm 4.88	23.64 \pm 4.01
CC	0.87 \pm 0.08	0.87 \pm 0.06	0.87 \pm 0.07
TAS	97.54 \pm 12.33	97.26 \pm 16.73	94.67 \pm 14.50
TAD	60.46 \pm 4.70	63.42 \pm 8.42	61.67 \pm 12.09
Glu (mg/dL)	95.46 \pm 10.07	96.87 \pm 6.97	99.38 \pm 12.08
TG (mg/dL)	142.37 \pm 62.41	159.55 \pm 81.96	102.42 \pm 34.65*
CT (mg/dL)	168.00 \pm 36.02	179.81 \pm 28.20	154.13 \pm 53.41*
CHDL (mg/dL)	39.28 \pm 7.55	40.75 \pm 8.97	45.65 \pm 9.93
Insulina en ayuno	11.09 \pm 6.79	12.59 \pm 8.65	10.92 \pm 4.28*
HOMA IR	2.71 \pm 1.86	2.80 \pm 2.18	2.42 \pm 1.47*

Valores medios \pm D.E.; prueba post hoc * $P<0.05$ t de student IMC=Índice de Masa Corporal (peso/talla²). C/C= Coeficiente cintura-cadera. TAS=Tensión Arterial Sistólica. TAD= Tensión Arterial Diastólica HOMA IR= Índice de resistencia a la insulina. CT: colesterol total *CC vs TT

También se encontraron diferencias significativas en los niveles de insulina entre los genotipos homocigotos (11.09 ± 6.79 vs 10.92 ± 4.28) lo cual está relacionado con la

diferencia significativa encontrada entre los mismos genotipos respecto al índice de resistencia a insulina (2.71 ± 1.86 vs 2.42 ± 1.47)

Se realizó el estudio de las características clínicas divididas de acuerdo al grupo de estudio y genotipo (Tabla 12).

Tabla 12. Comparación de las características clínicas para el polimorfismo -866 C/T

	CONTROLES			CASOS		
	CC	CT	TT	CC	CT	TT
N	7	19	6	6	14	8
Género (M/F)	3/4	7/12	4/2	2/4	6/8	3/5
Edad	11.43 \pm 3.15	9.32 \pm 2.63	10.33 \pm 1.63	13.67 \pm 2.33	12.71 \pm 2.43	12.38 \pm 2.62
IMC	20.98 \pm 4.21	21.62 \pm 3.99	23.07 \pm 2.75 ϕ	24.96 \pm 3.00	25.64 \pm 4.85	24.10 \pm 4.88
CC	86.86 \pm 5.27	87.47 \pm 6.26	87.33 \pm 6.02	87.83 \pm 10.63	86.00 \pm 5.90	88.50 \pm 6.93
TAS	94.29 \pm 15.11*	96.05 \pm 11.62	95.00 \pm 8.37	101.33 \pm 7.66	98.57 \pm 21.43	95.00 \pm 18.52
TAD	58.57 \pm 3.78	61.31 \pm 7.04**	62.50 \pm 6.12	62.67 \pm 5.01	66.64 \pm 9.16	59.75 \pm 14.31
Glu (mg/dL)	94.43 \pm 7.18*	94.37 \pm 4.22**	97.80 \pm 9.18	96.67 \pm 13.35	100.28 \pm 10.5	103.00 \pm 13.1
TG ((mg/dL)	140.6 \pm 67.7	144.6 \pm 64.18	90.18 \pm 25.02 ϕ	147.8 \pm 55.6	164.7 \pm 73.6	121.14 \pm 24.4
CT (mg/dL)	168.57 \pm 30.34	182.31 \pm 22.57	161.93 \pm 15.3	167.33 \pm 44.82	171.40 \pm 35.6	163.75 \pm 45.0
C-HDL (mg/dL)	38.41 \pm 5.36	43.04 \pm 9.58	53.82 \pm 15.27 ϕ	40.28 \pm 10.00	36.42 \pm 7.14	39.50 \pm 7.61
insulina en ayuno	15.34 \pm 11.75*	10.00 \pm 5.03**	8.55 \pm 4.85	11.83 \pm 7.29	14,21 \pm 12.64	11.33 \pm 5.09
HOMA IR	3.57 \pm 2.65*	2.33 \pm 1.18**	2.14 \pm 1.23	2.97 \pm 2.19	3.52 \pm 3.16	2.94 \pm 1,55

Valores medios \pm D.E.; prueba post hoc *P<0.05.ANOVA IMC=Índice de Masa Corporal (peso/talla²). C/C= Coeficiente cintura-cadera. TAS=Tensión Arterial Sistólica. TAD= Tensión Arterial Diastólica HOMA IR= Índice de resistencia a la insulina. CT: colesterol total *CC control vs CC casos, **CT control vs CT casos, ϕ TT control VS TT casos

Al comparar las características clínicas del grupo en el grupo control para el SNP -866 C/T dividido por genotipos (Tabla 12) se pudo observar un aumento significativo ($p<0.05$) entre los valores de índice de masa corporal en el genotipo TT (23.07 ± 2.75 vs 24.10 ± 4.88) en los niveles de triglicéridos ($90.18 \pm$ vs 121.14 ± 24.4) así como una

disminución en los niveles de colesterol HDL (53.82 ± 15.27 vs 39.50 ± 7.61) entre el grupo de individuos que padecen el llamado Síndrome X al compararlos con los individuos sanos.

También se observan diferencias significativas al presentarse una disminución en los valores de TAS (94.29 ± 15.11 vs 101.33 ± 7.66) y un aumento en los niveles de insulina en ayuno (15.34 ± 11.75 vs 11.83 ± 7.29) y en el índice de resistencia a la insulina (3.57 ± 2.65 vs 2.97 ± 2.19) del grupo clínicamente sano respecto al grupo de casos en el genotipo homocigoto AA.

Respecto al genotipo heterocigoto CT podemos apreciar un aumento significativo ($p>0.05$) en los valores de Tensión Arterial Diastólica (61.31 ± 7.04 vs 66.64 ± 9.16) y en los niveles de glucosa (94.37 ± 4.22 vs 100.28 ± 10.5) así como en los niveles de insulina en condiciones de ayuno (10.0 ± 5.03 vs 14.21 ± 12.64) y en el índice de resistencia a la insulina (2.33 ± 1.18 vs 3.52 ± 3.16) en el grupo con síndrome metabólico al compararlo al grupo clínicamente sano.

IX.3.2 UCP2 A 55G

En cuanto al análisis del polimorfismo SNP 55 en la población de estudio (Tabla 13) del gen *UCP2* se encontraron diferencias significativas ($p>0.05$) en los valores de Tensión Arterial Diastólica tanto del genotipo heterocigoto (65.43 ± 9.91) como del homocigoto silvestre (AA) (61.66 ± 8.93) al compararlos con el genotipo homocigoto GG (60.0 ± 4.55); la presión sistólica arterial se encuentra aumentada significativamente en el genotipo AA (91.19 ± 14.86) respecto al homocigoto GG (87.5 ± 8.29). También se encuentra una diferencia estadísticamente significativa en los niveles disminuidos de colesterol total en el genotipo heterocigoto respecto al genotipo GG ($p<0.05$).

Tabla 13 Características clínicas de la población en general por genotipo *UCP2* para el polimorfismo 55 AG

Genotipo	AA	AG	GG
N	34	14	13
Género (M/F)	13/21	5/7	7/8
Edad	11.38±2.78	11.64±2.82	10.6±3.45
IMC	23.17±4.92	23.64±5.08	21.8±2.96
CC	0.87±0.06	0.88±0.07	0.9±0.1
TAS	97.19±14.86*	96.07±20.21	87.5±8.29
TAD	61.66±8.93*	65.43±9.91¥	60±4.55
Glu (mg/dL)	98.59±9.30	95.21±8.17	97.1±11.5
TG ((mg/dL)	129.61±63.97	140.79±75.24	150±95.52
CT (mg/dL)	163.84±41.41	173.64±25.52¥	185.3±39.23
CHDL (mg/dL)	41.74±10.88	40.87±10.55	42.3±8.85
Insulina en ayuno	12.14±7.65	11.83±8.02	11.5±6.97
HOMA IR	2.71±2.06	2.75±1.91	2.7±2.2

Valores medios ±D.E.; prueba post hoc *P<0.05 t de student IMC=Índice de Masa Coproral (peso/talla²). C/C= Coeficiente cintura-cadera. TAS=Tensión Arterial Sistólica. TAD= Tensión Arterial Diastólica HOMA IR= Índice de resistencia a la insulina. CT: colesterol total *AA vs GG; ¥AG vs GG; ΦAG vs AA

Aunque las demás características clínicas no presentan diferencias significativas entre sus valores se pueden vislumbrar ciertas tendencias como son: los valores de triglicéridos elevados así como los niveles de insulina en ayuno disminuidos en la población general con el alelo T en relación al alelo A.

Comparando las características clínicas por grupo de estudio del polimorfismo en la posición 55 del gen *UCP2* (Tabla 14) pudimos observar que al comparar casos contra controles encontramos valores significativamente aumentados del índice de masa corporal (22..22±3.23 vs 24.42±5.89) así como de la tensión arterial sistólica (95.00±12.23 vs 96.67±23.98) y en la tensión arterial diastólica (63.00±9.75 vs 66.78±10.32) en el grupo de pacientes del genotipo heterocigoto (AG) al compararlo con el grupo de menores sanos (Tabla 14).

Tabla 14 comparación de las características clínicas para el polimorfismo 55 AG de la proteína UCP2

	CONTROLES			CASOS		
	AA	AG	GG	AA	AG	GG
	21	5	7	13	9	6
Género (M/F)	9/12	¼	¾	7/6	2/7	2/4
edad	10.19±2.52	10.20±2.17	8.43±3.26	12.92±2.60	12.44±2.92	13.17±1.17
IMC	21.40±4.37	22.22±3.23¥	21.02±3.83	26.56±3.85	24.42±5.89	22.73±1.25
CC	86.71±4.96*	88.20±9.58	89.00±6.14	87.69±6.52	87.33±6.25	85.50±10.45
TAS	96.19±12.03	95.00±12.23¥	95.71±9.76	98.46±18.19	96.67±23.98	99.67±6.38
TAD	61.19±5.90	63.00±9.75¥	58.57±3.78 φ	62.77±12.24	66.78±10.32	61.67±5.13
Glu (mg/dL)	95.90±6.71	91.60±3.85	94.00±4.55	102.23±11.19	97.22±9.40	100.65±16.29
TG (mg/dL)	167.57±195.37	159.40±94.90	134.86±91.33	141.97±61.54	130.44±66.02	167.62±105.80
CT (mg/dL)	174.08±22.93	174.20±23.99	187.86±34.10	158.40±41.67	173.33±27.75	182.40±47.74
CHDL (mg/dL)	45.42±11.16*	43.88±15.42	41.47±6.00	35.03±4.30	39.20±7.28	43.23±11.95
insulina en ayuno	10.96±8.18	10.64±8.2	13.76±10.86	13.37±10.53	12.49±9.56	12.40±10.08
HOMA IR	2.61±1.88	2.40±1.09	3.12±2.28	3.37±2.68	2.94±2.27	3.39±2.96

Valores medios ±D.E.; prueba post hoc *P<0.05.ANOVA IMC=Índice de Masa Corporal (peso/talla²). C/C= Coeficiente cintura-cadera. TAS=Tensión Arterial Sistólica. TAD= Tensión Arterial Diastólica HOMA IR= Índice de resistencia a la insulina. CT: colesterol total. *AA control vs AA casos; ¥AG vs AG casos; φ GG control VS GG casos

Para el genotipo heterocigoto AA al comparar el grupo control contra el grupo de individuos con síndrome metabólico obtuvimos una diferencia significativa de $p=0.048$ entre la relación cintura-cadera del grupo control al compararlo con el grupo de pacientes (86.71 ± 4.96 vs 87.69 ± 6.52). también podemos observar una disminución ($p=0.016$) en los niveles de colesterol HDL (45.42 ± 11.16 vs 35.03 ± 4.30) en el grupo con síndrome metabólico.

Por último, en el genotipo GG existe una diferencia significativa en la TAD (58.57 ± 3.78 vs 61.67 ± 5.13) al existir un aumento en el grupo con el síndrome de Reaven.

Adicionalmente podemos añadir que observamos un incremento en los valores de resistencia a insulina en el grupo con síndrome X respecto al grupo control en todos los genotipos igualmente en los niveles de glucosa aunque esta tendencia no presenta diferencias significativas. Por el contrario los valores de colesterol se encuentran aumentados en todos los genotipos del grupo control al compararlos con los pacientes.

IX.3.3 UCP3 A-55G

Para el polimorfismo -55 A/G del gen *UCP3* (Tabla 15) se hallaron diferencias significativas en el género ya que se observó que había mayor número de mujeres en los genotipos con el alelo A en comparación con aquellos con el alelo G. Asimismo se observó un índice de masa corporal significativamente acrecentado en aquellos genotipos con el alelo silvestre (A) respecto al homocigoto GG.

También se encontraron valores significativamente menores de colesterol total en el homocigoto GG (162.60 ± 29.04 mg/dL) respecto al heterocigoto (179.87 ± 28.36)

Se puede observar que el genotipo heterocigoto presenta niveles disminuidos de colesterol de alta densidad HDL (38.14 ± 8.19 mg/dL) respecto a los homocigotos así como niveles de colesterol total (179.87 ± 28.34) y triglicéridos aumentados (196.95 ± 90.42 mg/dL) aunque no se presentan diferencias significativas al compararlo con los otros genotipos (para colesterol CC: 170.11 ± 42.28 mg/dL y GG 162.60 ± 29.04 mg/dL y triglicéridos CC: 130.35 ± 50.30 mg/dL y GG: 103.65 ± 42.78 mg/dL)

Tabla 15 Características clínicas de la población en general por genotipo UCP3 para el polimorfismo -55AG

	AA	AG	GG
N	37	16	5
Género (M/F)	19/18*	4/12	1/4¥
Edad	11.03±2.85	10.33±3.20	12.80±2.49
IMC	23.45±4.4*	22.85±4.25φ	21.63±4.47
CC	0.88±0.07*	0.88±0.04φ	0.85±0.05
TAS	94.81±16.09	97.33±11.63	100.00±15.81
TAD	61.75±8.49	64.27±9.65	58.00±4.47
Glu (mg/dL)	98.19±10.74	94.53±6.62	96.60±9.15
TG ((mg/dL)	130.35±50.30	196.95±90.42	103.65±42.78
CT (mg/dL)	170.11±42.28	179.87±28.34	162.60±29.04¥
CHDL (mg/dL)	42.96±11.41	38.14±8.19	43.08±7.67
Insulina en ayuno	11.37±7.51	13.51±7.18	10.26±6.08
HOMA IR	2.51±2.07	3.17±1.76	2.50±1.58

Valores medios ±D.E.; prueba post hoc *P<0.05 t de student IMC=Índice de Masa Corporal (peso/talla²). C/C= Coeficiente cintura-cadera. TAS=Tensión Arterial Sistólica. TAD= Tensión Arterial Diastólica HOMA IR= Índice de resistencia a la insulina. CT: colesterol total *AA vs GG; ¥AG vs GG; φAG vs AA

Sin embargo al hacer la comparación de las características clínicas dentro del mismo grupo de estudio por genotipo (Tabla 16) no se encontraron diferencias significativas en los genotipos AA y AG. Sin embargo para el heterocigoto GG se encontraron diferencias significativas (p<0.05) tanto en el índice de masa corporal, en el cuál se aprecian niveles menores en el grupo de pacientes (29.10±4.18 vs 22.64); así como en la relación C/C que presenta el mismo comportamiento (91.00±4.00 vs 84)

Tabla 16. Comparación de las características clínicas para el polimorfismo - 55 AG de la proteína UCP3

	CONTROLES			CASOS		
	AA	AG	GG	AA	AG	GG
N	18	9	4	19	7	1
Género M/F	10/8	2/7	1/3	9/10	2/5	0/1
Edad	12.86±2.32	12.50±3.12	12.33±2.08	12.58±2.67	13.57±1.99	12
IMC	22.95±3.42	27.64±4.46	29.10±4.18 ϕ	25.81±4.53	25.52±4.58	22.64
CC	87.29±7.91	89.12±4.22	91.00±4.00 ϕ	87.37±8.35	87.57±3.95	84
TAS	97.71±9.73	102.50±20.53	86.67±41.63	93.61±11.57	101.42±12.15	100
TAD	61.21±7.42	67.50±15.23	66.67±11.55	63.05±10.36	67.00±11.96	60
Glu (mg/dL)	101.70±11.55	101.88±13.92	93.33±9.45	101.84±12.97	96.00±8.81	102
TG (mg/dL)	131.98±62.49	151.0±75.8	108.6±47.7	137.02±50.6	202.60±69.2	84
CT (mg/dL)	168.31±47.15	172.75±28.43	190.33±18.90	168.14±40.43	159.43±31.48	163
CHDL (mg/dL)	38.64±8.71	36.20±7.95	38.63±4.40	38.57±7.67	35.01±6.80	53.6
Glu 2 hrs	109.86±43.45	128.88±66.14	111.67±20.74	110.84±60.62	119.28±23.39	78
insulina en ayuno	12.16±11.70	14.24±4.17	20.97±9.81	12.49±10.66	14.06±8.83	7.4
HOMA IR	3.14±3.08	3.58±1.17	4.90±2.55	3.20±2.79	3.37±2.22	1.86

Valores medios \pm D.E.; prueba post hoc * $P < 0.05$. ANOVA IMC=Índice de Masa Corporal (peso/talla²). C/C= Coeficiente cintura-cadera. TAS=Tensión Arterial Sistólica. TAD= Tensión Arterial Diastólica HOMA IR= Índice de resistencia a la insulina. CT: colesterol total ϕ GG control VS GG casos.

IX.4 Análisis de las subpoblaciones de HDL de acuerdo al genotipo de cada de uno de los polimorfismos estudiados (UCP2 -866 C/T Y 55 A/G así como UCP3 -55 A/G)

Para establecer los cambios en la distribución de subclases de HDL entre grupos de pacientes con SM y el grupo control se aislaron las HDL por ultra centrifugación secuencial y posteriormente se sometió a una electroforesis en gradiente de poliacrilamida en condiciones nativas según se describe en la sección de métodos. Los geles una vez teñidos para proteínas, se analizaron por densitometría óptica para obtener los porcentajes de HDL correspondientes a cada subclase. En la Tabla 17 se

observan las proporciones de HDL en nuestra población de estudio observándose que la que se encuentra en mayor porcentaje es la HDL del subtipo HDL_{3a}

Tabla 17. Tamaño de lipoproteínas en la población de estudio

Tamaño de lipoproteínas en la población de estudio	
N=66	
HDL_{2b}	15.21±9.53
HDL_{2a}	13.81±5.69
HDL_{3a}	31.15±10.35
HDL_{3b}	19.40±8.24
HDL_{3c}	12.86±8.75

En la Tabla 18 se muestran las proporciones de las diferentes subclases de HDL en el grupo con SM y el grupo control.

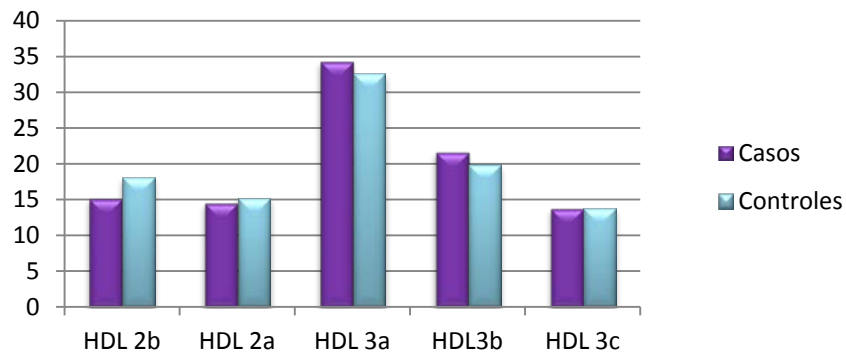
Tabla 18. Tamaño de lipoproteínas por grupo de estudio

	Grupo control N=33	Grupo de casos N=30	P
HDL_{2b}	15.32±7.42	18.21±10.51	0.530
HDL_{2a}	14.69±4.54	15.31±3.78	0.359
HDL_{3a}	34.35±6.53	32.70±2.43	0.035*
HDL_{3b}	21.70±6.58	19.89±5.78	0.70 *
HDL_{3c}	13.93±8.53	13.88±7.98	0.560

Los valores expresan la media ±D.E. Prueba t de student

Se puede observar que las HDL grande tipo HDL_{2b} y HDL_{2a} existen en mayor proporción en el grupo con SM comparado con el grupo control aunque no presentan diferencia estadística significativa. Las HDL del subtipo HDL_{3a} y HDL_{3b} representan a la subpoblación más abundante y contrario a las HDL grandes, éstas se ven disminuidas en proporción en el grupo control con respecto al grupo con SM presentando una diferencia significativa entre grupos.

Gráfica 4. Distribución de los subtipos de HDL en pacientes y controles



IX 4.1. Polimorfismo C-866T del gen *UCP2* y su relación con los subtipos de HDL

Al separar los subtipos de HDL de la población de estudio en función al genotipo determinado del polimorfismo -866 del gen *UCP2* (tabla 19) se encontraron diferencias significativas en los subtipos intermedios al comparar el genotipo heterocigoto con el homocigoto TT puesto que las HDL del subtipo HDL_{3A} de encuentran aumentadas en el homocigoto (34.62 ± 5.42 vs 34.36 ± 5.88) y el subtipo HDL_{3b} se encuentra disminuido en TT (18.91 ± 8.32 vs 21.75 ± 5.63) en las HDL grandes de subtipo HDL_{2a} se aprecia un aumento en el porcentaje del homocigoto respecto al heterocigoto (15.86 ± 4.88 vs 14.47 ± 4.16).

Tabla 19. Tamaño de C-HDL en general por genotipo *UCP2* para el polimorfismo -866 C/T

	CC	CT	TT
N	13	33	14
HDL_{2a}	13.44 ± 3.61	14.47 ± 4.16	$15.86 \pm 4.88 \text{€}$
HDL_{2b}	18.43 ± 3.31	15.22 ± 1.25	18.16 ± 4.14
HDL_{3a}	31.75 ± 4.71	34.36 ± 5.88	$34.62 \pm 5.42 \text{€}$
HDL_{3b}	23.19 ± 5.02	21.75 ± 5.63	$18.91 \pm 8.32 \text{€}$
HDL_{3c}	16.59 ± 6.93	14.82 ± 8.55	10.92 ± 8.84

Valores medios \pm Error típico de la media; prueba ANOVA

Al realizar el análisis genotípico por grupo de estudio (Tabla 20) no se encontraron diferencias significativas al comparar los subtipos de HDL. Pese a eso podemos observar que el subtipo intermedio HDL_{3a} se observa una disminución en el porcentaje del genotipo homocigoto polimórfico del grupo control respecto al grupo de pacientes (26.59±13.24 vs 32.45±1.43) y por el contrario un aumento de este mismo tipo de HDL en el homocigoto TT del grupo clínicamente sano respecto al grupo con síndrome metabólico (37.60±2.01 vs 19.38±5.77). También vale la pena mencionar la notable disminución de HDL del subtipo HDL_{3b} (23.33±1.44 vs 8.50±3.40) y HDL_{3c} (13.45±3.62 vs 4.95±2.53) en el grupo con síndrome metabólico del genotipo TT al compararlo con el control.

Tabla 20. comparación de los tamaños de colesterol HDL para el polimorfismo – 866 C/T de la proteína UCP2

	CONTROLES			CASOS		
	CC	CT	TT	CC	CT	TT
N	7	19	6	6	14	8
HDL_{2b}	16.41±5.7	15.54±1.53	18.65±4.78	17.95±3.30	13,32±2.06	17,80±6.59
HDL_{2a}	9.93±2.1	14.91±1.04	13.25±1.50	15.30±1.00	12.91±1.33	11.88±3.63
HDL_{3a}	26.59±5.0	34.76±1.70	37.60±2.01	32.45±0.58	31.06±2.44	19.38±5.77
HDL_{3b}	22.46±4.1	21.21±1.53	23.33±1.44	20.1667±1.28	20.61±1.82	8.50±3.40
HDL_{3c}	16.37±3.6	13.51±2.07	13.45±3.62	14.08±2.77	14.94±2.33	4.95±2.53

Valores medios ± Error típico de la media; prueba post hoc Para la comparación entre genotipos por grupo de estudio se realizó un ANOVA $p < 0.05$

IX 4.2 Polimorfismo A55G del gen UCP2 y su relación con los subtipos de HDL

En la Tabla 21 se aprecia el análisis del SNP 55 A/G en la población de estudio del gen *UCP2* respecto a las subpoblaciones de colesterol HDL no se encontraron diferencias significativas entre los genotipos pero se puede observar que las HDL subtipo HDL_{3c} se encuentran en menor proporción en todos los genotipos respecto a los demás subtipos.

Tabla 21. Tamaño de C-HDL en general por genotipo UCP2 para el polimorfismo 55 A/G

	AA	AG	GG
N	37	16	5
HDL_{2a}	15.24±4.27	13.65±4.62	15.3±3.96
HDL_{2b}	17.67±2.04	14.43±2.06	16.4±3.16
HDL_{3a}	34.32±4.25	31.87±7.47	34.8±3.72
HDL_{3b}	20.38±5.92	23.63±6.77	18.7±6.18*
HDL_{3c}	13.20±8.65	16.74±9.87	12.4±5.78

Valores medios ± Error típico de la media; prueba post hoc *P<0.05 t de student comparación: *GG vs AG

Al observar los subtipos de HDL por genotipo para el polimorfismo 55 A/G del gen *UCP2* en cada uno de los grupos (Tabla 22) se observaron diferencias significativas en el subtipo HDL_{3b} entre los heterocigotos de nuestros grupos de estudio, encontrándose significativamente elevada (p=0.038) en el grupo control (26.62±3.83 vs 22.52±3.26). En el homocigoto GG tanto el subtipo HDL_{3a} y (35.97±1.48vs 21.72±1.85) y HDL_{3c} (11.76±2.45 vs 9.07±3.90) se observa una disminución significativa en el grupo de síndrome metabólico respecto al grupo control.

Tabla 22. comparación de los tamaños de colesterol HDL para el polimorfismo 55 A/G de la proteína UCP2

	CONTROLES			CASOS		
	AA	AG	GG	AA	AG	GG
	21	5	7	13	9	6
HDL_{2b}	17.78±2.40	13.28±3.20	18.44±3.82	17.51±1.64	12.94±2.32	13.03±4.67
HDL_{2a}	14.05±1.13	12.18±2.41	15.66±1.88	13.75±1.01	10.93±1.93	9.77±2.03
HDL_{3a}	34.00±1.92	28.44±5.54	35.97±1.48 ϕ	26.94±2.49	28.53±4.06	21.72±1.85
HDL_{3b}	20.47±1.45	26.62±3.83 ¥	18.13±2.98	15.49±1.71	22.52±3.26	13.07±3.45
HDL_{3c}	12.72±1.94	19.46±5.18 ¥	11.76±2.45 ϕ	10.89±2.48	13.94±2.76	9.07±3.90

Valores medios ± Error típico de la media; prueba post hoc. Para la comparación entre genotipos por grupo de estudio se realizó un ANOVA p<0.05. Comparación . ¥ AG vs AG casos ϕ GG control VS GG casos

IX 4.3 Polimorfismo A-55G del gen *UCP3* y su relación con los subtipos de HDL

Como se observa en la tabla 23 no se encontraron diferencias significativas entre las subpoblaciones de colesterol HDL en los genotipos del gen *UCP3* en el polimorfismo de la posición promotora -55 A/G al comparar los grupos de estudio pero se observa que las HDL subtipo HDL_{3c} se encuentran en menor proporción en todos los genotipos respecto a los demás subtipos.

Tabla 23. Tamaño de C-HDL en general por genotipo *UCP3* para el polimorfismo -55 A/T

	AA	AG	GG
N	37	16	5
HDL_{2a}	14.84±4.17	14.14±3.89	12.03±5.64
HDL_{2b}	16.82±1.73	15.33±2.06	15.4±4.82
HDL_{3a}	33.62±4.19	33.46±8.14	29.86±143
HDL_{3b}	20.76±6.01	23.07±5.89	25.86±4.77
HDL_{3c}	13.36±7.41	15.58±9.79	20.71±8.91

Valores medios ± Error típico de la media; prueba ANOVA

Al efectuar el análisis por genotipo dentro de los grupos de estudio del polimorfismo -55 A/G del gen *UCP3* (Tabla 24) se observaron diferencias estadísticamente significativas en las HDL del subtipo HDL_{3c} (15.3±3.57 VS 12.79±2.38) en el genotipo heterocigoto al comparar los grupos de estudio entre sí. También se determinó que las HDL_{3b} (19.38±6.74 VS 28.4) y HDL_{3c} (15.52±6.33 vs 27.0) estaban en niveles significativamente superiores en el genotipo homocigoto GG del grupo de individuos con síndrome metabólico respecto al de individuos sanos sin embargo, cabe destacar que dado que la muestra experimental fue limitada estos resultados no son contundentes dado que sólo se contó con un individuo con genotipo homocigoto polimórfico en el grupo de casos.

Tabla 24. Comparación de los tamaños de colesterol HDL para el polimorfismo – 55A/G de la proteína UCP3

	CONTROLES			CASOS		
	AA	AG	GG	AA	AG	GG
N	18	9	4	19	7	1
HDL _{2b}	17.61±2.06	13.38±1.76	19.25±10.25	16.32±2.07	13.64±1.56	5.9
HDL _{2a}	13.80±1.00	14.76±1.36	9.03±3.77	15.03±1.26	12.40±1.52	9.5
HDL _{3a}	34.67±1.16	33.48±3.55	22.38±7.48	31.26±2.52	36.73±1.89	29.2
HDL _{3b}	22.32±1.32	23.03±2.38	19.38±6.74 ϕ	19.81±2.02	24.46±1.59	28.4
HDL _{3c}	13.66±1.76	15.3±3.57 \forall	15.52±6.33 ϕ	12.27±2.15	12.79±2.38	27.0

Valores medios \pm Error típico de la media.; prueba post hoc. Para la comparación entre genotipos por grupo de estudio se realizó un ANOVA $p < 0.05$. Comparación . \forall AG vs AG casos ϕ GG control VS GG casos

IX.5 Análisis de asociación múltiple de los polimorfismos estudiados

Se realizó el análisis de asociación múltiple de los SNPs del gen UCP2 (posiciones -866 y 55) y el correspondiente al gen UCP3 (posición -55) tanto los pacientes como para los sujetos control; los resultados se muestran en la Tabla 25.

Tabla 25. Análisis de asociación múltiple para los SNP en las posiciones -866 y 55 del gen UCP2 y del gen UCP3 en posición 55 en grupo de casos y controles

Polimorfismos	Polimorfismos		Frecuencias			p
	UCP2 55	UCP3 -55	Casos	Controles	Total	
UCP2 -866						
T	A	A	0.3993	0.3778	0.3826	---
C	G	A	0.1856	0.2025	0.2089	0.42
C	A	A	0.2257	0.1285	0.1597	0.95
C	A	G	0	0.1873	0.1223	1
T	G	G	0.0853	0.063	0.0741	0.93
T	G	A	0.0324	0.0124	0.0269	
C	G	G	0.0717	0.0285	0.0256	
T	A	G	NA	NA	0	---

Ninguna de las combinaciones posibles de los polimorfismos estudiados mostró diferencias estadísticamente significativas

IX. DISCUSIÓN

El sobrepeso y la obesidad son entidades que afectan a cerca de 70% de la población (71.9% mujeres y 66.7% hombres) entre 30 y 60 años de edad, de ambos sexos. La frecuencia de obesidad en adultos mexicanos ha aumentado en un grado considerable. En 1993, la Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas (ENEC) mostró una prevalencia en adultos de 21.5%, la ENSA 2000 de 24% y la ENSANUT 2006 de 30%, con predominio en mujeres (Sepúlveda y cols., 2006).

Dado que UCP2 y UCP3 disminuyen el potencial de membrana mitocondrial y median la fuga de protones son genes candidatos de obesidad y diabetes tipo 2. Estas proteínas desacoplantes también cumplen un papel importante en la termogénesis por lo que las mutaciones que reducen la actividad o expresión de alguna de estas proteínas podría disminuir el gasto energético por medio de un aumento de la fosforilación oxidativa o una disminución en la termogénesis y de este modo contribuir al desarrollo de la obesidad (Paulik y cols., 1998).

El gen de la proteína desacoplante UCP2 en humanos está ampliamente expresado en varios tejidos como el tejido adiposo blanco, el páncreas, músculo esquelético e hígado. Varios polimorfismos han sido identificados en el gen y su analogía con los fenotipos relacionados con la obesidad han sido ampliamente estudiados (Srivasta y cols., 2010). Nuestro estudio se enfocó a dos de estos polimorfismos el ubicado en la región promotora -866 con un cambio Citocina- Timina y el localizado en la región codificante con un cambio Adenina-Guanina que desemboca en un cambio Alanina Valina.

Al comparar las características clínicas del grupo en el grupo control para el SNP -866 C/ dividido por genotipos (Tabla 12) se encontraron valores de Tensión Arterial Sistólica significativamente más altos ($p > 0.05$) en el genotipo AA entre los grupos de estudio (94.29 ± 15.11 vs 101.33 ± 7.66). La UCP2 es un regulador fisiológico negativo de la generación de ROS y desempeña un papel antiaterogénico en la pared vascular. Una variante común en el promotor de la UCP2 (-866G > A) modula la expresión del ARNm, con incremento en la expresión asociado con el alelo A. Se observó una asociación inversa entre el alelo A con casos incidentes de CAD relacionados a

hipertensión (Cheurfa N. y cols 2008), lo cuál coincide que los valores obtenidos en este genotipo son los menores al compararlos con el genotipo heterocigoto y homocigoto polimórfico.

De igual manera encontramos diferencias estadísticamente significativas en el índice de Masa Corporal en el genotipo homocigoto polimórfico entre los individuos con síndrome metabólico y aquellos clínicamente sanos (23.07 ± 2.75 vs 24.10 ± 4.88) Diversos estudios previos ha determinado que IMC elevados están asociados con una morbilidad y mortalidad elevada en la adultez y han hecho énfasis en la correlación entre los valores de Índice de Masa Corporal entre adultos e infantes (Taylor y cols., 2000). El establecimiento de la relación entre los IMC entre adultos y población pediátrica facilitaría la selección de los puntos de corte de valores de IMC en infantes para canalizarlos a programas de salud pública que tienen como objetivo detectar y tratar a los niños con mayor probabilidad de tener sobrepeso en la edad adulta. Hay numerosos informes de que los valores de IMC mayor a 28 para los hombres y 26 para las mujeres se asocian con un mayor riesgo de muerte, padecimiento de enfermedades cardiovasculares, cálculos biliares, y diabetes mellitus tipo II (Guo y cols., 1994).

Se notó que los niños portadores del genotipo UCP2-866TT mostraron menor riesgo de presentar sobrepeso pues presentaron niveles de colesterol y triglicéridos menores al compararlo con el genotipo heterocigoto y el homocigoto polimórfico tanto en el grupo control (colesterol: 161.93 ± 15.3 vs 182.31 ± 22.57 y 168.57 ± 30.34 ; triglicéridos: 90.18 ± 25.02 vs 144.6 ± 64.18 y 140.6 ± 67.7) como en el de Síndrome Metabólico (triglicéridos: 121.14 ± 24.4 vs 164.7 ± 73.6 y 147.8 ± 55.6 ; colesterol: 163.75 ± 45.0 vs 171.40 ± 35.6 y 167.33 ± 44.82). Asimismo este genotipo presento niveles significativamente altos en el grupo del llamado síndrome X al efectuar la comparación entre grupos (90.18 ± 25.02 vs 121.14 ± 24.4). Estos resultados son congruentes con otras publicaciones reportadas que muestran asociaciones significativas entre este SNP y niveles de colesterol (Wang y cols., 2004).

La resistencia a insulina está involucrada en la etiología de varias enfermedades como la diabetes mellitus tipo 2, la enfermedad coronaria y la hipertensión arterial, y la UCP2

es un regulador negativo de la secreción de insulina (Zhang y cols., 2001). Las mutaciones en la región promotora de UCP2 pueden alterar la secreción de insulina dependiente de glucosa mediante una relación alterada de ATP/ADP en las células β pancreáticas y así, promover el desarrollo de diabetes. Algunos estudios han reportado que el alelo -866 T aumenta el riesgo de diabetes mellitus tipo II en sujetos obesos adultos (Krempler y cols., 2002). Lo cual es congruente nuestro estudio pues los valores del Índice de Resistencia a la Insulina (HOMA IR) obtenidos son mayores en el grupo de casos los genotipos con alelo T al compararlos con los del grupo control, el genotipo heterocigoto muestra un aumento significativo en este parámetro (2.33 ± 1.18 vs 3.52 ± 1.16), mientras que en el homocigoto TT se aprecia esta tendencia (2.14 ± 1.23 vs 2.94 ± 1.55) aunque no mostró diferencias significativas. Estos resultados no son contundentes ya otros estudios sobre la relación entre los polimorfismo de UCP y la obesidad infantil han publicado resultados inconsistentes (Dalgaard, y cols., 2001).

Los niveles de glucosa e insulina no difirieron entre los grupos genotípicos del SNP-866, esto puede suponer que la secreción de insulina dependiente de glucosa es independiente del genotipo -866 UCP3 en pacientes jóvenes obesos.

El otro SNP con una asociación significativa rs660339, es una variante caracterizada por la sustitución de Tiamina por Citosina en el exón 4 que resulta en la sustitución de alanina a valina. Ha sido ampliamente estudiado por otros autores. Algunos estudios han encontrado una mayor eficiencia metabólica y una menor tasa de oxidación de grasas en los homocigotos para el alelo menor (Walder y cols., 1998). Sin embargo, el polimorfismo Ala55Val (rs660339) resulta en un cambio conservativo de aminoácido, y hasta ahora, no ha habido pruebas de que causa un cambio funcional de la proteína. Por lo tanto, teniendo en cuenta que el polimorfismo Ala55Val está estrechamente vinculado con el polimorfismo -866 C/T en la región del promotora, es posible que el polimorfismo Ala55Val no sea un verdadero causante de la enfermedad, y que la variante esté reflejando simplemente los efectos polimorfismos de -866 C/T pues hasta ahora la mayoría de los estudios no son compatibles con un impacto funcional del polimorfismo A55G en la obesidad (Dalgaard y Pedersen, 2001).

En nuestra población después de realizar el análisis genotípico entre nuestras poblaciones de estudio (Tabla 14) obtuvimos diferencias estadísticamente significativas en los Índices de Masa corporal del genotipo heterocigoto (22.22 ± 3.23 vs 24.42 ± 5.89). No obstante no existen bibliografía que reporte una asociación entre este genotipo con el IMC si se ha reportado que los individuos portadores del alelo G tienen una tendencia a una mayor circunferencia de cintura y cadera lo que se ve podría ver reflejado en el IMC.

A pesar de que recientemente se ha demostrado que en ratones ob/ob la deficiencia de UCP2 ha influenciado en el incremento de los niveles séricos de insulina, y en gran medida en la disminución de los niveles de glucemia; los resultados de nuestro estudio indican que no hay diferencias significativas en la insulina en suero así como en los niveles de glucosa en ayunas entre los genotipos de UCP2 Ala55Val. Por otra parte, nuestros datos indican que no hay diferencias significativas entre los grupos de genotipos con respecto a los niveles de colesterol total y triglicéridos (Tabla 14). Hallazgos similares han sido previamente reportados en la población Sueca lo cual respalda nuestros resultados (Zhang y cols., 2001). Sin embargo en el genotipo AA se determinaron diferencias en los niveles de colesterol HDL, estando éste disminuido en el grupo de pacientes (45.42 ± 11.16 vs 35.03 ± 4.30 ; $p=0.016$), sabemos que el perfil bajo de HDL y elevado de triglicéridos, sugiere un mayor riesgo de estos niños obesos a enfermedad cardiovascular

En el genotipo heterocigoto del mismo polimorfismo observamos un aumento tanto en la presión arterial sistólica (95.00 ± 12.23 vs 96.67 ± 23.98) como en la diastólica (63.00 ± 9.75 vs 66.78 ± 10.32) en el grupo de infantes con síndrome metabólico. Debido a que la sobreproducción de $O_2^{\cdot-}$ en el sistema nervioso central contribuye a los mecanismos neurales de la hipertensión mediante el aumento de flujo simpático a los vasos sanguíneos periféricos y la UCP2 funciona como un regulador negativo de la producción de ROS en células musculares endoteliales y lisas de la pared vascular (Nagae y cols., 2009) un cambio polimórfico en el gen podría suponer un desajuste en la regulación dada por UCP2 lo cuál contribuiría a un aumento en la presión arterial.

La proteína desacoplante 3 (UCP3) pertenece a una familia de transportadores mitocondriales que pueden desacoplar la fosforilación oxidativa por medio del aumento de la fuga de protones de la membrana interna mitocondrial. Una disminución de la expresión o función de UCP3 podría reducir el gasto energético y aumentar el almacenamiento de energía en forma de grasa. Algunos estudios han sugerido que UCP3 está involucrada en la regulación de la homeostasis de la energía corporal, la obesidad inducida por dieta y la regulación de lípidos como sustratos metabólicos (De Luis y cols., 2009).

Para el caso del SNP -55 A/G del gen *UCP3* al realizar el análisis genotípico en la población de estudio, (Tabla 15) se hallaron diferencias significativas, en el género se observó que había mayor número de mujeres en los genotipos con el alelo A en comparación con aquellos con el alelo G. Aunque la distribución por edad y sexo fueron diferentes entre los grupos, no se consideró como un factor de confusión en nuestro estudio dado que diversos estudios no han mostrado ninguna relación contundente entre el polimorfismo UCP3-55C> T y el IMC o la obesidad, sin embargo debemos recordar que existen factores de confusión que no se tomaron en consideración como la interacción con otras variantes de los genes o el nivel de actividad física. Asimismo se observó un índice de masa corporal significativamente acrecentado en aquellos genotipos con el alelo silvestre (A) respecto al homocigoto GG. En la bibliografía se ha relacionado este alelo con un IMC alto y niveles altos de adiposidad (Fisher y Warden, 2006), lo que también corroboramos al encontrar niveles significativamente menores de colesterol total en el homocigoto GG (162.60±29.04mg/dL) respecto al heterocigoto (179.87±28.36). Estos resultados no son contundentes debido a que, se ha visto relación entre el genotipo AA y el elevado IMC en una población francesa (Otabe y cols., 2000), y por otro lado, en una población británica se ha asociado a la circunferencia cadera cintura e IMC menor respecto a los individuos con genotipo GG (Guo y cols., 2005), lo cuál respalda nuestros resultados (.85±0.05) de un menor índice C/C en la población con genotipo GG-

Estas discrepancias pueden explicarse en parte, por las diferencias en el diseño del estudio y/o población de estudio, incluyendo las diferencias en el tamaño de la

muestra, edad, raza, estilo de vida, estado de la enfermedad y el grado de obesidad. Se ha demostrado que las variantes del gen *UCP* afectan la expresión del ARNm de UCP in vivo e in vitro (Esterbauer y cols., 2001). Puede ser que los efectos de las variantes del gen *UCP* en la expresión de UCP son mayores en la obesidad durante la infancia que en la obesidad del adulto. Además, los efectos de las variantes del gen *UCP* sobre la obesidad en los adultos pueden estar enmascarados por muchos factores de confusión ambientales y conductuales.

Se puede observar que el genotipo heterocigoto presenta niveles disminuidos de colesterol de alta densidad HDL (38.14 ± 8.19 mg/dL) respecto a los homocigotos así como niveles de colesterol total (179.87 ± 28.34) y triglicéridos aumentados (196.95 ± 90.42 mg/dL) aunque no se presentan diferencias significativas al compararlo con los otros genotipos (para colesterol AA: 170.11 ± 42.28 mg/dL y GG 162.60 ± 29.04 mg/dL y triglicéridos AA: 130.35 ± 50.30 mg/dL y GG: 103.65 ± 42.78 mg/dL). Otros estudios también han relacionado el rs1800849 con niveles superiores de colesterol total y niveles disminuidos de C-HDL (Salopuro y cols., 2009).

No se encontraron diferencias significativas al comparar las características clínicas entre grupos de estudio por genotipo lo cual puede deberse a que la muestra es pequeña

Para conocer cómo se encuentra nuestra carga genética en relación a las UCPs se realizó un análisis comparativo entre las frecuencias genotípicas y alélicas de nuestra población de estudio con otras poblaciones previamente reportadas (Tabla 27). En la comparación se utilizaron únicamente las frecuencias alélicas de los grupos control de las diferentes publicaciones consultadas, debido a que los grupos de estudio presentaban patologías que pueden influir en los genotipos de nuestro grupo de estudio.

Tabla 27. Frecuencias genotípicas y alélicas de las UCP2 -866 A/G en nuestra población y en distintas poblaciones del mundo

Población	GG	GA	AA	G	A
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
México (nuestro estudio)	7 (21.9)	19 (59.38)	6 (18.75)	33 (51.6)	31 (48.4)
Corea n=1385	366 (26.4)	691 (49.9)	328 (23.7)	1429 (51.6)	1341 (48.4)
Norte de India n=240	106 (44.1)*	113 (47.1)	21 (8.8)*	325 (67.7)*	155 (32.3)*
PIMA, Nativos Americanos de Arizona n=263	51 (19.4)	132 (50.2)	80 (30.4)	234 (44.5)	292 (55.5)
Caucásicos n=227	93 (41)*	99 (43.6)	35 (14.4)	285 (63)*	169 (37)*
Afroamericanos n=287	89 (32.8)	130 (48)	52 (19.2)	308 (56.8)	266 (43.2)
Hispanos EUA n= 494	132 (27.2)	227 (46.7)	127 (26.1)	491 (50.5)	497 (49.5)
Noreste de Colombia n=449	144 (32)	229 (51)	76 (17)	539 (60)	359 (40)
*p<0.05. análisis χ^2 diferencia significativa entre genotipos de otras poblaciones comparadas con las obtenidas en nuestro estudio en la población infantil mexicana					

Para el polimorfismo -866 del gen UCP2 (Tabla 27) se encontraron diferencias significativas para el genotipo GG y el alelo G con la población del Norte de India (GG: 21.9% vs 41.0%) y con la población caucásica (GG: 21.9% vs 41%). Por otra parte para Genotipo AA se encontraron diferencias estadísticamente significativas solamente en la población del Norte de India (8.8%) ya que en nuestra población la frecuencia fue de 18.75%, respecto a las frecuencias alélicas se observan diferencias con un valor de p menor a 0.05 en las poblaciones mencionadas.

Tabla 28. Frecuencias genotípicas y alélicas de las UCP2 Ala55Val en nuestra población y en distintas poblaciones del mundo

	Ala/ala	Ala/val	Val/val	Ala	Val
México (nuestro estudio) n=33	21(63.6)	5(15.2)	7(21.2)	47 (71.2)	19(28.8)
Suecia N=284	78 (29.3)	144 (54.2)	44 (16.5)	300 (56.0)*	32(44.0)*
Hortega España N=1433	231(16.1)	795 (49.2)	497 (34.7)	1257(43.9)*	1789 (62)*
Pizarra España N=899	155(17.2)	418 (46.5)	326(36.3)	728 (40.5)*	1070 (59.5)*
*p<0.05. análisis χ^2 diferencia significativa entre genotipos de otras poblaciones comparadas con las obtenidas en nuestro estudio en la población infantil mexicana					

Al comparar las frecuencias alélicas reportadas por otras poblaciones del SNP del gen *UCP2* Ala55Val (Tabla 28), podemos observar que nuestra población tiene un frecuencia significativamente superior del alelo A (que en el proceso de traducción resulta en el aminoácido Alanina) respecto a las otras poblaciones reportadas (71.2% vs 56.0%, 43.9% y 40.5%) y que por lo tanto la frecuencia del alelo recesivo aparece en una proporción menor (28.8%). Esto se ve reflejado en la comparación genotípica con las mismas poblaciones en las que el genotipo homocigoto Ala/Ala se ve aumentado en proporción (63.6%) respecto a la población sueca (29.3%) y española (16.1% y 17.2%).

Tabla 29. Frecuencias genotípicas y alélicas de las UCPs en nuestra población y en distintas poblaciones del mundo

	GG	AG	AA	A	G
México (nuestro estudio) n=31	4 (12.90)	9 (29.03)	18 (58.06)	45 (72.6)	17(27.4)
Japón n=282	139 (49.3)*	115 (40.8)	28 (9.9)	171 (30.3)*	393 (69.7)*
Corea n=1387	679 (49)*	588 (40.8)	120 (8.6)*	827 (29.8)*	1947(70.2)*
Alemania n=69	38 (55.1)*	29 (42)	2 (2.9)*	33 (23.9)*	105(76.1*)
Caucásicos n=227	144 (63.4)*	74 (32.6)	9 (8)*	92 (20)*	362 (80)*
Afroamericanos n=57	42 (73.7)*	13 (22.8)	2 (3.5)*	17 (4.9)*	97 (85.1)*
EUA n=56	36 (64.3)*	16 (28.6)	4 (7.1)*	24 (21.4)*	88 (78.6)*
Noreste de Colombia n=449	324 (72)*	112 (25)	13 (3)*	144 (16)*	754 (84)*
*p<0.05. análisis χ^2 diferencia significativa entre genotipos de otras poblaciones comparadas con las obtenidas en nuestro estudio en la población infantil mexicana					

Para el polimorfismo -55 A/G de la UCP3 (Tabla 29) es notorio que en nuestra población el genotipo polimórfico se presenta en frecuencias muy elevadas al compararlo con otras poblaciones reportadas. Se encontraron diferencias significativas con la población coreana (8.6%), alemana (2.9%), caucásica (8.0%) afroamericana (3.5%), americana(7.1%) y del noreste de Colombia (3%). En contraparte, el genotipo homocigoto silvestre de nuestra población (%) se encuentra significativamente disminuido respecto a otras poblaciones, se encontraron diferencias con la población

japonesa (49.3%), coreana (44.0%), alemana (55.1%), caucásica (63.4%), afroamericana(73.7%), americana (64.3%) y del noreste de Colombia (72.0%). Estas tendencias en las diferencias se repitieron en las frecuencias alélicas correspondientes en las mismas poblaciones.

Estos datos indican que nuestra población tiene una carga notoriamente diferente a otras poblaciones; estas variaciones en las frecuencias poblaciones se pueden deber a que estas asociaciones entre SNPs y fenotipo sea dependiente de la población, por ejemplo la población colombiana tiene una fuerte influencia negroide y la población del norte de india tiene influencia árabe y mongólica; de esta manera la frecuencia alélica y penetrancia se modifican en diferentes poblaciones. Otra explicación es que estas asociaciones entre un SNP no funcional y un fenotipo obeso varían entre diferentes poblaciones y por supuesto no podemos descartar que nuestra población está constituida por un número reducido de individuos experimentales.

Como sabemos el síndrome metabólico es una entidad poligénica y multifactorial. Una susceptibilidad genética adicional a los factores ambiental propicia que este trastornos e exprese como enfermedades diversas: hipertensión arterial, diabetes mellitus tipo 2, dislipidemias y obesidad, entre otras; que, a su vez condicionan más la afectación endotelial la cual, finalmente acelera y agrava la aterosclerosis.

Se ha sugerido que las propiedades antiaterosclerosas de las HDL dependen de su estructura y por esta razón, las HDL se han agrupado en diferentes subclases. Una de las estrategias más aceptadas es la separación por electroforesis en gradiente de poliacrilamida en condiciones nativas de las lipoproteínas previamente aisladas de plasma por ultra centrifugación. Este método permite clasificar a las HDL en HDL_{2b} HDL_{2a} HDL_{3a} HDL_{3b} HDL_{3c} en orden decreciente de tamaño (Pérez Méndez y cols., 2008).

El estudio entre las diferencias individuales de la dislipidemia temprana y la evolución de los factores de riesgo de inicio es muy importante, debido a que los niños no están expuestos a factores ambientales como el consumo de bebidas alcohólicas y el tabaquismo, la influencia genética sobre el perfil lipídico es mayor que en adultos. La evidencia experimental sugiere que el estrés oxidativo es un factor clave en el inicio de trastornos vasculares asociados con la aterosclerosis. La aterosclerosis inducida por la

dieta en diferentes modelos animales se relaciona con la producción de ROS (Kumar y cols., 2006).

Si bien los mecanismos de los efectos potenciales de UCP2 Y UCP3 en los niveles de colesterol sérico permanecen sin dilucidarse se ha demostrado que las proteínas desacoplantes tienen una influencia directa sobre estos. Las UCPs juegan un papel importante en la producción de ROS, por lo que un polimorfismo en su secuencia génica podría derivar en un estado pro-oxidante, lo que resulta en la modificación de las lipoproteínas (Hamada y cols., 2008).

Al determinar las subpoblaciones de HDLs en nuestra población de estudio de acuerdo a sus características clínicas se determinó que las HDL grandes HDL_{2b} y HDL_{2a} se encuentran en mayor razón en el grupo con SM comparado con el grupo control aunque no presentan diferencia estadística significativa. Las HDL mas densas, HDL_{3a} (34.35±6.53 vs 32.70±2.43) y HDL_{3b} (21.70±6.58 vs 19.89±5.78) representan a la subpoblación más abundante y contrario a las HDL grandes, éstas se ven disminuidas en proporción en el grupo control con respecto al grupo con SM presentando una diferencia significativa entre grupos. Nuevas evidencias sugieren que el subtipo de lipoproteínas de alta densidad más denso y pequeño, las HDL₃ poseen una mayor capacidad para proteger a las LDL frente a la oxidación, en relación a los subtipos más grandes y menos densos, las HDL₂ (Hu y cols., 2010).

Al comparar entre grupos de estudio los genotipos del polimorfismo -866 del gen *UCP2* no se presentaron diferencias estadísticas entre los genotipos, sin embargo cabe resaltar que en el genotipo homocigoto polimórfico existe una tendencia de disminución en la proporción de la HDL₃ en sus tres subclases: HDL_{3a} (37.60±2.0 vs 19.38±5.8), HDL_{3b} (23.33±1.4 vs 8.50±3.4) y HDL_{3c} (13.45±3.6 vs 4.5±2.5) en el grupo con SM respecto a aquel de individuos sanos. Observamos la misma tendencia de disminución en el genotipo homocigoto mutante en las lipoproteínas del HDL_{3c} (11.76±2.45 vs 9.07±3.90) y HDL_{3a} (35.97±1.48 vs 21.72±1.85) y en el heterocigoto en la lipoproteína HDL_{3c} (19.46±5.8 vs 13.9±2.8) del grupo de casos al compáralo con el control en el polimorfismo Ala55Val del mismo gen y en el genotipo GG del polimorfismo -55 A/G del gen *UCP3* (15.3±3.6 VS 12.69±2). En este contexto, se puede decir que la actividad

antioxidante de las partículas HDL₃ esta disminuida dado que su proporción es menor en los pacientes con síndrome metabólico. Cabe destacar que los niveles altos de HDL tienen un efecto protector contra la aterosclerosis, en particular, la subfracción de menor diámetro HDL₃ (Duggirala y cols., 2001).

La obesidad y resistencia a la insulina están asociados con las HDL totales y las HDL₂ bajas (Tilly-Kiesi y cols., 1996) lo que es congruente con la disminución significativa encontrada entre las HDL_{2b} (18.44 ± 3.82) y HDL_{2a} (15.66 ± 1.88) del genotipo GG entre el grupo control contra el de pacientes (13.03 ± 4.67) y (9.77 ± 2.03) en el polimorfismo 55 A/G de la proteína UCP2. Esta misma tendencia se observa en las HDL_{2b} (19.25 ± 10.25 vs 5.9) del polimorfismo - 55A/G de la proteína UCP3 y en el polimorfismo -866 C/T de la proteína UCP2 en las HDL_{2b} (18.65 ± 4.78 vs 17.80 ± 6.59) y HDL_{2a} (13.25 ± 1.50 vs 11.88 ± 3.63) aunque en estos genotipos no se encontraron diferencias significativas

Con base en nuestros resultados podría argumentarse que los polimorfismos estudiados de las UCPs tienen en efecto en la distribución de tamaño de HDL, particularmente en el subtipo HDL₃, sin embargo debemos considerar que nuestra población estudiada fue reducida, por lo que se propone realizar un estudio con una población más amplia para reforzar nuestros resultados.

X. CONCLUSIONES

- Para el SNP de UCP2 -866 C/T encontramos que el genotipo CT está relacionado con TG y colesterol aumentados tanto en pacientes como en sujetos sanos
- En el polimorfismo UCP2 -866 C/T se observaron niveles de colesterol HDL disminuidos en el genotipo CC respecto a CT y TT esto sugiere que el alelo C podría estar asociado a factores de riesgo relacionados con el síndrome metabólico.
- Respecto al mismo polimorfismo se encontraron diferencias significativas en HDL del genotipo TT pues las HDL del subtipo HDL_{3a} se encuentran aumentadas en el homocigoto y el subtipo HDL_{3b} se encuentra disminuido en razón a los otros genotipos
- En cuanto al SNP 55 A/G del mismo gen se encontraron diferencias significativas en los valores elevados de TA diastólica y sistólica tanto del genotipo heterocigoto como del homocigoto silvestre (AA) al compararlos con el genotipo homocigoto GG
- También se encontraron diferencias significativas en los niveles disminuidos de colesterol total en el genotipo heterocigoto respecto al genotipo GG.
- Para el mismo polimorfismo obtuvimos valores de IMC así como valores de tensión arterial tanto sistólica como diastólica aumentados en el genotipo AG en el grupo casos respecto al de
- El análisis del SNP 55 A/G en la población de estudio del gen UCP2 respecto a las subpoblaciones de colesterol HDL no proporcionó resultados significativos
- En el polimorfismo -55 A/G del gen UCP3 se observó un índice de masa corporal significativamente acrecentado en aquellos genotipos con el alelo silvestre (A) respecto al homocigoto GG
- También se encontraron valores significativamente menores de colesterol total en el homocigoto GG respecto al heterocigoto Sin embargo al hacer la comparación

de las características clínicas dentro del mismo grupo de estudio por genotipo no se encontraron diferencias significativas

- En el análisis por genotipo por grupo de estudio se observaron diferencias significativas en las HDL del subtipo HDL_{3c} en el genotipo AG del polimorfismo -55 A/G del gen UCP3.
- También se encontró que las HDL_{3c} estaban en niveles significativamente superiores en el genotipo homocigoto GG del grupo de individuos con síndrome metabólico respecto al de individuos sanos
- En el análisis de asociación múltiple de los SNPs del gen UCP2 (posiciones -866 y 55) y el correspondiente al gen UCP3 (posición -55) ninguna de las combinaciones posibles mostro diferencias estadísticamente significativas

XI. BIBLIOGRAFÍA

1. Alonso A, Martí A, Corbalán MS, Martínez-González MA, Forga L, Martínez JA. (2005). Association of UCP3 gene -55C>T polymorphism and obesity in a Spanish population. *Ann Nutr Metab.* 49(3):183 - 188.
2. Anedda A, Rial E, González-Barroso MM. (2008) Metformin induces oxidative stress in white adipocytes and raises uncoupling protein 2 levels. *J Endocrinol.* 199(1):33-40.
3. Arechaga I, Ledesma A, Rial E. (2001). The mitochondrial uncoupling protein UCP1: a gated pore. *IUBMB Life*, 52:165-173.
4. Barbera MJ, Schluter A, Pedraza N, Iglesias R, Villarroya F, Giralt M. (2001). Peroxisome proliferator-activated receptor alpha activates transcription of the brown fat uncoupling protein-1 gene. A link between regulation of the thermogenic and lipid oxidation pathways in the brown fat cell. *J Biol Chem.* 276(2): 1486 - 1493.
5. Barker DJP, Osmond C. 1986. "Infant mortality, childhood nutrition and ischaemic Heart disease in England and Wales". *Lancet* 1986;1:1077-1081
6. Belay Brook; Belamarich Peter; Racine Andrew. "Precursores pediátricos de la aterosclerosis del adulto". *Pediatrics in Review*, vol 25 N°7, sept 2004.
7. Boden G, Shulman GI. (2002). Free fatty acids in obesity and type 2 diabetes: defining their role in the development of insulin resistance and beta-cell dysfunction. *Eur J Clin Invest.* 32 Suppl 3: 14 - 23. Review.
8. Boney Charlotte et al. "Metabolic Syndrome in Childhood Association With Birth Weight, Maternal Obesity, and Gestational Diabetes Mellitus".2005. *Pediatrics*. Vol. 115 N°. 3 March 2005, pp. 290-296
9. Bouillaud, F. (2009). UCP2, not a physiologically relevant uncoupler but a glucose sparing switch impacting ROS production and glucose sensing. *Biochim Biophys Acta.* 1787(5): 377 - 383.
10. Brand MD, Affourtit C, Esteves TC, Green K, Lambert AJ, Miwa S, Pakay JL, Parker N. (2004). Mitochondrial superoxide: production, biological effects, and activation of uncoupling proteins. *Free Radic Biol Med.* 37(6): 755 - 767. Review.
11. Brand MD, Buckingham JA, Esteves TC, Green K, Lambert AJ, Miwa S, Murphy MP, Pakay JL, Talbot DA, Echtay KS (2004). Mitochondrial superoxide and aging: uncoupling-protein activity and superoxide production. *Biochem Soc Symp.* (71): 203 - 213. Review.
12. Bray G, Bouchard C, James WPT. (1998). Definitions and proposed current classifications of obesity. *Handbook of obesity*. New York. Marcel Dekker. 31 – 40.

13. Cannon B, Shabalina IG, Kramarova TV, Petrovic N, Nedergaard J. (2006). Uncoupling proteins: a role in protection against reactive oxygen species--or not? *Biochim Biophys Acta.* 1757(5-6): 449 - 458.
14. Cassard-Doulicier AM, Gelly C, Fox N, Schrementi J, Raimbault S, Klaus S, Forest C, Bouillaud F, Ricquier D. (1993). Tissue-specific and beta-adrenergic regulation of the mitochondrial uncoupling protein gene: control by cis-acting elements in the 5'-flanking region. *Mol Endocrinol.* 7(4): 497 – 506.
15. Cheurfa, N., Dubois-Laforgue, D., Ferrarezi, D., F. Reis A., M. Brenner G., Bouché C., Le Feuvre C, F., J., M. and G. (2008) Diabetes April 2008 vol. 57 no. 4 1063-1068
16. Dalgaard LT, Pedersen O. (2001) Uncoupling proteins: functional characteristics and role in the pathogenesis of obesity and Type II diabetes. *Diabetologia.* 44: 946-965.
17. Dalgaard, L. (2011) Genetic Variance in Uncoupling Protein 2 in relation to Obesity, Type 2 Diabetes and Related Metabolic Traits: Focus on the Functional -866>a Promoter Variant (rs659366). *Journal Of Obesity.* 2011, Article ID 34024.
18. De Luis DA, Aller R, Izaola O, González Sagrado M, Conde R. (2009) Modulation of insulin concentrations and metabolic parameters in obese patients by 55CT polymorphism of the UCP3 gene secondary to two hypocaloric diets. *Horm Metab Res.* 41: 62-6.
19. Duggirala R, Blangero J, Almasy L, Arya R, Dyer TD, Williams KL, Leach RJ, O'Connell P, Stern MP. (2001) A major locus for fasting insulin concentrations and insulin resistance on chromosome 6q with strong pleiotropic effects on obesity-related phenotypes in nondiabetic Mexican Americans. *Am J Hum Genet.* 68 :1149–1164.
20. Enerback S, Jacobson A, Simpson EM, Guerra C, Yamashita h, Harper ME, Konzak LP. (1997) Mice lacking mitochondrial uncoupling protein are cold sensitive but not obese. *Nature.* 387: 90-94.
21. Espinola-Zavaleta N, Soto-López ME, Carreón-Torres E, Gamboa R, Mejía AM, Márquez-Velasco R, Bojalil R, Huesca-Gomez C, Reyes PA, Pérez-Méndez O. (2009). Altered flow mediated vasodilatation, low paroxonase 1 activities, and abnormal high density lipoprotein subclasses distribution in Takayasu's arteritis. *Circ J.* 73(4): 760 - 766.
22. Esterbauer H, Schneitler C, Oberkofler H, Ebenbichler C, Paulweber B, Sandhofer F, Ladurner G, Hell E, Strosberg AD, Patsch JR, Krempler F, Patsch W. (2001) A common polymorphism in the promoter of UCP2 is associated with decreased risk of obesity in middle-aged humans. *Nat Genet.* 28:178–183.
23. Ferreira L. Clasificación del sobrepeso y la obesidad” 2008
24. Fisher JS and Warden CH. (2006) Uncoupling proteins dietary fat and the metabolic syndrome. *Nutr Metab.* 3: 38.
25. Friedwald, W. J., Levy, R. J. and Fredrickson, D. S. (1972). Estimation of plasma LDL concentration without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin.Chem.* 18: 499.
26. Garlid KD, Orosz DE, Modrianský M, Vassanelli S, Jezek P. (1996). On the mechanism of fatty acid-induced proton transport by mitochondrial uncoupling protein. *J Biol Chem.* 271(5): 2615 - 2620.

27. González-Barroso MM, Fleury C, Jiménez MA, Sanz JM, Romero A, Bouillaud F, Rial E. (1999). Structural and functional study of a conserved region in the uncoupling protein UCP1: the three matrix loops are involved in the control of transport. *J Mol Biol.* 292(1): 137 – 149.
28. Grivell LA, Artal-Sanz, M, Hakkaart G, de Jong L, Nijtmans LGJ, van Oosterum K, Siep M, and van der Spek H. (1999) Mitochondrial assembly in yeast. *FEBS Letters.* 452: 57 – 60.
29. Guo JJ, Liu YJ, Li MX, Yang YJ, Recker RR, Deng HW. (2005) Linkage exclusion analysis of two candidate regions on chromosomes 7 and 11: leptin and UCP2/UCP3 are not QTLs for obesity in US Caucasians. *Biochem Biophys Res Commun.* 332: 602–608.
30. Guo S.S., Roche A., Chumlea W.C., Gardner J., Siervogel R. (1994) The predictive value of childhood body mass index values for overweight at age 35 y. *Am J Clin Nutr.* 59(4): 810 – 819.
31. Gupte S, Wu ES, Hoehli L, Hoehli M, Jacobson K, Sowers AE, Hackenbrock CR. (1984) Relationship between lateral diffusion, collision frequency, and electron transfer of mitochondrial inner membrane oxidation-reduction components. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 81(9): 2606 – 26010.
32. Hamada T, Kotani K, Fujiwara S, Sano Y, Domich M, Tsuzaki K, Sakane N. (2008). 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.* 57: 410 – 415.
33. Hatefi Y. (1985). The mitochondrial electron transport and oxidative phosphorylation system. *Annu Rev Biochem.* 54: 1015 - 1069.
34. Hesselink, Matthus K.C. Mensik M. Schrauwen P. (2003). Human Uncoupling protein-3 and obesity: an update. *Obesity research.* 11 (12): 1429 – 1443.
35. Himms-Hagen, J. and M. E. Harper (2001). Physiological role of UCP3 may be export of fatty acids from mitochondria when fatty acid oxidation predominates: an hypothesis. *Exp Biol Med.* 226(2): 78 - 84.
36. Hu P, Qin YH, Hu B, Lu L. (2010) Hypervariability in a minisatellite 3' of the apolipoprotein B gene: Allelic distribution and influence on lipid profiles in Han Children from central China. *Clin Chim Acta.* 411: 2092 – 2096.
37. Hughes DA, Jastroch M, Stoneking M, Klingenspor M. (2009). Molecular evolution of UCP1 and the evolutionary history of mammalian non-shivering thermogenesis. *BMC Evol Biol.* 9: 4.
38. Hurtaud C, Gelly C, Bouillaud F, Lévi-Meyrueis C. (2006). Translation control of UCP2 synthesis by the upstream open reading frame. *Cell Mol Life Sci.* 63(15): 1780 - 1789.
39. Jaburek, M. and K. D. Garlid. (2003). Reconstitution of recombinant uncoupling proteins: UCP1, -2, and -3 have similar affinities for ATP and are unaffected by coenzyme Q10. *J Biol Chem.* 278(28): 25825 - 25831.
40. Jiang N, Zhang G, Bo H, Qu J, Ma G, Cao D, Wen L, Liu S, Ji LL, Zhang Y. (2009). Upregulation of uncoupling protein-3 in skeletal muscle during exercise: a potential antioxidant function. *Free Radic Biol Med.* 46: 138 – 145.

41. Jiménez-Jiménez J, Zardoya R, Ledesma A, García de Lacoba M, Zaragoza P, Mar González-Barroso M, Rial E. (2006). Evolutionarily distinct residues in the uncoupling protein UCP1 are essential for its characteristic basal proton conductance. *J Mol Biol.* 359: 1010 – 1022.
42. Jun H.S., In K. Kim, H.J. Lee, H.J. Lee, Jae H. Kang, J.R. Kim, Hyoung D. Shin and J. Song. (2008). Effects of UCP2 and UCP3 Variants on the Manifestation of Overweight in Korean Children. *Obesity.* 17: 355–362.
43. Kennedy EP and Lehninger AL. (1949). Oxidation of fatty acids and tricarboxylic acid cycle intermediates by isolated rat liver mitochondria. *J Biol Chem.* 179(2): 957 – 972.
44. Kim-Han, J. S. and L. L. Dugan (2005). Mitochondrial uncoupling proteins in the central nervous system. *Antioxid Redox Signal.* 7(9-10): 1173 – 1181.
45. Kimm S, Glynn N, Aston C, Damcot C, Poehlman E, Daniels S, and Ferrell R (2002). Racial differences in the relation between uncoupling protein genes and resting energy expenditure. *Am J Clin Nutr.* 75: 714 – 719.
46. Klingenberg, M (1988). Nucleotide binding to uncoupling protein. Mechanism of control by protonation. *Biochemistry.* 27(2): 781 – 791.
47. Kosuge K, Soma M, Nakayama T, Aoi N, Sato M, Haketa A, Uwabo J, Izumi Y, Matsumoto K. (2008). Human uncoupling protein 2 and 3 genes are associated with obesity in Japanese. *Endocrine.* 34(1-3): 87 – 95.
48. Krammer E.M., Ravaud S., Dehez F, Frelet-Barrand A., Pebay-Peyroula E., and Chipot C. (2009). High-Chloride Concentrations Abolish the Binding of Adenine Nucleotides in the Mitochondrial ADP/ATP Carrier Family. *Biophys J.* 97(10): L25 – L27.
49. Krauss S., Zhang C.Y., Scorrano L., Dalgaard L.T , St-Pierre J., Grey S.T., Lowell B.B. (2003). Superoxide-mediated activation of uncoupling protein 2 causes pancreatic beta cell dysfunction. *J Clin Invest.* 112: 1831-1842.
50. Krempler F, Esterbauer H, Weitgasser R, Ebenbichler C, Patsch JR, Miller K, Xie M, Linnemayr V, Oberkofler H, Patsch W (2002). A functional polymorphism in the promoter of UCP2 enhances obesity risk but reduces type 2 diabetes risk in obese middle aged humans. *Diabetes.* 51(11): 3331 – 3335.
51. Krempler F, Esterbauer H, Weitgasser R, Ebenbichler C, Patsch JR, Miller K, Xie M, Linnemayr V, Oberkofler H, Patsch W. (2002). A functional polymorphism in the promoter of UCP2 enhances obesity risk but reduces type 2 diabetes risk in obese middle-aged humans. *Diabetes.* 51: 3331 – 3335.
52. Kumar S.A., Sudhakar V., Varalakshmi P (2006). Oxidative renal injury and lipoprotein oxidation in hypercholesterolemic atherogenesis: Role of eicosapentaenoate-lipoate (EPA-LA) derivative. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 75: 25 – 31.
53. Lambert A.J, Brand M.D. (2004). Superoxide production by NADH:ubiquinone oxidoreductase (complex I) depends on the pH gradient across the mitochondrial inner membrane. *Biochem J.* 382: 511-517.

54. Langin D. (2001). Insulin secretion, and the pancreatic beta-cell mitochondrion. *Engl J Med. Diabetes*. 345(24): 1772 – 1774.
55. Lauer Ronald, Lee Julia, Clarke William. 1988. "Factors affecting the relationship between childhood and adult cholesterol levels : The Muscatine Study". *Pediatrics*. Vol 82 N°3 sept 1988
56. Le Fur S, Le Stunff C, Dos Santos C, Bougnères P. (2004). The common -866 G/A polymorphism in the promoter of uncoupling protein 2 is associated with increased carbohydrate and decreased lipid oxidation in juvenile obesity. *Diabetes*. 53(1): 235 - 239.
57. Ledesma A, de Lacoba MG, Arechaga I, Rial E. (2002). Modeling the transmembrane arrangement of the uncoupling protein UCP1 and topological considerations of the nucleotide binding site. *J Bioenerg Biomembr*. 34(6): 473 – 486.
58. Lee FY, Li Y, Zhu H, Yang S, Lin HZ, Trush M, Diehl AM. (1999). Tumor necrosis factor increases mitochondrial oxidant production and induces expression of uncoupling protein-2 in the regenerating mice [correction of rat] liver. *Hepatology*. 29(3): 677 - 687.
59. Luévano-Martínez LA, Moyano E, de Lacoba MG, Rial E, Uribe-Carvajal S. (2010). Identification of the mitochondrial carrier that provides *Yarrowia lipolytica* with a fatty acid-induced and nucleotide-sensitive uncoupling protein-like activity. *Biochim Biophys Acta*. 1797(1): 81 - 88.
60. Mannella CA, Pfeiffer DR, Bradsaw PC, Moraru I, Slepchenko B, Loew LM, Hsieh C, Buttle K, and Marko M. (2001). Topology of the mitochondrial inner membrane: dynamics and bioenergetic implications. *IUBMB Life*. 52: 93 – 100.
61. Mannella CA. (2006). Structure and dynamics of the mitochondrial inner membrane cristae. *Biochim Biophys Acta*. 1763: 542 – 548.
62. Martial Rey, Petr Man, Benjamin Clémencçon, Véronique Trézéguet, Gérard Brandolin, Eric Forest, and Ludovic Pelosi. (2010). Conformational Dynamics of the Bovine Mitochondrial ADP/ATP Carrier Isoform 1 Revealed by Hydrogen/Deuterium Exchange Coupled to Mass Spectrometry. *J of Biol Chem*. 285(45): 34981 – 34990.
63. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC (1985). Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 28(7): 412 – 419.
64. Mika B Jekabsons, Karim S Ehtay, Martin D Brand. (2002) Nucleotide binding to human uncoupling protein-2 refolded from bacterial inclusion bodies. *Biochem J*. 366(Pt 2): 565–571.
65. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. (1998) A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Res* 16:1215.
66. Miroux B, Frossard V, Raimbault S, Ricquier D, Bouillaud F: The topology of the brown adipose tissue mitochondrial uncoupling protein determined with antibodies against its antigenic sites revealed by a library of fusion proteins. *EMBO J* 1993, 12:3739-3745.
67. Mitchell P. (1961) Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemiosmotic type of mechanism. *Nature*. 191:, 144 – 148.

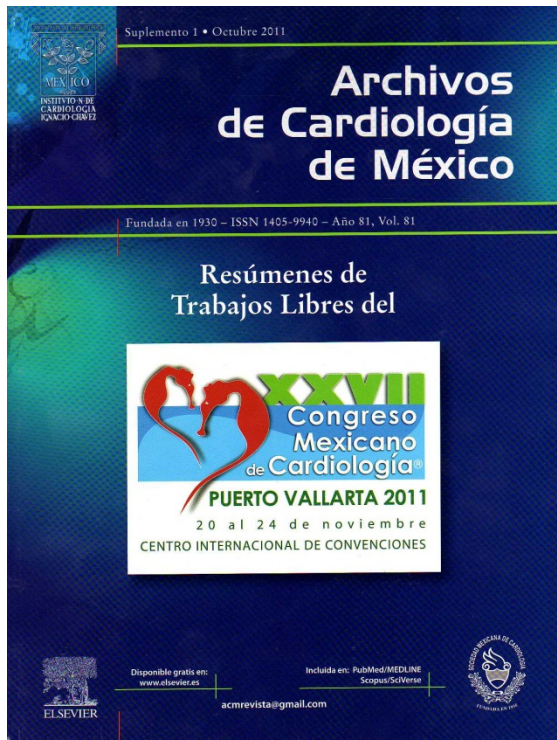
68. Murphy MP, Echtay KS, Blaikie FH, Asin-Cayuela J, Cocheme HM, Green K, Buckingham JA, Taylor ER, Hurrell F, Hughes G, Miwa S, Cooper CE, Svistunenko DA, Smith RA, Brand MD. (2003). Superoxide activates uncoupling proteins by generating carbon-centered radicals and initiating lipid peroxidation: studies using a mitochondria-targeted spin trap derived from alpha-phenyl-N-tert-butyl-nitron. *J Biol Chem.* 278(49): 48534 - 48545.
69. Nabben M, Hoeks J. (2008). Mitochondrial uncoupling protein 3 and its role in cardiac- and skeletal muscle metabolism. *Physiol Behav.* 94: 259 – 269.
70. Nagae A, Fujita M, Kawarazaki H, Matsui H, Ando K, Fujita T. (2009). Sympathoexcitation by oxidative stress in the brain mediates arterial pressure elevation in obesity-induced hypertension. *Circulation.* 119: 978 – 986.
71. Nègre-Salvayre A, Hirtz C, Carrera G, Cazenave R, Troly M, Salvayre R, Pénicaud L, Casteilla L. (1997). A role for uncoupling protein-2 as a regulator of mitochondrial hydrogen peroxide generation. *FASEB J.* 11(10): 809 - 815.
72. Nicholls, D. G. and E. Rial (1999). A history of the first uncoupling protein, UCP1. *J Bioenerg Biomembr.* 31(5): 399 – 406.
73. Ochoa MC, Santos JL, Azcona C, Moreno-Aliaga MJ, Martínez-González MA, Martínez JA, Martí A; GENOI Members. (2007). Association between obesity and insulin resistance with UCP2-UCP3 gene variants in Spanish children and adolescents. *Mol Genet Metab.* 92: 351 – 358.
74. Oelkrug R, Kutschke M, Meyer CW, Heldmaier G, Jastroch M. (2010). Uncoupling protein 1 decreases superoxide production in brown adipose tissue mitochondria. *J Biol Chem.* 285: 21961 – 21968.
75. Otabe S, Clement K, Dina C, Pelloux V, Guy-Grand B, Froguel P, Vasseur F. (2000). A genetic variation in the 5' flanking region of the UCP3 gene is associated with body mass index in humans in interaction with physical activity. *Diabetologia.* 43: 245 – 249.
76. Ott M, Gogvadze V, Orrenius S, Zhivotovsky B. (2007). Mitochondria, oxidative stress and cell death. *Apoptosis.* 12(5): 913 - 922.
77. Palmieri, F. (2004). The mitochondrial transporter family (SLC25): physiological and pathological implications. *Pflugers Arch.* 447(5): 689 – 709.
78. Palmisano A, Zara V, Honlinger A, Voza A, Dekker P.J.T. Pfanner N, Palmieri F. (1998). Targeting and assembly of the oxoglutarate carrier: general principles for biogenesis of carrier proteins of the mitochondrial inner membrane. *Biochem J.* 1: 333.
79. Paulik MA, Buckholz RG, Lancaster ME, Dallas WS, Hull-Ryde EA, Weiel JE, Lenhard JM. (1998). Development of infrared imaging measure thermogenesis in cell culture: thermogenic effects of uncoupling protein- 2 troglitazone and β adrenoreceptor agonist. *Pharmaceutical Research.* 15(6): 944 – 949.
80. Pebay-Peyroula E, Dahout-Gonzalez C, Kahn R, Trézéguet V, Lauquin GJ, Brandolin G. (2003). Structure of mitochondrial ADP/ATP carrier in complex with carboxyatractyloside. *Nature.* 426(6962): 39 - 44.

81. Pecqueur C, Bui T, Gelly C, Hauchard J, Barbot C, Bouillaud F, Ricquier D, Miroux B, Thompson CB. (2008). Uncoupling protein-2 controls proliferation by promoting fatty acid oxidation and limiting glycolysis-derived pyruvate utilization. *Faseb J.* 22(1): 9 - 18.
82. Pecqueur C, Cassard-Doulicier AM, Raimbault S, Miroux B, Fleury C, Gelly C, Bouillaud F, Ricquier D. (1999). Functional organization of the human uncoupling protein-2 gene, and juxtaposition to the uncoupling protein-3 gene. *Biochem Biophys Res Commun.* 255(1): 40 - 46.
83. Pietrobelli A. 2001 "Uso del IMC para evaluar la obesidad en niños" SAOTA, *Obesidad* 12 (2) 12-15
84. Raha S, Robinson BH. (2000) Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *Trends Biochem Sci.* 25(10): 502 – 508.
85. Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA (1963). The glucose fatty-acid cycle: its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet.* 1: 785 – 789.
86. Rasmussen N. (1995). Mitochondria structure and the practice of cell biology in the 1950s. *J Hist Biol.* 28: 381 – 349.
87. Reaven GM. (2005). The metabolic syndrome: requiescat in pace. *Clin Chem.* 51: 931 - 938.
88. Rial E, González-Barroso M, Fleury C, Iturrizaga S, Sanchis D, Jiménez-Jiménez J, Ricquier D, Goubern M, Bouillaud F. (1999). Retinoids activate proton transport by the uncoupling proteins UCP1 and UCP2. *Embo J.* 18(21): 5827 – 5833.
89. Rial E, González-Barroso MM. (2001). Physiological regulation of the transport activity in the uncoupling proteins UCP1 and UCP2. *Biochim Biophys Acta.* 1504(1): 70 - 81.
90. Rial, E. and R. Zardoya (2009). Oxidative stress, thermogenesis and evolution of uncoupling proteins. *J Biol.* 8(6): 58.
91. Ricquier D. and Bouillaud F. (2000). The uncoupling protein homologues: UCP1, UCP2, UCP3, StUCP and AtUCP. *Biochem. J.* 345: 161 – 179.
92. Ricquier, D. and J. C. Kader (1976). Mitochondrial protein alteration in active brown fat: a sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoretic study. *Biochem Biophys Res Commun.* 73(3): 577 - 583.
93. Robinson AJ, Overy C, Kunji ER. (2008). The mechanism of transport by mitochondrial carriers based on analysis of symmetry. *Proc Natl Acad Sci USA.* 105(46): 17766 – 17771.
94. Rousset S, Alves-Guerra MC, Mozo J, Miroux B, Cassard-Doulicier AM, Bouillaud F, Ricquier D. (2004). The biology of mitochondrial uncoupling proteins. *Diabetes.* 53(1): S130 – S135.
95. Salopuro T., Pulkkinen L., Lindström J., Kolehmainen M, Tolppanen A., Eriksson J.G., Valle T.T, Aunola S., Ilanne-Parikka P., Keinänen-Kiukaanniemi S., Tuomilehto J., Laakso M., Uusitupa M. (2009). Variation in the UCP2 and UCP3 genes associates with abdominal obesity and serum lipids: The Finnish Diabetes Prevention Study. *BMC Med Genet.* 10: 94.
96. Sasahara M, Nishi M, Kawashima H, Ueda K, Sakagashira S, Furuta H, Matsumoto E, Hanabusa T, Sasaki H, Nanjo K. (2004). Uncoupling protein 2 promotes polymorphism -866 G/A affects its

- expression in beta-cells and modulates clinical profiles of Japanese type 2 patients. *Diabetes*. 53(2): 482 – 485.
97. Schrauwen P, Xia J, Bogardus C, Pratley RE, Ravussin E. (1999). Skeletal muscle uncoupling protein 3 expression in skeletal muscle and free fatty acid in obesity letter. *Lancet*. 351: 1933 – 1933.
98. Schrauwen P. Hoeks J & Hesselink MK. (2006). Putative function and physiological relevance of the mitochondrial uncoupling protein 3: involvement in fatty acid metabolism? *Lipid research*. 45: 17 – 41.
99. Seifert EL, Bézaire V, Estey C, Harper ME. (2008). Essential role for uncoupling protein-3 in mitochondrial adaptation to fasting but not in fatty acid oxidation or fatty acid anion export. *J Biol Chem*. 283(37): 25124 - 25131.
100. Sepúlveda J. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006 (ENSANUT 2006). México: Instituto Nacional de Salud Pública, 2006.
101. Shamah Levy T. (2010). Editora. Encuesta Nacional de Salud en Escolares 2008. Cuernavaca (México): *Instituto Nacional de Salud Pública (MX)*.
102. Shen H, Qi L, Tai ES, Chew SK, Tan CE, Ordovas JM. (2006). Uncoupling protein 2 promoter polymorphism -866G/A, central adiposity, and metabolic syndrome in Asians. *Obesity*. 14(4): 656 - 661.
103. Shin HD, Kim KS, Cha MH, Yoon Y. (2005). The effects of UCP-1 polymorphisms on obesity phenotypes among Korean female subjects *Biochem Biophys Res Commun*.335(2): 624 - 630.
104. Srivasta N. Prakash J, Lakhan R, Agarwal CG, Pant DC, Nalraj Mittal. (2010). A common polymorphism in the promoter of UCP2 is associated with obesity and hyperinsulinemia in northern Indians. *Mol. Cell Biochem*. 337: 293 – 298.
105. Taylor R.W., Jones I.E., Williams S.M. Coughlin A. (2000). Evaluation of waist circumference, waist-to-hip ratio, and the conicity index as screening tools for high trunk fat mass, as measured by dual-energy X-ray absorptiometry, in children aged 3–19 y. *American Journal of Clinical Nutrition*. 72(2): 490 – 495.
106. Teshima Y, Akao M, Jones SP, Marbein E. (2003). Uncoupling protein-2 over expression inhibits mitochondrial death pathway in cardiomyocytes. *Circ Res*. 93: 192 – 200.
107. Turrens JF, Alexandre A, Lehninger AL. (1985) Ubisemiquinone is the electron donor for superoxide formation by complex III of heart mitochondria. *Arch Biochem Biophys*. 237(2): 408 – 414.
108. Vidal-Puig A, Solanes G, Grujic D, Flier JS, Lowell BB (1997) UCP3: an uncoupling protein homologue expressed preferentially and abundantly in skeletal muscle and brown adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun*. 235(1): 79 – 82.
109. Villarroya F, Iglesias R, Giral M (2007). PPARs in the Control of Uncoupling Proteins Gene Expression. *PPAR Researc*. 2007 (ID 74364): 12 pages.
110. Walder K, Norman RA, Hanson RL, Schrauwen P, Neverova M, Jenkinson CP, Easlick J, Warden CH, Pecqueur C, Raimbault S, Ricquier D, Silver MH, Shuldiner AR, Solanes G, Lowell BB, Chung WK, Leibel RL, Pratley R, Ravussin E. (1998). Association between uncoupling protein

- polymorphisms (UCP2-UCP3) and energy metabolism/obesity in Pima Indians. *Hum Mol Genet.* 7: 1431 – 1435.
111. Wang H, Chu WS, Lu T, Hasstedt SJ, Kern PA, Elbein SC (2004) Uncoupling protein-2 polymorphisms in type2 diabetes, obesity, and insulin secretion. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 286: E1 - E7.
112. Wang TN, Huang MC, Lin HL, Hsiang CH, Ko AM, Chang WT, Ko YC. (2007). UCP2 A55V variant is associated with obesity and related phenotypes in an aboriginal community in Taiwan. *Int J Obes (Lond).* 31(11): 1746 - 1752.
113. Warnick GR, McNamara JR, Boggess CN, Clendenen F, Williams PT, Landolt CC. (2006) Polyacrilamide gradient gel electrophoresis of lipoprotein subclasses. *Clin Lab Med.* 26: 803 – 846.
114. Weigle DS, Selfridge LE, Schwartz MW, Seeley RJ, Cummings DE, Havel PJ, Kuijper JL, BeltrandelRio H. (1998). Elevated free fatty acids induce uncoupling protein 3 expression in muscle: a potential explanation for the effect of fasting. *Diabetes.* 47: 298 – 302.
115. WHO. (1998). Consultation on obesity. Global prevalence and secular trends in obesity. In: World Health Organisation, ed. Obesity preventing and managing the global epidemic, Geneva: WHO, 1998: 17 - 40.
116. Wilson DF, Stubbs M, Oshino N, Erecińska M. (1974). Thermodynamic relationships between the mitochondrial oxidation-reduction reactions and cellular ATP levels in ascites tumor cells and perfused rat liver. *Biochemistry.* 13(26): 5305 - 5311.
117. Winkler, E. and M. Klingenberg (1994). Effect of fatty acids on H⁺ transport activity of the reconstituted uncoupling protein. *J Biol Chem.* 269(4): 2508 - 2515.
118. Wittig I, Carozzo R, Santorelli FM, and Schägger H. (2006) Supercomplex and subcomplexes of Mitochondrial Oxidative Phosphorylation. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1757: 1066 - 1072.
119. Wojtczak, L. and P. Schonfeld (1993). Effect of fatty acids on energy coupling processes in mitochondria. *Biochim Biophys Acta.* 1183(1): 41 - 57.
120. Zhang CY, Baffy G, Perret P, Krauss S, Peroni O, Grujic D, Hagen T, Vidal-Puig AJ, Boss O, Kim YB, Zheng XX, Wheeler MB, Shulman GI, Chan CB, Lowell BB. (2001). Uncoupling protein-2 negatively regulates insulin secretion and is a major link between obesity, beta cell dysfunction, and type 2 diabetes. *Cell.*105(6): 745 – 755.
121. Zhang K, Shang Y, Liao S, Zhang W, Nian H, Liu Y, Chen Q, Han C. (2007). Uncoupling protein 2 protects testicular germ cells from hyperthermia-induced apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 360(2): 327 – 33

Anexo 1- Publicación de cartel en el XXVII Congreso Mexicano de Cardiología



Relación de los polimorfismos de los genes que codifican para las proteínas desacoplates UCP1, UCP2 y UCP3 en pacientes menores de edad con obesidad

Castrejón-Téllez Vicente, Castellanos-Mendoza Andrea Eugenia, Esquivel-Macedo Dejanira, Huesca-Gómez Claudia, Gamboa-Avila Ricardo.

Departamento de Fisiología. Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, México, D.F.

Introducción: La enfermedad arterial coronaria, es una de las principales causas de mortalidad en México, un factor de riesgo importante es la obesidad, la cual ha ido en aumento en la población general en los últimos años. La obesidad, es un síndrome de etiopatogenia multifactorial caracterizado por el aumento del tejido graso, que es producto del desequilibrio en la generación y gasto de energía del organismo. Las proteínas desacoplates o UCP tienen un papel fundamental en el metabolismo energético celular y por ende en la regulación del peso corporal.

Objetivo: Estudiar las variantes genéticas como los polimorfismos asociados a las proteínas desacoplates y su relación con el desarrollo de la obesidad, enfermedad arterial coronaria en pacientes menores de edad con obesidad.

Métodos: Se estudiaron 100 sujetos menores de edad, 50% obesos y 50% controles. En ambos grupos se estudiaron tres variantes polimórficas de las UCP (UCP1 -3826, UCP2 -866 y UCP3 -55) por PCR-FLRP.

Resultados: En la UCP1, la frecuencia del alelo G del polimorfismo -3826 fue de 0.49; en la UCP2, la frecuencia del alelo G del polimorfismo -866 fue de 0.53 y, en la UCP3, la frecuencia del alelo C del polimorfismo -55 fue de 0.67. El genotipo AA del polimorfismo UCP1 -3826, tiene bajos niveles de C-HDL en relación con las otras dos isoformas, GA y GG. El genotipo GG del polimorfismo UCP2 -866, tiene diferencias significativas en los niveles de triglicéridos, $p < 0.05$, con respecto a las otras isoformas, GA y AA. Los genotipos del polimorfismo de UCP3 -55 esta aún en estudio.

Conclusiones: Este estudio ha permitido relacionar los polimorfismos de las UCP con la enfermedad arterial coronaria y la obesidad, como factor de riesgo y su influencia en la etiología de la enfermedad arterial coronaria.

Anexo 2. Percentilos de la circunferencia de cintura (cm) en niños y niñas

Tabla 30 Percentilos de la circunferencia de cintura (cm) en mujeres

Edad	N	Percentilos						
		3	10	25	50	75	90	95
6	126	43.62	47.00	52.00	55.00	58.00	63.00	65.65
7	140	44.23	48.10	52.00	56.50	61.00	66.90	71.90
8	156	50.71	52.70	56.00	59.00	66.00	73.30	78.00
9	128	50.00	52.90	56.00	61.00	66.00	73.10	75.00
10	147	52.44	55.80	59.00	65.00	73.00	82.00	86.60
11	165	55.00	57.60	61.00	66.00	70.00	79.00	83.00
12	159	54.00	59.00	63.00	67.00	74.00	82.00	85.00
13	49	56.50	60.00	63.50	70.00	74.50	83.00	88.50

Fuente: Hirschler Valeria, Delfino Ana María y col. "¿Es la circunferencia de cintura un componente del síndrome metabólico en la infancia?" Arch. Argent. Pediatr. 2005 Vol 1 pag8.

Tabla 31 Percentilos de la circunferencia de cintura (cm) en varones.

Edad	N	Percentilos						
		3	10	25	50	75	90	95
6	127	43.62	47.00	52.00	55.00	58.00	63.00	65.65
7	161	44.23	48.10	52.00	56.50	61.00	66.90	71.90
8	142	50.71	52.70	56.00	59.00	66.00	73.30	78.00
9	171	50.00	52.90	56.00	61.00	66.00	73.10	75.00
10	148	52.44	55.80	59.00	65.00	73.00	82.00	86.60
11	147	55.00	57.60	61.00	66.00	70.00	79.00	83.00
12	172	54.00	59.00	63.00	67.00	74.00	82.00	85.00
13	44	56.50	60.00	63.50	70.00	74.50	83.00	88.50

Fuente: Hirschler Valeria, Delfino Ana María y col. "¿Es la circunferencia de cintura un componente del síndrome metabólico en la infancia?" Arch. Argent. Pediatr. 2005 Vol 1 pag8.

Anexo 3 IMC para sobrepeso y obesidad en niñas y niños

Se confeccionaron tablas de IMC, tanto para varones como para niñas de 2 a 18 años, a nivel internacional y se determinaron los puntos de corte extrapolados de los valores de IMC 25 y 30 del adulto, para sobrepeso y obesidad respectivamente (Pietrobelli A. 2001)

Tabla 32 IMC varones y niñas de 2 a 18 años

Edad	IMC 25kg/m ²		IMC 30kg/m ²	
	Niños	Niñas	Niños	Niñas
3 a	17.9	17.6	19.6	19.4
3 a 6m	17.7	17.4	19.4	19.2
4 a	17.6	17.3	19.3	19.1
4 a 6m	17.5	17.2	19.3	19.1
5 a	17.4	17.1	19.3	19.2
5 a 6m	17.5	17.2	19.5	19.3
6 a	17.6	17.3	19.8	19.7
6 a 6m	17.7	17.5	20.2	20.1
7 a	17.9	17.8	20.6	20.5
7 a 6m	18.2	18.0	21.1	21.0
8 a	18.4	18.3	21.6	21.6
8 a 6m	18.8	18.7	22.2	22.2
9 a	19.1	19.1	22.8	22.8
9 a 6m	19.5	19.5	23.4	23.5
10 a	19.8	19.9	24.0	24.1
10 a 6m	20.2	20.3	24.6	24.8
11 a	20.6	20.7	25.1	25.4
11 a 6m	20.9	21.2	25.6	26.1
12 a	21.2	21.7	26.0	26.7
12 a 6m	21.6	22.1	26.4	27.2
13 a	21.9	22.6	26.8	27.8
13 a 6m	22.3	23.0	27.2	28.2
14 a	22.6	23.3	27.6	28.6
14 a 6m	23.0	23.7	28.0	28.9
15 a	23.3	23.9	28.3	29.1
15 a 6m	23.6	24.2	28.6	29.3
16 a	23.9	24.4	28.9	29.4
16 a 6m	24.2	24.5	29.1	29.6
17 a	24.5	24.7	29.4	29.7
17 a 6m	24.7	24.8	29.7	29.8
18 a	25.0	25.0	30.0	30.0

Anexo 4 Niveles lipídicos

Tabla 32 Clasificación de niveles lipídicos en niños y adolescentes Clasificación de niveles lipídicos en niños y adolescentes

Niveles lipídicos	Valores en mg/dl	Niveles lipídicos	Valores en mg/dl
Colesterol	≥ 200	C-LDL	≥ 130
Elevado	170-199	Elevado	110-129
Limítrofe	< 170	Limítrofe	< 110
Aceptable	< 140	Aceptable	50-109
Recomendable	< 110	Recomendable	< 50
Ideal		Ideal	
C-HDL	< 35	Triglicéridos	> 130
Bajo	> 40	Muy elevados	> 100
Recomendable		Moderadamente elevados	< 100
		Aceptable	

Fuente: American Academy Of Pediatric.: National Colesterol Education Program.: "Report of the expert panel on blood cholesterol levels in children and adolescents". Pediatrics. Vol 89. 1992

Tabla 33 Niveles plasmáticos de colesterol LDL en niños y adolescentes

Edad (años)	Percentilo (mg/dL)						
	5	10	25	50	75	90	95
Varones							
5-9	65	71	82	93	121	133	133
10-14	66	74	83	97	126	136	136
15-19	64	70	82	96	127	134	134
Mujeres							
5-9	70	75	91	118	129	144	144
10-14	70	75	83	113	130	140	140
15-19	61	67	80	114	133	141	141

Fuente: American Academy Of Pediatric.: National Colesterol Education Program.: "Report of the expert panel on blood cholesterol levels in children and adolescents". Pediatrics. Vol 89. 1992

Tabla 34 Niveles de colesterol HDL en niños y adolescentes

Edad (años)	Percentilo (mg/dL)						
	5	10	25	50	75	90	95
Varones							
5-9	39	43	50	56	65	72	76
10-14	38	41	47	57	63	73	76
15-19	31	35	40	47	64	61	65
Mujeres							
5-9	37	39	48	54	63	69	75
10-14	38	41	46	54	60	66	72
15-19	36	39	44	53	63	70	76

Fuente: American Academy Of Pediatric.: National Colesterol Education Program.: "Report of the expert panel on blood cholesterol levels in children and adolescents". Pediatrics. Vol 89. 1992

Tabla 35 Niveles plasmáticos de triglicéridos en niños y adolescentes

Edad (años)	Percentilo (mg/dL)						
	5	10	25	50	75	90	95
Varones							
0-4	30	34	41	53	69	87	102
5-9	31	34	41	53	67	88	104
10-14	33	38	46	61	80	105	129
15-19	38	44	56	71	94	124	152
Mujeres							
0-4	35	39	46	61	79	99	115
5-9	33	37	45	57	73	93	108
10-14	38	45	56	72	93	117	135
15-19	40	45	55	70	90	117	136

Fuente: American Academy Of Pediatric.: National Colesterol Education Program.: "Report of the expert panel on blood cholesterol levels in children and adolescents". Pediatrics. Vol 89. 1992

Anexo 5 Valores de tensión arterial para niños por percentilos de edad y peso

Tabla 36 Valores de tensión arterial para niños por percentilos de edad y peso

Edad (años)	Percentilo TA	TAS, mm Hg							TAD, mm Hg						
		Percentilo de peso							Percentilo de peso						
		5	10	25	50	75	90	95	5	10	25	50	75	90	95
1	50	80	81	83	85	87	88	89	34	35	36	37	38	39	39
	90	94	95	97	99	100	102	103	49	50	51	52	53	53	54
	95	98	99	101	103	104	106	106	54	54	55	56	57	58	58
	99	105	106	108	110	112	113	114	61	62	63	64	65	66	66
2	50	84	85	87	88	90	92	92	39	40	41	42	43	44	44
	90	97	99	100	102	104	105	106	54	55	56	57	58	58	59
	95	101	102	104	106	108	109	110	59	59	60	61	62	63	63
	99	109	110	111	113	115	117	117	66	67	68	69	70	71	71
3	50	86	87	89	91	93	94	95	44	44	45	46	47	48	48
	90	100	101	103	105	107	108	109	59	59	60	61	62	63	63
	95	104	105	107	109	110	112	113	63	63	64	65	66	67	67
	99	111	112	114	116	118	119	120	71	71	72	73	74	75	75
4	50	88	89	91	93	95	96	97	47	48	49	50	51	51	52
	90	102	103	105	107	109	110	111	62	63	64	65	66	66	67
	95	106	107	109	111	112	114	115	66	67	68	69	70	71	71
	99	113	114	116	118	120	121	122	74	75	76	77	78	78	79
5	50	90	91	93	95	96	98	98	50	51	52	53	54	55	55
	90	104	105	106	108	110	111	112	65	66	67	68	69	69	70
	95	108	109	110	112	114	115	116	69	70	71	72	73	74	74
	99	115	116	118	120	121	123	123	77	78	79	80	81	81	82
6	50	91	92	94	96	98	99	100	53	53	54	55	56	57	57
	90	105	106	108	110	111	113	113	68	68	69	70	71	72	72
	95	109	110	112	114	115	117	117	72	72	73	74	75	76	76
	99	116	117	119	121	123	124	125	80	80	81	82	83	84	84
7	50	92	94	95	97	99	100	101	55	55	56	57	58	59	59
	90	106	107	109	111	113	114	115	70	70	71	72	73	74	74
	95	110	111	113	115	117	118	119	74	74	75	76	77	78	78
	99	117	118	120	122	124	125	126	82	82	83	84	85	86	86
8	50	94	95	97	99	100	102	102	56	57	58	59	60	60	61
	90	107	109	110	112	114	115	116	71	72	72	73	74	75	76
	95	111	112	114	116	118	119	120	75	76	77	78	79	79	80
	99	119	120	122	123	125	127	127	83	84	85	86	87	87	88
9	50	95	96	98	100	102	103	104	57	58	59	60	61	61	62
	90	109	110	112	114	115	117	118	72	73	74	75	76	76	77
	95	113	114	116	118	119	121	121	76	77	78	79	80	81	81
	99	120	121	123	125	127	128	129	84	85	86	87	88	88	89
10	50	97	98	100	102	103	105	106	58	59	60	61	61	62	63
	90	111	112	114	115	117	119	119	73	73	74	75	76	77	78
	95	115	116	117	119	121	122	123	77	78	79	80	81	81	82
	99	122	123	125	127	128	130	130	85	86	86	88	88	89	90
11	50	99	100	102	104	105	107	107	59	59	60	61	62	63	63
	90	113	114	115	117	119	120	121	74	74	75	76	77	78	78
	95	117	118	119	121	123	124	125	78	78	79	80	81	82	82
	99	124	125	127	129	130	132	132	86	86	87	88	89	90	90
12	50	101	102	104	106	108	109	110	59	60	61	62	63	63	64
	90	115	116	118	120	121	123	123	74	75	75	76	77	78	79
	95	119	120	122	123	125	127	127	78	79	80	81	82	82	83
	99	126	127	129	131	133	134	135	86	87	88	89	90	90	91
13	50	104	105	106	108	110	111	112	60	60	61	62	63	64	64
	90	117	118	120	122	124	125	126	75	75	76	77	78	79	79
	95	121	122	124	126	128	129	130	79	79	80	81	82	83	83
	99	128	130	131	133	135	136	137	87	87	88	89	90	91	91
14	50	106	107	109	111	113	114	115	60	61	62	63	64	65	65
	90	120	121	123	125	126	128	128	75	76	77	78	79	79	80
	95	124	125	127	128	130	132	132	80	80	81	82	83	84	84
	99	131	132	134	136	138	139	140	87	88	89	90	91	92	92
15	50	109	110	112	113	115	117	117	61	62	63	64	65	66	66
	90	122	124	125	127	129	130	131	76	77	78	79	80	80	81
	95	126	127	129	131	133	134	135	81	81	82	83	84	85	85
	99	134	135	136	138	140	142	142	88	89	90	91	92	93	93

Fuente : Arch.argent.pediatr 2005;103(4) pag 356

Tabla 37 Valores de tensión arterial para niñas por percentilos de edad y peso

Edad (años)	Percentilo TA	TAS, mm Hg							TAD, mm Hg						
		Percentilo de peso							Percentilo de peso						
		5	10	25	50	75	90	95	5	10	25	50	75	90	95
1	50	83	84	85	86	88	89	90	38	39	39	40	41	41	42
	90	97	97	98	100	101	102	103	52	53	53	54	55	55	56
	95	100	101	102	104	105	106	107	56	57	57	58	59	59	60
	99	108	108	109	111	112	113	114	64	64	65	65	66	67	67
2	50	85	85	87	88	89	91	91	43	44	44	45	46	46	47
	90	98	99	100	101	103	104	105	57	58	58	59	60	61	61
	95	102	103	104	105	107	108	109	61	62	62	63	64	65	65
	99	109	110	111	112	114	115	116	69	69	70	70	71	72	72
3	50	86	87	88	89	91	92	93	47	48	48	49	50	50	51
	90	100	100	102	103	104	106	106	61	62	62	63	64	64	65
	95	104	104	105	107	108	109	110	65	66	66	67	68	68	69
	99	111	111	113	114	115	116	117	73	73	74	74	75	76	76
4	50	88	88	90	91	92	94	94	50	50	51	52	52	53	54
	90	101	102	103	104	106	107	108	64	64	65	66	67	67	68
	95	105	106	107	108	110	111	112	68	68	69	70	71	71	72
	99	112	113	114	115	117	118	119	76	76	76	77	78	79	79
5	50	89	90	91	93	94	95	96	52	53	53	54	55	55	56
	90	103	103	105	106	107	109	109	66	67	67	68	69	69	70
	95	107	107	108	110	111	112	113	70	71	71	72	73	73	74
	99	114	114	116	117	118	120	120	78	78	79	79	80	81	81
6	50	91	92	93	94	96	97	98	54	54	55	56	56	57	58
	90	104	105	106	108	109	110	111	68	68	69	70	70	71	72
	95	108	109	110	111	113	114	115	72	72	73	74	74	75	76
	99	115	116	117	119	120	121	122	80	80	80	81	82	83	83
7	50	93	93	95	96	97	99	99	55	56	56	57	58	58	59
	90	106	107	108	109	111	112	113	69	70	70	71	72	72	73
	95	110	111	112	113	115	116	116	73	74	74	75	76	76	77
	99	117	118	119	120	122	123	124	81	81	82	82	83	84	84
8	50	95	95	96	98	99	100	101	57	57	57	58	59	60	60
	90	108	109	110	111	113	114	114	71	71	71	72	73	74	74
	95	112	112	114	115	116	118	118	75	75	75	76	77	78	78
	99	119	120	121	122	123	125	125	82	82	83	83	84	85	86
9	50	96	97	98	100	101	102	103	58	58	58	59	60	61	61
	90	110	110	112	113	114	116	116	72	72	72	73	74	75	75
	95	114	114	115	117	118	119	120	76	76	76	77	78	79	79
	99	121	121	123	124	125	127	127	83	83	84	84	85	86	87
10	50	98	99	100	102	103	104	105	59	59	59	60	61	62	62
	90	112	112	114	115	116	118	118	73	73	73	74	75	76	76
	95	116	116	117	119	120	121	122	77	77	77	78	79	80	80
	99	123	123	125	126	127	129	129	84	84	85	86	86	87	88
11	50	100	101	102	103	105	106	107	60	60	60	61	62	63	63
	90	114	114	115	117	118	119	120	74	74	74	75	76	77	77
	95	118	118	119	121	122	123	124	78	78	78	79	80	81	81
	99	125	125	126	128	129	130	131	85	85	86	87	87	88	89
12	50	102	103	104	105	107	108	109	61	61	61	62	63	64	64
	90	116	116	117	119	120	121	122	75	75	75	76	77	78	78
	95	119	120	121	123	124	125	126	79	79	79	80	81	82	82
	99	127	127	128	130	131	132	133	86	86	87	88	88	89	90
13	50	104	105	106	107	109	110	110	62	62	62	63	64	65	65
	90	117	118	119	121	122	123	124	76	76	76	77	78	79	79
	95	121	122	123	124	126	127	128	80	80	80	81	82	83	83
	99	128	129	130	132	133	134	135	87	87	88	89	89	90	91
14	50	106	106	107	109	110	111	112	63	63	63	64	65	66	66
	90	119	120	121	122	124	125	125	77	77	77	78	79	80	80
	95	123	123	125	126	127	129	129	81	81	81	82	83	84	84
	99	130	131	132	133	135	136	136	88	88	89	90	90	91	92
15	50	107	108	109	110	111	113	113	64	64	64	65	66	67	67
	90	120	121	122	123	125	126	127	78	78	78	79	80	81	81
	95	124	125	126	127	129	130	131	82	82	82	83	84	85	85
	99	131	132	133	134	136	137	138	89	89	90	91	91	92	93

Fuente : Arch.argent.pediatr 2005;103(4) pag 357