



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**Programa de Maestría y Doctorado en Investigación Clínica Experimental en
Salud**

**Evaluación de los genes PPAR γ , HNF4 α , ABCA1,
KCNJ11, ECA, HHEX y FTO como factores de riesgo
asociados al síndrome metabólico en niños Mayas**

**Tesis que para optar por el grado de Maestría en Investigación Clínica
Experimental en Salud campo Bioquímica Clínica**

PRESENTA

LAQB. Barbara Itzel Peña Espinoza

Tutor:

Dra. Marta Alicia Menjívar Iraheta (Facultad de Química)

Comité Tutor:

Dr. Nahum Méndez Sánchez

Programa de Maestría y Doctorado en Investigación Clínica Experimental en Salud

Dr. Aarón Domínguez López

Programa de Maestría y Doctorado en Investigación Clínica Experimental en Salud

Dr. Samuel Canizales Quinteros (Facultad de Química)

Dra. Martha Esthela Pérez Rodríguez

Programa de Maestría y Doctorado en Investigación Clínica Experimental en Salud



México, D.F. Enero 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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





Contenido

1. Resumen.....	6
2. Índice de Abreviaturas	8
3. Antecedentes	11
3.1. Historia	12
3.2. Etiología.....	12
3.3. Patología	12
3.4. Definición y componentes del síndrome metabólico.....	13
3.4.1 Obesidad	14
3.4.2 Resistencia a la insulina.....	16
3.4.3 Dislipidemía.....	17
3.4.4 Elevación de la Presión Arterial	19
3.5. Prevalencia	20
3.6. Síndrome Metabólico: genes y ambiente	21
3.7. Polimorfismos genéticos	23
3.8. Genética del Síndrome metabólico	23
3.9. Estudio genético molecular del SM en población indígena	24



3.9.1. PPARG	25
3.9.2. HNF4A	27
3.9.3. ABCA1	29
3.9.4. KCNJ11.....	30
3.9.5. ECA.....	33
3.9.6. FTO.....	35
4 Justificación.....	37
5 Hipótesis	38
6 Objetivos	39
6.4 General.....	39
6.5 Específicos	39
7 Materiales y métodos	40
7.1. Participantes de Estudio	40
7.1.1. Criterios de Inclusión.....	40
7.1.2. Criterios de Exclusión.....	41
7.2. Tamaño de la muestra	41
7.3. Datos generales y antropométrico	41
7.4 Determinaciones bioquímicas.....	42
7.5 Análisis molecular.....	42
7.6 Análisis estadístico	42



8	Resultados	43
9	Discusión	55
10	Conclusión	63
11	Anexos.....	64
12	Referencias	76



1. Resumen

El síndrome metabólico (SM) representa un conjunto de alteraciones bioquímicas, antropométricas y fisiológicas que predisponen a los individuos al desarrollo de enfermedades cardiovasculares (ECV) y diabetes tipo 2 (DT2). Los componentes del SM incluyen obesidad abdominal, hipertrigliceridemia, niveles bajos de colesterol HDL, hipertensión e hiperglucemia, todos ellos condicionados por factores ambientales, genéticos y estilo de vida. La epidemia de obesidad infantil incrementa el número de niños con riesgo a desarrollar SM, casi un tercio de los niños y niñas en México tienen sobrepeso y obesidad, particularmente el Estado de Campeche supera la media nacional en sobrepeso y obesidad. Actualmente la población mexicana es el resultado de una mezcla de población europea, amerindia y africana, con proporciones 50%, 45% y 5%, respectivamente. Debido a la alta proporción de componente ancestral amerindio el estado de Campeche presenta características muy particulares, ya que es uno de los estados con mayor número de habitantes mayas. Debido a que existen diferentes criterios para la clasificación de SM en estudio se utilizaron los criterios establecidos por De Ferranti los cuales consideran en sus puntos de corte la edad, género y etapa púberal de infantes.

El objetivo fue evaluar la frecuencia de SM en niños mayas del estado de Campeche y su asociación con 7 polimorfismos: P12A de PPAR γ , T130I de HNF4 α , R230C de ABCA1, E23K de KCNJ11, I/D de ECA, rs1111875 de HHEX y la rs9939609 de FTO, que han sido reportados en adultos por estar asociados con el metabolismo de lípidos, glucosa, obesidad y con el aumento de la presión arterial.

Se evaluaron 508 niños de 9 a 13 años provenientes de 7 escuelas del estado de Campeche; 2 de población rural y 4 de población urbana, se realizaron determinaciones bioquímicas y mediciones antropométricas, la genotipificación se realizó por PCR en tiempo real, se realizaron pruebas estadísticas de



frecuencia, comparación de poblaciones utilizando t-student y un estudio univariante haciendo ajustes por edad, género e IMC cuando fue necesario. Se encontró una frecuencia de sobrepeso y obesidad de 53% en zona urbana y 29% en zona rural, la frecuencia de SM fue de 50% y de 41.3% en la población urbana y rural respectivamente. En los estudios genéticos se encontraron asociaciones de los polimorfismos fueron ABCA1 con glucosa ($p=0,005$) y FTO con PA y Triglicéridos elevados ($p=0.041$ y 0.08 respectivamente) en niños de la zona rural. En los niños de población urbana se observó la asociación de ABCA1 con HDL bajas ($p=0,035$), insulinas bajas con FTO y PPARG ($p=0,026$ y 0.018 respectivamente). A su vez, KCNJ11 con glucosa baja ($p=0,027$) y finalmente ECA con PA elevada ($p=0,012$) en población urbana. Este estudio revela una alta frecuencia de SM en niños del Estado de Campeche particularmente en población rural lo que sugiere que los polimorfismos estudiados están asociados con los principales componentes de SM en niños mayas.



2. Índice de Abreviaturas

ABCA1	Casete transportador de unión a ATP tipo A1
AGL	Ácidos Grasos Libres
CE	Colesterol Estearasa
CHOD	Enzima Colesterol Oxidasa
DAP	Dihidroxiacetona Fosfato
DM2	Diabetes Mellitus 2
DT2	Diabetes Tipo 2
ECA	Enzima Convertidora de Angiotensina
ECV	Enfermedades Cardiovasculares
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
G3P	Glicerol-3- Fosfato
GLUT2	Transportador de Glucosa 2
GOD	Enzima Glucosa Oxidasa
GWAS	Estudio de Asociación de todo el genoma
H1	Homocigoto Alelo 1
H2	Homocigoto Alelo 2



H3	Heterocigoto
HDL	Lipoproteínas de Alta Densidad
HNF4α	Factor Nuclear del Hepatocito 4 α
HTA	Hipertensión Arterial
I/D	Inserción/ Delección
IDF	Federación Internacional de Diabetes
IGT	Intolerancia a la Glucosa
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de Masa Corporal
K	Potasio
Kg	Kilogramos
LDL	Lipoproteínas de Baja Densidad
m²	Metros Cuadrados
Mg	Miligramos
Na	Sodio
NaCl	Cloruro de Sodio
NBD	Dominio de Unión a Nucleótido
NCEP-ATPIII	Programa de Educación para el Tratamiento del Adulto
Nm	Nanomolar
OMS	Organización Mundial de la Salud



PCR	Proteína C Reactiva
POD	Enzima Peroxidada
PPARγ	Receptor Activado por Proliferador de Peroxisoma gamma
RI	Resistencia a la Insulina
ROS	Especies Reactivas de Oxígeno
Rpm	Revoluciones por Minuto
RXR	Ácido Retinoico X
SM	Síndrome Metabólico
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido
TNF-α	Factor de Necrosis Tumoral alfa
VLDL	Lipoproteínas de Muy Baja Densidad



3. Antecedentes

En los últimos años ha aumentado la prevalencia de enfermedades metabólicas como la obesidad, diabetes, dislipidemia e hipertensión. La aparición de al menos tres de estas se reconoce como una sola entidad denominada SM.

3.1. Historia del SM

El SM fue descrito por primera vez por Kylin en 1923, definiéndolo como la asociación de hipertensión, hiperglucemia y gota. Veinte años después Vague señaló que lo que hoy se conoce como obesidad androide u obesidad masculina era la forma de obesidad que más se asociaba con las alteraciones metabólicas que aparecían en la diabetes. En los años 70's, el grupo alemán liderado por Hanefted, realizó los primeros estudios que relacionaban obesidad, diabetes y alteraciones metabólicas, sin embargo a partir de que Gerald Reaven en el año 1988 propusiera el término Síndrome X, éste alcanzó la notoriedad que tiene actualmente, donde postuló que la resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia compensatoria predisponía a los pacientes a presentar hipertensión, hiperlipidemias y diabetes, constituyendo una de las causas subyacentes de las enfermedades cardiovasculares (ECV). Otros autores también señalaron la importancia de esta asociación de factores de riesgo, Kaplan en 1989, lo denominó Cuarteto de la muerte, DeFronzo en 1991, acuñó el término de Síndrome de Resistencia a la Insulina. En 1998 la Organización Mundial de la Salud (OMS) introdujo el término síndrome metabólico como una entidad diagnóstica con criterios definidos. El Programa de Educación para el Tratamiento del Adulto (NCEP-ATPIII) usó este término en su informe de 2001, y se convirtió en la definición más utilizada. En el año 2005, la Federación Internacional de Diabetes (IDF) propuso nuevos criterios, similares a los del



ATPIII, pero considerando a la obesidad central como una condición necesaria para el diagnóstico del SM y sugiriendo la necesidad de identificar umbrales del perímetro de la cintura específicos para cada grupo étnico (en los europeos y descendientes 94 cm en el varón y 80 cm en la mujer).

3.2. Etiología

El incremento paralelo de la frecuencia de la obesidad y del SM es un fenómeno mundial y México no es la excepción. Aunado a esto, estas patologías son factores de riesgo importantes para el desarrollo de DT2, la enfermedad arterial coronaria y cerebrovascular por arteriosclerosis, que son las principales causas de muerte en nuestro país. El control de estas alteraciones metabólicas incide directamente en la morbi-mortalidad de muchos padecimientos; sin embargo, en la actualidad no existen estrategias de prevención, diagnóstico y tratamiento eficaces para la mayoría de los casos. Por estas razones, la obesidad y el síndrome metabólico se han convertido en un serio problema de salud pública en los países occidentalizados (Garcia y col). La causa del SM se desconoce. Su fisiopatología es compleja debido a que es una enfermedad multifactorial. Los factores más importantes son: edad, etnia, factores genéticos y estilo de vida, por ejemplo, poca actividad física y consumo excesivo de calorías, más de las que se gastan diariamente. Se ha observado que el SM es más común entre hispanos, México-Americanos y mujeres afro-descendientes. (Ford y col)

3.3. Patología

El principal detonante de este conglomerado de factores aterogénicos, protrombóticos, proinflamatorios y metabólicos es la obesidad. (Després y col) La obesidad tiene un fuerte componente genético, que interactúa con la exposición ambiental. (Trichopoulou y col). En nuestro país, la prevalencia de sobrepeso y obesidad en los adultos se incrementó de 62 a 70 % en tan solo cinco años. En el último siglo, los mexicanos aumentamos la densidad



energética de nuestra dieta en casi 24 % (26 % más hidratos de carbono y 36 % más grasas) y hemos reducido el tiempo que destinamos a la actividad física. (Ortiz y col) La consecuencia de este cambio en el balance de energía es la acumulación de grasa corporal, a la que llamamos obesidad. En México se atribuyen más de 50 mil muertes al año a la obesidad. La obesidad es un problema complejo, pues, el índice de masa corporal “ideal” depende del grupo étnico y otras variables. (Simoons y col)

3.4. Definición y componentes de Síndrome Metabólico

El SM es una entidad clínica controvertida que aparece con amplias variaciones fenotípicas, en personas con una predisposición endógena, determinada genéticamente y condicionada por factores ambientales (Duvnjak y col). El SM pediátrico es un problema global de salud, el cual no ha sido bien caracterizado en términos de criterios, prevalencia o implicaciones clínicas en niños y adolescentes mejor cita a la IDF. Los factores ambientales, las interacciones gen-gen y las interacciones genes-ambiente deben ser considerados en este contexto (Kelisahdi y col).

En la literatura se han encontrado diferentes definiciones para la identificación de niños y adolescentes con SM, los cuales tienen un riesgo aumentado de desarrollar DT2 y ECV (Balas y col). En la Tabla 1 se muestran los diversos criterios para definir SM en la infancia.



Tabla 1. Criterios para definir SM en la infancia				
Cook et al.	Ferranti et al.	Cruz et al.	Weiss et al.	Ford et al.
GB > 110 mg/dL	GB > 110 mg/dL	ATG (Criterios ADA)	ATG (Criterios ADA)	GB > 100 mg/dL
Cintura ≥ p90	Cintura ≥ p75	Cintura ≥ p90	IMC-Zcore ≥ 2.0	Cintura ≥ p90
TG ≥ 110 mg/dL	TG ≥ 100 mg/dL	TG ≥ 90 mg/dL	TG ≥ 95 mg/dL	TG ≥ 110 mg/dL
cHDL ≤ 40 mg/dL	cHDL < 50 mg/dL	cHDL ≤ p10	cHDL ≤ p5	cHDL ≤ 40 mg/dL
PA ≥ p90	PA > p90	PA > p90	PA > p95	PA > p90
GB: glucosa basal; ATG: alteración de la tolerancia a la glucosa, TG: triglicéridos, PA: presión arterial; IMC: índice de masa corporal.				

Los componentes mayores del SM comprenden diversas anomalías del metabolismo de las lipoproteínas, la hipertensión arterial, la hiperglucemia y la obesidad abdominal, describiéndose a continuación con más detalle:

3.4.1. Obesidad

La obesidad es uno de los parámetros que muestra mayores diferencias en cuanto a su definición, definiéndose como un trastorno metabólico crónico caracterizado por una excesiva acumulación de energía en forma de grasa en el organismo, que conlleva a un aumento de peso corporal (World Health Organization).



La identificación del contenido graso y en especial de su distribución, es una información importante para determinar el estado de salud no sólo en el adulto sino también en edad pediátrica y juvenil (Romero-Collazos y col). El sobrepeso y la obesidad son condiciones desfavorables para la salud producidos por pequeño pero persistente aumento del balance positivo de energía que genera un exceso de grasa corporal (Martínez y col.).

En niños, la presencia de cambios significativos en los patrones de crecimiento, tales como la tendencia a ubicarse en percentiles más altos de peso para la edad, el aumento de la velocidad de peso y de los valores del índice de masa corporal, constituyen una señal de alerta que debe motivar al pediatra a una intervención, antes que un niño o adolescente presente una obesidad severa. Resultados de estudios longitudinales sugieren que los varones y las niñas con maduración temprana, tienen mayor adiposidad que la encontrada en los niños con una maduración promedio y tardía de la misma edad; estos hallazgos sugieren que la maduración temprana constituye un riesgo biológico para sobrepeso y obesidad en la edad adulta; nunca debe asumirse que la obesidad se resolverá espontáneamente. (Kwiterovich y col). Un niño o adolescente con sobrepeso es probable que se convierta en un adulto obeso a menos que se realice una intervención activa. El 40% de los niños y niñas de 7 años y alrededor del 70 % de los adolescentes con obesidad mantiene la condición en la adultez. La obesidad durante la adolescencia es un importante predictor para la obesidad del adulto. La morbi-mortalidad en la población adulta es mayor en aquellos adultos que fueron obesos durante la adolescencia, aun cuando tengan un peso normal en la edad adulta. Nader y col. en 2006, demostraron que los niños obesos en la edad preescolar tenían 5 veces más probabilidades de presentar sobrepeso en la adolescencia (Morrison y col). En el año 2000, Savva y colaboradores señalaron, que la circunferencia de cintura era mejor predictor de los factores de riesgo cardiovascular que el IMC. Maffeis y colaboradores encontraron en el año 2001 correlaciones significativas de la circunferencia de cintura, el pliegue tricípital, y el pliegue subescapular, con el HDI-colesterol, la relación colesterol total/HDI-



colesterol y con la presión arterial en una muestra de niños y niñas entre 3 y 11 años (De Fronzo y col). Por el contrario, Sangi en 1991 reportó que en niños y adolescentes en etapas tempranas de la pubertad los factores de riesgo estuvieron relacionados con el exceso de grasa total independiente de la distribución de la misma y la obesidad central determinada mediante relación entre pliegues subcutáneos del tronco y extremidades y la relación entre las circunferencias de cintura y de muslo se asoció a un mayor riesgo de enfermedades crónicas no transmisibles al final de la pubertad (Burrows y col). La tendencia fisiológica es el almacenamiento de triglicéridos en adipocitos pequeños periféricos, pero cuando la capacidad de estas células se sobrepasa, se acumulan en el músculo y causan RI en dichos tejidos. El aumento del tejido adiposo intra-abdominal o visceral provoca un aumento del flujo de ácidos grasos libres (AGL) hacia la circulación esplácnica mientras que los derivados del tejido subcutáneo evitan el paso hepático y sus consecuencias son aumento de la producción de glucosa, síntesis de lípidos y secreción de proteínas pro-trombóticas. (Maffeis y col)

3.4.2. Resistencia a la insulina / Intolerancia a la glucosa

La acción de la insulina y su secreción están fisiológicamente interconectadas, por lo que un defecto inicial en cualquiera de los dos conduce a un déficit en el metabolismo de la glucosa. La secreción de insulina y la sensibilidad son las principales características de la intolerancia a la glucosa (IGT). La insulina en ayunas se ha encontrado que se correlaciona estrechamente con la sensibilidad a la insulina, La gran mayoría de los sujetos con IGT muestra hiperinsulinemia en ayunas y disminución de la secreción precoz de insulina. La resistencia a la insulina (RI) se define como la disminución de la capacidad de la insulina para ejercer sus acciones biológicas en tejidos diana típicos, como el músculo esquelético, el hígado o el tejido adiposo. Esta definición está ampliamente demostrada en lo referente al transporte transcelular, a la vías metabólicas de la glucosa y al metabolismo de lípidos. Es posible que el



concepto de resistencia a la insulina pueda extenderse a las demás acciones (precozes o tardías) de esta hormona, como la captación y transporte transcelular de aminoácidos, la síntesis de proteínas, la regulación de la función endotelial, la estimulación del crecimiento y la proliferación celular o la expresión de numerosos genes reguladores de estas diferentes funciones (Trabajo Resistencia a la Insulina de la Sociedad Española de Diabetes”, 2002). La resistencia a la insulina y su subrogada hiperinsulinemia compensadora se han vinculado al mayor riesgo de aterogénesis y enfermedad macrovascular en el SM pero no existe unanimidad sobre su papel patogénico o como simple “marcador de riesgo” (Ferrara y col; Deprés y col; Haffner y col; Ginsberg y col).

Hoy en día se considera que la RI crónica o mantenida es el rasgo común de numerosas enfermedades metabólicas y no metabólicas, como la diabetes mellitus (DM) tipo 2, la obesidad, la hipertensión arterial (HTA), las dislipemias o la enfermedad cardiovascular (Ferrannini y col).

En los estadios iniciales, la tolerancia a la glucosa es normal a pesar de la RI por la función compensadora de las células beta. Según progresa la RI y la hiperinsulinemia compensadora, los islotes se tornan incapaces de sostener el estado de hiperinsulinemia lo que conduce a la intolerancia a la glucosa con elevación de la glucosa postprandial y posterior declinación en la secreción de la insulina con aumento en la producción hepática de glucosa y diabetes; paralelamente, la RI conduce a disminución en la utilización de glucosa por los tejidos sensibles a la insulina (hiperglucemia postprandial) y al aumento en la producción hepática de glucosa (hiperglucemia en ayunas). (Mathai y col)

3.4.3. Dislipidemia

Se caracteriza por una elevación de la concentración sérica de triglicéridos y por una disminución de la concentración sérica de colesterol-HDL. Un estudio más detallado revela un incremento en las lipoproteínas remanentes, un incremento de las partículas LDL pequeñas y densas, de las partículas HDL



pequeñas. También aparece una elevación de la Apo B y una disminución de la Apo AI. Todas estas alteraciones promueven el desarrollo de aterosclerosis (Elizondo y col)

En el SM la dislipidemia aterogénica, se explica por un aumento de la síntesis hepática de triglicéridos (por la mayor disponibilidad de Ácidos Grasos Libres (AGL) e hiperinsulinemia), mayor secreción de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y mayor catabolismo de las HDL con aumento de la excreción renal de apoA1. Por una mayor actividad de la enzima intravascular Cholesteryl Ester Transfer Protein (CETP), las VLDL reciben colesterol esterificado desde las LDL y desde las HDL, transfiriéndoles, a su vez, triglicéridos. Las HDL y las LDL ricas en triglicéridos son sustrato de la lipasa intravascular hepática aumentando el catabolismo de las HDL, mientras las LDL se transforman en partículas más pequeñas y densas. Estas LDL pequeñas y densas son más aterogénicas porque son más susceptibles a la oxidación, siendo especialmente captadas por los receptores SR-A1 de los macrófagos del espacio subendotelial, generando una respuesta inflamatoria a medida que se transforman en células espumosas cargadas de colesterol. Además, la resistencia a la insulina reduce la actividad de la lipasa lipoproteica intravascular, reduciendo la remoción de IDL y remanentes de quilomicrones, que también son lipoproteínas aterogénicas. Un estado pro-inflamatorio y pro-trombótico que explicarían el incremento en el riesgo cardiovascular. Un elemento importante sería el aumento del estrés oxidativo por mayor producción de especies reactivas de oxígeno debido a la mayor oferta de AGL y de glucosa (cuando hay hiperglicemia), directamente o a través de la activación de factores de transcripción (Protein Kinasa C, MAP kinasas). La mayor actividad del factor nuclear NFkB (por disminución de su inhibidor) produce una mayor expresión de decenas de genes pro-inflamatorios. Como consecuencia de ello, se producen múltiples cambios, como alteraciones del tono y flujo vascular, aumento de moléculas de adhesión (VCAM-1, ICAM-1), mayor permeabilidad vascular (aumento de VEGF), menor fibrinólisis (aumento del PAI-1), mayor reclutamiento de monocitos (aumento de MCP-1), aumento



de citoquinas (IL-6, TNFa) y proteína C reactiva (PCR). (Figura 1) (Del Rio-Navarro y col)

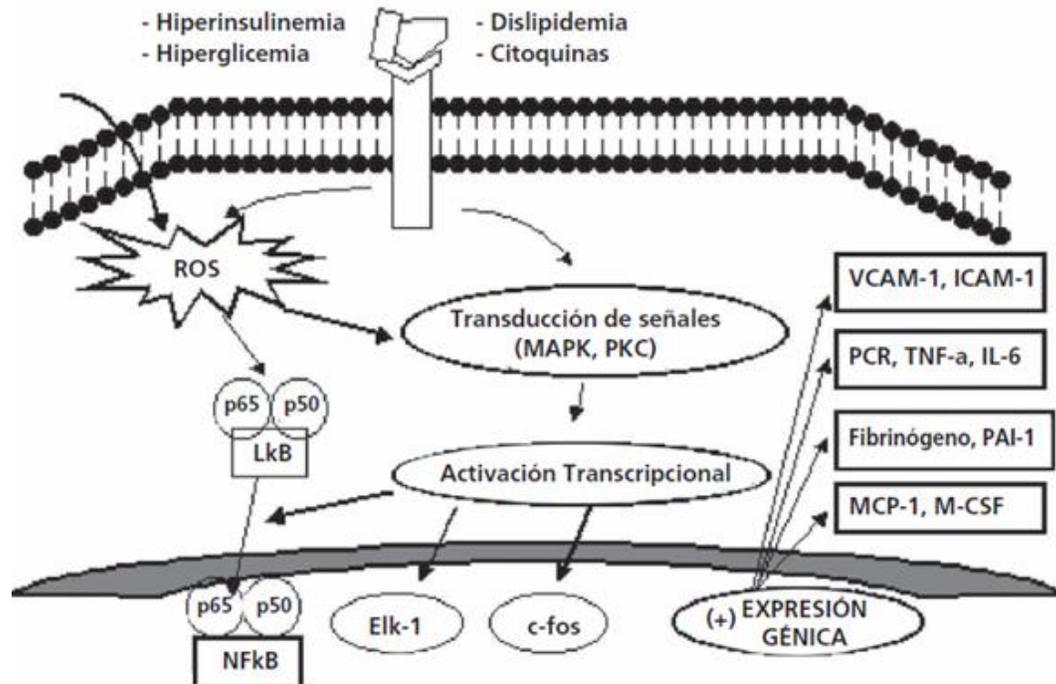


Figura 1. Algunos efectos moleculares pro-inflamatorios, pro-proliferativos y pro-trombótico del síndrome metabólico.

3.4.4. Elevación de la Presión Arterial

La elevación de la presión sanguínea se asocia con la obesidad y con la intolerancia a la glucosa, frecuentemente en personas con resistencia a la insulina, debido a que la insulina tiene efectos presores a través de una estimulación del Sistema Nervioso Simpático y la facilitación de la absorción renal de sodio, provocando un incremento de la reabsorción en el túbulo contorneado proximal renal. (Aregullin y col). La insulina también activa el Sistema Nervioso Simpático por hiperreactividad del eje hipotálamo-hipofisiario-adrenal con un aumento del intercambio Na^+/H^+ y con un aumento de la reabsorción tubular de Na^+ , a su vez la insulina provoca una alteración



de los cationes intracelulares. Son numerosos los mecanismos de transporte iónico a través de la membrana que están regulados por la insulina: estimula la bomba Na^+/K^+ -ATPasa y también regula la bomba Ca^{++} -ATPasa. Si esta bomba es resistente a la acción de la insulina, aumenta el calcio intracelular y se desencadena hiperreactividad vascular e hipertensión arterial. En un sujeto sano los efectos presor y vasodilatador se compensan por lo que la infusión crónica de la insulina poco modifica la presión arterial. En estados fisiopatológicos como la obesidad, el equilibrio puede romperse al incrementarse la actividad simpática en respuesta a la hiperinsulinemia y disminución de la vasodilatación mediada por insulina. (Flores y col)

También se ha propuesto que la obesidad podría afectar la presión arterial a través de la Leptina, ya que está estimula la actividad del Sistema Nervioso Simpático y el Sistema Renina Angiotensina. (Pineda y col)

3.5. Prevalencia

El SM constituye un problema creciente de salud pública a nivel mundial. La prevalencia varía substancialmente entre grupos étnicos, estudios realizados en americanos indican que las mujeres México-americanas tienen la mayor prevalencia (Ford y col)

En México, no existe un dato de prevalencia de SM. Aguilar-Salinas realizó un estudio con un muestreo poblacional Mexicano y reportó una prevalencia 13.6% a 26.6% de acuerdo con el criterio empleado (OMS y NCEP). Por otra parte, datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición del 2006 (ENSANUT 2006) contamos con datos muy importantes sobre la prevalencia de los padecimientos que lo componen. La prevalencia en la población adulta (mayor de 20 años de edad) de diabetes es el 10.5%, un 30.8% en hipertensión, 14% dislipidemia y 30.8% en obesidad (Villalpando y col). Estos padecimientos no solo están presentes en los adultos, pues la prevalencia de sobrepeso y obesidad es alarmante en niños, siendo de 26% (niños de 5 a 11 años), la cual incremento considerablemente en los últimos años, en 1999 se había



contemplado un 18.6%. Los estados de Yucatán y Campeche (36.3% y 32.1%, respectivamente) se encuentran dentro de 9 estados con mayor prevalencia de obesidad y sobrepeso (prevalencia mayor de 30%). Este elevado porcentaje coloca a México como el país con mayor obesidad infantil seguido de EUA. La hipertensión infantil cada vez es más común y ha sido reconocida ampliamente como un problema de salud pública; la prevalencia notificada por varios autores va de 5.4-21.0% (Urrutia y col). Sorof y cols, reportan que niños hispanos de EUA presentan mayor frecuencia de hipertensión (25%). Estas entidades clínicas infantiles aumentan el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas en el adulto, como la DT2 o enfermedades cardiovasculares, las cuales son las principales causas de muerte en nuestro país.

3.6. Síndrome Metabólico: Genes y Ambiente

El SM es una entidad poligénica y multifactorial (Groop, 2000 y col). Los datos disponibles de estudios de familia y poblacionales, muestran que el SM está influenciado por un fuerte componente genético, con una gran variabilidad entre diferentes grupos étnicos. De hecho, se ha demostrado que el 45% de los familiares de primer grado de pacientes con diabetes tipo 2, incluso con niveles de glucosa normales, presentan RI (Beck-Nielsen y col, Groop 1996 y col). El impacto genético en la variación del índice de masa corporal es de entre un 40 y 70% con diferencias entre individuos y grupos étnicos. Esta situación es incluso más importante en la obesidad visceral (Bouchard y col; Desprès 1999 y col), una condición clave en la patogénesis del SM, en el que el 60% de la variación de los depósitos de grasa abdominal se debe probablemente a factores genéticos. Dicha sospecha está sostenida por los hallazgos de Groop y col. (1996) en familiares de pacientes con DT2. Todo este componente genético (Groop, 2000 y col.) está fuertemente modulado por factores ambientales relacionados con los hábitos/estilos de vida como el exceso en la ingesta calórica, baja actividad física, exceso de grasas saturadas, dieta con bajo contenido en fibra, excesivo consumo de alcohol y



tabaquismo. Se ha demostrado recientemente (Stephens y Humphries, 2003), que el efecto de la interacción entre factores genéticos y ambientales es mayor que el de estos dos componentes aisladamente. Sin embargo, no se dispone de evidencias científicas suficientes para definir nítidamente las características de la compleja interacción genes-ambiente. Ciertos estudios Mayer y col., han mostrado que los niveles circulantes de insulina están directamente asociados a la ingesta de grasa dietética e inversamente al grado de actividad física (Regensteiner y col; Mayer 1998 y col) y al consumo (moderado) de alcohol (Mayer 1998 y col). Por otra parte existen datos sólidos que muestran el efecto beneficioso del ejercicio físico en la prevención de la DT2 desde el estadio de intolerancia a la glucosa (Tuomilehto y col).

Parece ser que tras el SM existe un genotipo ahorrador. Según esta hipótesis de los genes ahorradores, (Neel y col) las personas que viven en un medio con un aporte alimentario inestable podrían incrementar al máximo su probabilidad de supervivencia si pudiesen potenciar el almacenamiento del excedente de energía, como por ejemplo la grasa abdominal. Cuando este genotipo almacenador de energía se expone a la abundancia de alimentos típica de las sociedades occidentalizadas, se convierte en perjudicial y origina la resistencia a la insulina y la diabetes tipo 2 (Groop 1998 y col). Este genotipo ahorrador emerge en diferentes grupos étnicos cuando se comparan sus estilos de vida (rural sobre urbano) (Zimmet y col; Ravussin y col; Mekeigue). Los indios Pima que viven Arizona (USA) siguen unos estilos de vida típicos de los países occidentalizados como una alta ingesta calórica, principalmente de grasas saturadas, alto consumo de alcohol y una baja actividad física, presentando una alta prevalencia de obesidad, DM 2 y RI. Por el contrario, en los indios Pima genéticamente idénticos, que viven en México y que han mantenido sus estilos de vida tradicionales del medio rural (alta actividad física, baja ingesta calórica con bajo contenido en grasas, dieta rica en fibra) la obesidad y otras alteraciones del SM son poco frecuentes. Aunque ambas poblaciones consumen un número similar de calorías por día, el Pima Mexicano todavía vive como sus antepasados. Ellos dedican 23 horas de trabajo físico cada



semana y se alimentan con una dieta tradicional muy baja en grasa. Ya el Pima del Arizona vive como la mayoría de los demás norteamericanos modernos, tienen una dieta que consiste en alrededor de 40% de grasas y practican actividad física sólo dos horas por semana. Observaciones similares se han descrito en poblaciones indígenas de las islas de Nauru y Mauricio del Océano Pacífico e Indico (Zimmet y col) así como en Mexicanos Americanos (Mekeigue) en las cuales se ha analizado la prevalencia de obesidad, DT2 y otras alteraciones del SM comparando estilos de vida en el medio rural y en el medio urbano.

Por todo esto, parece que las bases de la emergencia del SM en cada individuo y en poblaciones particulares están en las complejas interacciones genes-factores ambientales (estilos de vida).

3.7. Polimorfismos genéticos

El término polimorfismo se refiere a la presencia de dos o más formas de un gen en una población, con una frecuencia igual o superior al 1 % (Nelson y col). Un polimorfismo puede determinar o no diferencias fenotípicas, además de constituir en ocasiones marcadores moleculares de utilidad clínica. Los cambios en la secuencia de ADN pueden producirse en las regiones codificantes (exones) o no codificantes (intrones, regiones reguladoras, etc). (Blázquez Fernández)

3.8. Genética del Síndrome Metabólico

La influencia genética sobre el SM ha sido documentada en estudios en gemelos, donde se observa una mayor concordancia de SM en gemelos monocigóticos comparados con gemelos dicigóticos (Poulsen y col). Con base en estos estudios se sabe que no solo los factores ambientales conducen a la aparición del SM, lo cual explica porque las personas sometidas a un alto contenido energético y no presentan el mismo fenotipo, por ejemplo obesidad. Los genes evaluados para el SM son aquellos que se han surgido de previos



estudios en las alteraciones metabólicas que lo constituyen. Se ha empleado diferentes estrategias para su identificación tales como los estudios de ligamiento o estudios casos-control, los cuales han revelado la participación de genes mediante polimorfismos de un solo nucleótido (SNP). Sin embargo, dichos estudios no han sido suficientes para explicar gran parte de la genética responsable de dichas alteraciones. Por ello, los investigadores han buscado nuevas estrategias que permitan detectar más SNP's como factores de riesgo para las alteraciones metabólicas. Los estudios de asociación de todo el genoma (GWAS) fue la última estrategia empleada para la identificación de nuevos SNP's para enfermedades complejas. Los GWAS consisten en el estudio de más 100,000 SNP's (Sladek y col). En el 2007 se publicaron los resultados de cuatro GWAS realizados en poblaciones diferentes: franceses, ingleses, finlandeses y norteamericanos. Pese al gran esfuerzo realizado solo se identificaron 10 genes asociados. (Pérez Rubio y col)

3.9. Estudio genético molecular del síndrome metabólico en población indígena

Actualmente, se han llevado a cabo varios estudios de variantes polimórficas asociadas a alteraciones metabólicas en distintas poblaciones del mundo. Sin embargo, es necesario evaluar a cada población de manera independiente debido a la diversidad genética que existe entre ellas. En este sentido, es importante realizar este tipo de estudios en mexicanos para determinar las variantes asociadas en esta población. Además, debe considerarse que la población mexicana mestiza está constituida, en promedio, por genes de origen indígena (70%), europeo (25%) y africano (5%) (Juárez- Cedillo y col). Debido a la elevada composición indígena, el estudio de genes asociados a las alteraciones del SM debe realizarse en indígenas mexicanos para conocer el posible origen de las enfermedades que padece el mexicano mestizo. Los indígenas poseen características idóneas para su evaluación ya que tienen una



genética más homogénea que la de los mestizos y no están expuestos a factores ambientales de la vida moderna.

La composición indígena de México es muy rica ya que existen 65 pueblos indígenas (CDI). Dentro de esta diversidad de grupos, se eligió a la población maya por ser uno de los principales grupos indígenas de México, herederos de la civilización más deslumbrante de la América precolombina, y ser el segundo grupo más numeroso con un millón y medio de individuos, después de los nahuas (Ruz Mario). Además, se localizan en Yucatán y Campeche, que son dos de los Estados con mayor prevalencia de obesidad en niños de 5 a 11 años de edad (ENSA 2006) e incluso, la Secretaría de Salud del Estado de Campeche ha anunciado en niños mayas una elevada prevalencia de SM, conformado por diabetes, hipertensión y obesidad. Por lo tanto, estos niños serán evaluados en el presente estudio.

Para la evaluación de los factores genéticos que participan en la susceptibilidad del SM en los niños mayas, se seleccionaron a los genes *PPARG*, *HNF4A*, *ABCA1*, *KCNJ11*, *ECA*, *HHEX* y *FTO* porque han sido replicados en varias poblaciones entre ellas destacan Americana, Europea, Asiática, Mexicana y están involucrados en el desarrollo y/o funcionamiento del páncreas e hígado, funcionamiento de adipocitos y regulación presión arterial. (Sanghera y col; Menjívar y col; Aguilar y col; Gerken y col; Hani y col; Hansen y col)

3.9.1. PPARG

PPAR es una proteína de aproximadamente 56 kD que pertenece a la superfamilia de los receptores nucleares. Esta familia de receptores nucleares media los efectos, a nivel del control de la expresión génica, de las hormonas esteroidales, de los glucocorticoides, de la tiroxina, del ácido retinoico y de la vitamina D. Se conocen 3 isoformas de PPAR, denominadas α , β (o δ) y γ , que son codificadas por genes individuales con alto grado de similitud.



Además, existen tres variantes transcripcionales derivadas del gen PPARG, denominadas g1, g2 y g3. (Yilmaz H y col).

El primer sensor genético para las grasas fue identificado inicios del año 1990, el cual fue definido como receptor activado por el proliferador del peroxisoma α , estudios subsecuentes encontraron 2 isoformas adicionales relacionados con el receptor α . (Wenshu Luo y col).

El gen PPARG, localizado en el cromosoma 3p25, se extiende sobre 100kb con 9 exones que da lugar a 3 transcripciones de PPARG diferentes con el uso de promotor diferencial y empalme diferencial: PPAR gamma 1, 2 y 3, dos de las isoformas, PPAR γ 1 y PPAR γ 2, se diferencian en 28 aminoácidos en el extremo N-terminal de la proteína. Ambas isoformas se expresan principalmente en adipocitos y, en menor medida, en bazo, cerebro, hígado y músculo esquelético, entre otros (Gurnell y col). PPARG dimeriza con los receptores retinoides X (RXR) regulando la transcripción de genes relacionados con el metabolismo de glúcidos y lípidos en adipocitos. Además, la expresión de PPARG es necesaria para la maduración de los adipocitos y macrófagos residentes del tejido adiposo. Estudios de GWAs lo confirman como uno de los loci de susceptibilidad a DM2 en la mayoría de las poblaciones (Saxena y col; Zeggini y McCarthy).

PPARG puede tener un papel protector para el desarrollo de la DM ya que regula el metabolismo lipídico de macrófagos, controlando su respuesta inflamatoria, e inhibe la secreción de IL-2 por parte de linfocitos T citotóxicos, lo que impide la proliferación de los mismos (Raj y col). Por otra parte, PPARG reduce los niveles de expresión de NF- κ B, uno de los mediadores de la apoptosis en las células β , al evitar la degradación del factor I κ B, un inhibidor de NF- κ B, impidiendo el progreso de la apoptosis en estas células (Kim y col). La función de PPARG en la DT2 fue descubierta a partir del uso de las glitazonas como antidiabéticos orales, que actúan como ligandos de PPARG y ejercen un efecto beneficioso sobre la sensibilización a la insulina. PPARG no solo interviene en la diferenciación de los adipocitos, sino que también facilita el flujo



de ácidos grasos hacia el interior de los mismos. Además, activa la transcripción del transportador GLUT4, por lo que también facilita el transporte de glucosa al interior de estas células. La carencia de PPAR γ en ratones incrementa la acumulación de grasa en músculo e hígado, lo que perjudica la sensibilización de estos tejidos a la insulina y, por tanto, permite el desarrollo de la resistencia a insulina (Lehrke y Lazar). Además, PPAR γ incrementa la expresión de adiponectina a la vez que reduce los niveles de citoquinas inflamatorias, como IL-6 y TNF α (Trombetta y col). El polimorfismo Pro12Ala en el gen PPAR γ ha sido estudiado como una de las primeras variantes genéticas con amplio impacto en el riesgo de padecer diabetes tipo 2. Las mutaciones en PPAR γ descritas (F388L, R425C, V290M, P467L) conducen a alteraciones en el dominio de unión o a anomalías de la transactivación. (Yilmaz H y col)

3.9.2. HNF4A

El gen HNF4 α se localiza en el cromosoma 20, en la posición q12- q13.1 y se extiende a lo largo de 73871 pb. Presenta dos promotores alternativos, P1 y P2, separados entre sí por 46 kb. El promotor P1 es utilizado principalmente en las células hepáticas mientras que el promotor P2 representa el mayor sitio de inicio de la transcripción en el páncreas. El promotor P2, al igual que P1, contiene sitios de unión funcionales para los factores de transcripción HNF1 α , HNF1 β e IPF-1, todos ellos genes relacionados con la diabetes MODY (Ferrer, 2002). El gen tiene un total de 12 exones y presenta un procesamiento alternativo de los mismos. Hasta el momento hay descritas 9 isoformas. Las isoformas 4 α 7, 4 α 8 y 4 α 9 se expresan fundamentalmente en el páncreas, aunque también se encuentra expresión de las mismas en el hígado, mientras que las isoformas 4 α 1, 4 α 2 y 4 α 3 son específicas del hígado (Huang y col). Corresponde al factor nuclear de hepatocito (HNF4A), es miembro de la familia de retores nucleares, el cual regula la expresión de un gran número de genes en el hígado, páncreas, riñón, intestino y otros tejidos. (Menjívar y col). HNF4A actúa sobre más de 40 genes blanco, tales como el transportador de glucosa 2



(GLUT2), gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa, varias apolipoproteínas como Apo-A1, Apo E, etc. En el hígado HNF4A regula la gluconeogénesis, mientras que en el páncreas dirige la expresión y secreción de insulina. (Menjívar y col). Particularmente, la mutación T130I se ha asociado a la DT2 en finlandeses, daneses, judíos Ashkenazi, japoneses y mexicanos (Boj y col). Incluso se ha observado una mayor frecuencia de la T130I en indígenas mexicanos que en las poblaciones antes mencionadas, indicando que esta variante puede ser parte del fondo diabetogénico indígena. Además, estudios en HNF4-A con la variante T130I en cultivos primarios de hepatocitos de ratón y en la línea celular HepG2 muestran una disminución transcripcional de HNF4-A (78%). Sin embargo, este efecto no se observa en las líneas celulares Hela y MIN6 (Zhu y col). La primera mutación descrita en HNF4A relacionada con diabetes MODY fue una transición de citosina por timina que generaba un codón de stop en la posición 268 (Yamagata y col). Hasta el momento se han descrito 41 mutaciones, de las cuales 30 están relacionadas con diabetes MODY, la mayoría de tipo *missense*, algunas mutaciones, como los cambios p.D126H y p.D126Y, afectan al dominio de unión al DNA de HNF4 α , de manera que su capacidad de transactivación sobre HNF1 α o LPK (piruvato kinasa) se ven afectadas por estas mutaciones. Además, estas mutaciones también afectan a la expresión de las apolipoproteínas apoAII y apoCIII (Oxombre y col). Otras mutaciones como p.K99fsdelAA, también alteran la función de las células β ya que la secreción de insulina está marcadamente reducida frente a individuos control. Además, también presentan alteración del metabolismo lipídico ya que las concentraciones de triglicéridos y de apoCIII son significativamente más bajas comparados con sujetos no diabéticos (Lehto y col). *HNF4A* presenta gran variabilidad entre las poblaciones, siendo altamente polimórfico. A la fecha se han identificado 952 SNP's localizados tanto en las regiones codificantes como no codificantes del mismo. (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp?cmd=search&term=hnf4+a+homo+sapiens>)



3.9.3. ABCA1

Esta proteína pertenece a la familia de proteínas ABC (por sus siglas en inglés ATP-binding cassette), que utilizan ATP para generar la energía necesaria para transportar metabolitos a través de membranas. Está formada por 2 mitades con estructura similar (Fitzgerald y col). Cada mitad tiene un dominio transmembranal con seis hélices y un dominio de unión a nucleótidos, que contiene 2 regiones peptídicas Walker A y Walker B conservadas en muchas proteínas que utilizan ATP, además de una región Walker C que es propia de las proteínas ABC (Figura 2). Se predice que el extremo amino terminal de la proteína ABCA1 está orientado hacia el citosol y que existen 2 asas extracelulares grandes, altamente glicosiladas, unidas entre sí por uno o más enlaces entre residuos de cisteína (Bungert y col; Dean y col 2001). En la célula, la proteína ABCA1 se encuentra predominantemente en forma de homodímeros ensamblados en el retículo endoplásmico, en los que los extremos C-terminales se encuentran muy próximos (Trompier y col). Estas estructuras diméricas pueden transformarse a estructuras de mayor orden como tetrámeros durante el ciclo catalítico de ATP de la proteína. Se ha sugerido que los tetrámeros de ABCA1 son la estructura funcional mínima requerida para la lipídación de partículas de apoA-I (Denis y col).

El gen ABCA1 tiene 147,153 pares de bases y 50 exones. Codifica para una proteína de membrana dependiente de ATP de 2261 aminoácidos, cuya función es transportar principalmente colesterol y fosfolípidos a través de membranas. El gen ABCA1 se localiza en el cromosoma 9 (9q31). Actualmente se conoce la existencia de unas 100 mutaciones en este transportador, de las que solo algunas se pueden considerar polimorfismos (aparecen en más del 1% de la población). Se ha descrito la existencia de 19 SNP's, cinco en la región promotora, cuatro variantes en 5' UTR y los diez restantes son cSNPs. (Wang y col)

El eflujo de colesterol dependiente de ABCA1 se da hacia apolipoproteínas con bajo o nulo contenido lipídico. En cambio, las apolipoproteínas con mayor



contenido lipídico (como las partículas maduras de HDL) promueven el eflujo de colesterol por otros mecanismos, incluyendo la difusión pasiva, la interacción con SR-B1 y la actividad de otros transportadores como ABCG1 y ABCG4 (Oram y Heinecke).

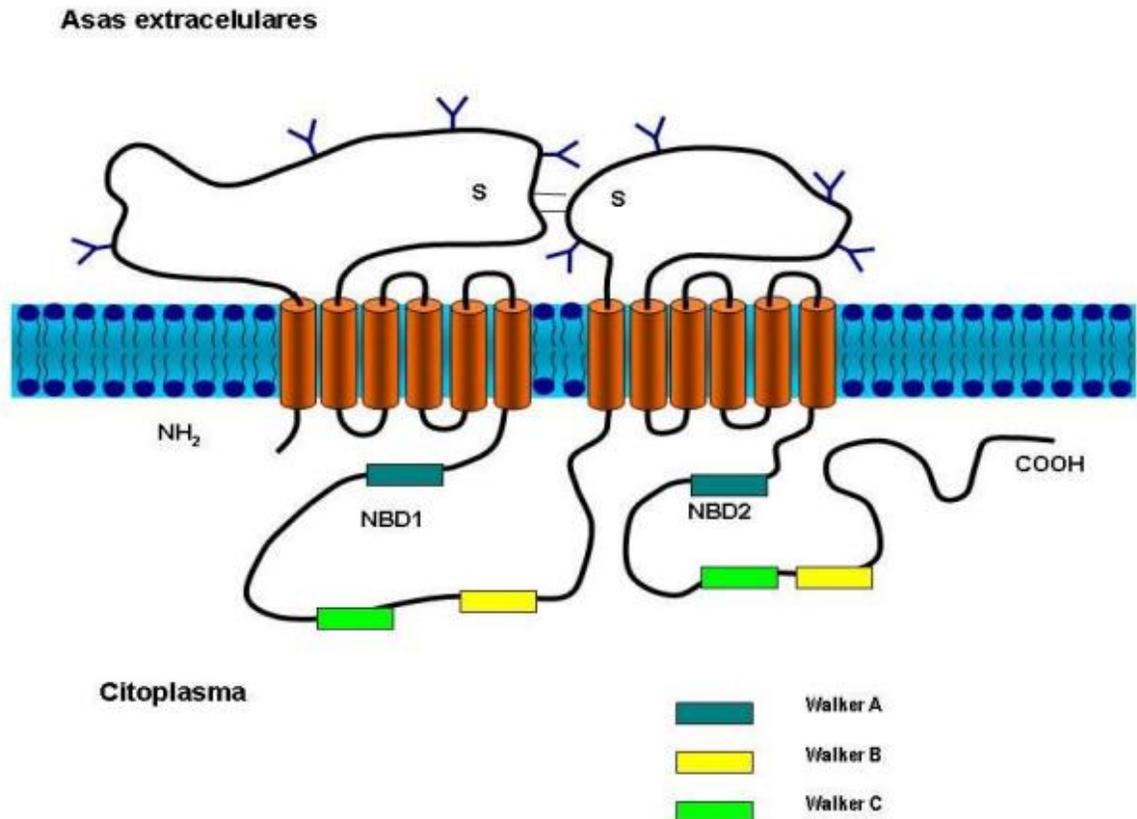


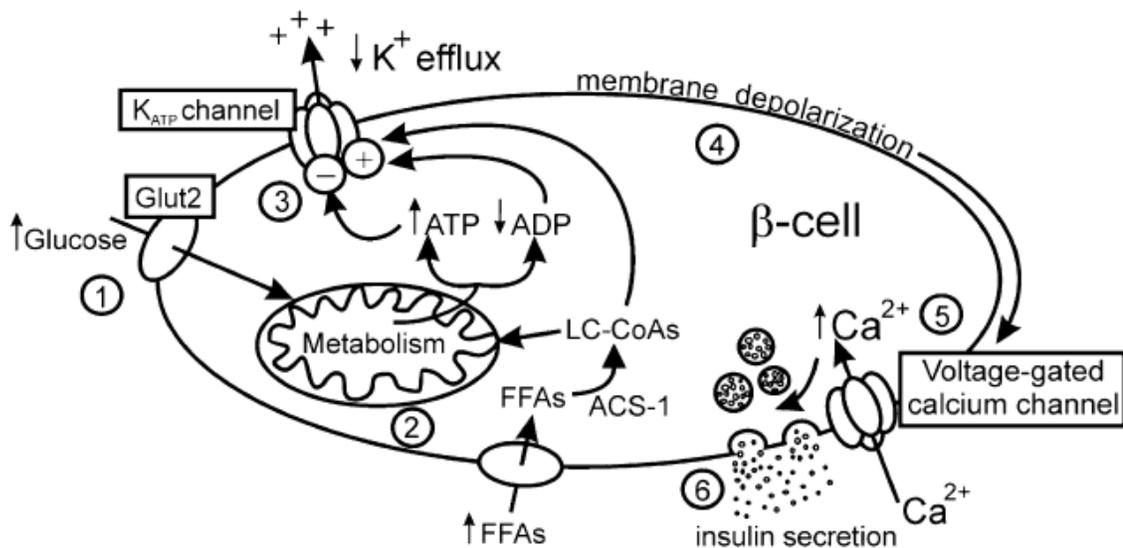
Figura 2. Estructura del ABCA1.

3.9.4. KCNJ11

El gen KCNJ11 que codifica para el canal KIR6.2, subunidad del canal de potasio sensible a ATP. fue identificado por Inagaki y colaboradores en 1995, este gen KCNJ11 consiste de un solo exón que codifica para una proteína de 390 aminoácidos (Meissner y col). KCNJ11 se encuentra en la posición 15.1 del brazo corto del cromosoma 11. (Inagaki y col) Se expresa en músculo cardiaco, célula beta pancreática, pituitaria, músculo esquelético, cerebro y



músculo liso vascular y no vascular. KIR6.2 participa en la secreción y contracción muscular mediante el potencial de membrana acoplado al metabolismo (Inagak y col). En la célula beta del páncreas, el canal de potasio dependiente de ATP juega un papel importante en la regulación de la secreción de insulina estimulada por glucosa. Diversas mutaciones en el KCNJ11 se asocian a diabetes neonatal (Hani y col). El polimorfismo más importante de KCNJ11 es la variante E23K (rs5219), fue encontrada por primera vez en familias francesa, la cual ha sido replicada en otras poblaciones caucásicas (Riedel y col). La variante E23K conduce a una menor sensibilidad del ATP en el canal de potasio dependiente de ATP, alterando la regulación de la homeostasis de la glucosa (Hansen y col). La variante alélica 23K afecta *in vitro* las propiedades del canal de K dependiente de ATP, induciendo una hiperactividad espontanea de la células β pancreáticas, a través del incremento de las concentraciones de ATP para la secreción de insulina. (Pearson ER).



La glucosa circulante es regulada primariamente por la insulina secretada por la célula β pancreática. En condiciones de reposo la membrana de la célula β se mantiene hiperpolarizada debido a la bomba Na⁺-K⁺ ATPasa de los canales de potasio (K⁺) ATPsensibles. Estos canales están formados por dos subunidades SUR-1 y KIR 6.2. Cuando los niveles de glucosa aumentan, ésta ingresa a la célula a través del transportador específico GLUT-2, la glucosa es



fosforilada por la enzima glucocinasa, aumentando los niveles de ATP. Los niveles de ATP pueden verse incrementados por el metabolismo de otros sustratos, como los aminoácidos entre ellos el glutamato, vía glutamato deshidrogenasa (GDH). El aumento de ATP causa el cierre en los canales K-ATP, lo que produce despolarización de la membrana celular y apertura de canales de calcio dependientes de voltaje y por tanto un aumento en la concentración de calcio intracelular, lo que estimula la secreción de insulina. (Riedel y col)

Se ha demostrado que los pacientes diabéticos tratados con sulfonilureas portadores de la variante 23K, prolongan el cierre del canal de potasio dependiente de ATP y la secreción de insulina provocando la disminución de los niveles de glucosa en sangre y HbA1C. (Monolopoulos y col). Hasta ahora, los resultados de varios estudios indican que la eficacia de las sulfonilureas en los pacientes con DT2 se ve afectada por el polimorfismo E23K de *KCNJ11*. (Holstein y col)

La subunidad Kir6.2 está compuesta por 2 dominios transmembrana unidos por un bucle extracelular que, parcialmente, se introducen la membrana para constituir el punto de unión al K^+ , y dos dominios intracelulares. En 2004 se describieron las primeras mutaciones activadoras en heterocigosis del gen *KCNJ11* como causa de diabetes. Las mutaciones generan una disminución de la sensibilidad del canal al ATP o una distorsión espacial del mismo, que impide su cierre provocando una secreción de insulina disminuida, hecho que causa una diabetes diagnosticada en general en los primeros meses de la vida (Gloyn y col, 2004). Desde el año 2004 se han descrito más de 100 mutaciones que afectan a *KCNJ11*, todas ellas *missense*. Con el avance de los estudios funcionales, en la mayor parte de los casos, se encuentra una buena correlación entre el tipo de mutación, la repercusión funcional del canal y el fenotipo clínico. (Gloyn y col, 2005).



3.9.5. ECA

La enzima convertidora de la angiotensina I (ECA), separa el dipéptido Histidina Leucina del terminal carboxilo de la angiotensina I formando angiotensina II. Se trata de una dipeptidil carboxipeptidasa inespecífica capaz de separar dipéptidos de muchos sustratos sintéticos o naturales, entre los que se incluye la bradiquinina (también denominada kininasa II), al actuar sobre cualquier grupo carboxílico ácido libre en el C terminal de un polipéptido y en ausencia de prolina en penúltima posición. Esta glucoproteína tiene un peso molecular entre 135.000 y 150.000, con un contenido en carbohidratos de aproximadamente el 25 por 100, es un ectoenzima fijada a la membrana celular a través de un único dominio localizado cerca del extremo carboxi terminal en su forma somática (Costerousse y col), encontrada en tejidos endoteliales, epiteliales y neuronales y que tiene otra isoenzima, la forma menor en tejidos germinales. Ambas formas tienen similares actividades enzimáticas aunque difieren en el tamaño y propiedades inmunológicas. La forma somática tiene dos dominios (carboxi y amino) mientras que la forma germinal solo posee uno (Corvol P y col), con dos sitios activos enzimáticos que incluye entre sus grupos funcionales arginina, lisina, tirosina, ácido glutámico y zinc, siendo necesario un átomo de este último, como cofactor, por cada una de las moléculas, para que tenga lugar la actividad enzimática. La expresión de moléculas mutadas del enzima convertidor de la angiotensina con solo uno de los dominios intactos, indica que ambos son enzimáticamente activos, aunque no son idénticos (Costerousse y col).

El gen de la ECA, el cual se localiza en la región q22 del cromosoma 17, es una dipeptidil carboxipeptidasa, este gen presenta diversos polimorfismos, uno de los mejor estudiados es el denominado inserción/delección (I/D), el cual consiste en la presencia ó ausencia de 287 pares de bases en el intrón 16 del gen que codifica para esta enzima (Avila y col). El papel central de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) se encuentra en la conversión de Angiotensina I a Angiotensina II y la degradación de bradiquinina. (Gang y



col).

El gen de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) se expande a lo largo de 21 kb, (26 exones y 25 intrones), se ubica en la región cromosómica 17q23, y pertenece al sistema renina-angiotensina (SRA) junto con los genes de la renina, del angiotensinógeno (AGT), y de los receptores de tipo I y II de la angiotensina II (AGTR1 y AGTR2). La principal función de este sistema es la conversión del angiotensinógeno en angiotensina II por parte de las enzimas renina y ECA. (Hubert y col) El gen de la ECA, el cual se localiza en la región q22 del cromosoma 17, es una dipeptidil carboxipeptidasa, este gen presenta diversos polimorfismos, uno de los mejor estudiados es el denominado inserción/delección (I/D), el cual consiste en la presencia ó ausencia de 287 pares de bases en el intrón 16 del gen que codifica para esta enzima (Avila y col). El papel central de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) se encuentra en la conversión de Angiotensina I a Angiotensina II y la degradación de bradiquinina. (Gang y col).

Rigat B. y col., identificaron el polimorfismo del gen ECA, el cual no tiene efecto sobre la actividad transcripcional del gen o de la estructura proteica. Su presencia define el alelo I y su ausencia la define el alelo D. De tal manera que aquellos homocigotos para la inserción se designan II y para la delección, DD, el heterocigoto para ambas mutaciones se designa como ID.

El gen ECA se expresa en altas concentraciones en el intestino delgado, testículo, vasos sanguíneos del pulmón y próstata (Harmer y col). La presencia del alelo D parece estar asociado con un aumento de la activación de la enzima convertidora de angiotensina en relación con el alelo I, en consecuencia, hay una mayor producción de Angiotensina II, que es un factor de riesgo para infarto al miocardio y accidente cerebrovascular. (Vilela y col). Algunos estudios recientes demostraron la asociación del alelo D con un riesgo incrementado de presión arterial y obesidad (Mehri y col), diabetes y perfiles de lípidos (Demirel y col). En sujetos México-americanos se observó la asociación con ECA /ID y presión sanguínea sistólica (Thameen y col).



3.9.6. HHEX

El gen HHEX se localiza en el cromosoma 10q24, contiene 4 exones y se extiende alrededor de 5.7kb, codifica 270 aminoácidos. Se expresa en linfocitos B, pero no en los linfocitos T. (J.A.L. y col) HHEX es un factor de transcripción que actúa como un activador y represor necesario para el desarrollo del páncreas e hígado, uno de sus objetivos es la vía de señalización Wnt/ β -catenina, una vía fundamental para el crecimiento y desarrollo celular. (Wang y col).

El papel de HHEX es esencial en el desarrollo de páncreas, por lo que tiene un posible rol en la susceptibilidad al desarrollo de DT2, se han reportado ocho polimorfismos para este gen de los cuales sólo tres han sido los más replicados (rs111875, rs5015480 y rs7923837) y asociados al desarrollo de DT2, donde el polimorfismo rs111875 ha sido asociado con la susceptibilidad al desarrollo de DT2 por su efecto sobre la función de las células β . (Xiaobo Li y col)

Mutaciones en los genes Homeobox causan dramáticos defectos en el desarrollo, debido a que los genes de homeobox juegan un papel muy importante en la especificidad y posicionamiento celular durante el desarrollo embrionario. (Xiao-Peng y col)

3.9.7. FTO

El gen FTO, que se encuentra en el cromosoma 16q12.2 y tiene nueve exones, que abarca más de 400kb, está fuertemente conservado a través de diversas especies de vertebrados (por ejemplo, pescado y pollo), surgió hace 450 millones años. FTO se expresa principalmente en el hipotálamo y codifica una desmetilasa de ácido nucleico 2-oxoglutarato-dependiente. (Timothy y col) Puede desempeñar un papel importante en la gestión de la homeostasis energética, desmetilación de ácidos nucleicos, y la regulación de la grasa masas corporales por la lipólisis. Su acción se ha relacionado con diversos procesos bioquímicos y fisiológicos, entre los que destacan la reparación del



DNA, la homeostasis de la temperatura y la regulación del almacenamiento de lípidos y del tejido adiposo. (M Sallman y col) A la fecha se han reportado diversos polimorfismos en el gen, en los cuales se presentan cambios génicos en varios intrones. Al respecto, se ha señalado que por lo menos 20 polimorfismos están asociados con algún aspecto de la obesidad, aunque también con la susceptibilidad a la diabetes tipo 2 y con el síndrome metabólico. (Timothy y col) Se ha sugerido que dichos cambios podrían influir en los mecanismos de ingesta y saciedad y que su alteración repercutiría en el aumento de tejido adiposo y masa corporal. (Dea y col) Recientemente se han descubierto mutaciones en el gen FTO, por ejemplo, el cambio de una guanina por una adenina, los cuales siguen un patrón de herencia autosómico recesivo, sin embargo, en estos casos las modificaciones fenotípicas son más amplias e incluyen diversas malformaciones congénitas, retraso en el crecimiento físico y psicomotor, así como una alta susceptibilidad para adquirir infecciones. (Sihua y col)

Un de estas variantes genéticas (rs9939609), situado dentro del primer intrón de FTO, se ha relacionado con un mayor riesgo para obesidad y DT2. (Corella y col).



4. Justificación

La prevalencia de obesidad infantil está creciendo de forma alarmante en los países desarrollados, y ha alcanzado también a los países en vías de desarrollo, los niños obesos presentan mayor riesgo de presentar obesidad en la edad adulta y mayor susceptibilidad para el desarrollo de DT2, ECV y algunos tipos de cáncer. Así, alrededor del 90% de la DT2 es atribuible al exceso de peso y se estima que aproximadamente 197 millones de personas en el mundo tienen intolerancia a la glucosa y SM, y se espera que esta cifra aumente hasta 420 millones en el año 2025. Este proyecto aportará información muy valiosa en el área de la salud pública, particularmente en la caracterización bioquímica y molecular del SM en niños mayas del Estado de Campeche. Dicha información servirá de apoyo a la Secretaría de Salud de ese Estado para implementar medidas preventivas y un manejo terapéutico de este grave problema, ya que la falta de atención conducirá a un mayor número de adultos enfermos principalmente de DT2 y ECV, que son las primeras causas de muerte en nuestro país.

De manera puntual este proyecto pretende determinar si existen variantes genéticas asociadas al SM en la población Maya del Estado de Campeche y evaluar de qué manera este fondo genético indígena pudiera contribuir a la aparición del SM en el mestizo Mexicano.



5. Hipótesis

Los polimorfismos seleccionados de los genes PPAR γ , HNF4 α , ABCA1, KCNJ11, ECA, HHEX y FTO se encontrarán asociados a SM en niños mayas del Estado de Campeche.



6. Objetivos

6.1. General

Determinar si los polimorfismos seleccionados de los genes PPAR γ , HNF4 α , ABCA1, KCNJ11, ECA, HHEX y FTO se encuentran asociados a las alteraciones metabólicas que componen al SM en niños mayas del Estado de Campeche.

6.2. Específicos

- ♣ Determinar la prevalencia de SM en niños Mayas del estado de Campeche.
- ♣ Determinar la presencia y/o frecuencia de los polimorfismos de los genes PPAR γ , HNF4 α , ABCA1, KCNJ11, ECA, HHEX y FTO en los niños con síndrome metabólico comparado con niños sanos.
- ♣ Correlacionar los polimorfismos seleccionados con los parámetros bioquímicos y antropométricos.



7. Materiales y métodos

7.1. Participantes del estudio

Los participantes del estudio son niños de 9 a 13 años de edad inscritos en 4º, 5º ó 6º grado de primaria, residentes del estado de Campeche, considerando como zona rural a los habitantes de los pueblos de Pomuch, Hecelchakan y Ukum, los niños de zona urbana son los habitantes de la Capital del estado de Campeche, todos ellos cumplen con los criterios de inclusión. El SM como se menciona anteriormente será estratificado en base a los criterios de Ferranti y sus puntos de corte son los siguientes:

- Glucosa en ayuno $\geq 100\text{mg/dL}$
- Circunferencia de la cintura > 75 percentil
- Presión arterial > 90 percentil
- Triglicéridos $> 100\text{mg/dL}$
- HDL-c $< 50\text{mg/dL}$

7.1.1. Criterios de inclusión

- Niños de cuarto a sexto año de primaria (9-13 años), residentes del estado de Campeche.
- Que alguno de sus familiares directos hablen Maya.
- Tener mínimo 10 hrs de ayuno.
- Sin restricción de género.
- Contar con el consentimiento firmado por sus padres.



7.1.2. Criterios de exclusión

- Tener más de 13 años de edad.
- Estar bajo algún tratamiento para control de glucosa, colesterol o triglicéridos.
- No contar con el consentimiento informado firmado por sus padres.
- Enfermedades metabólicas asociadas.

7.2. Tamaño de la muestra

Se empleó la siguiente fórmula para el cálculo del tamaño de la muestra:

$$n = \frac{z^2 pq}{B^2}$$

Donde:

n= Tamaño de la muestra,

z= 1,96 para el 95% de confianza, 2,56 para el 99%

p= Frecuencia esperada del factor a estudiar

q= 1- p

B= Precisión o error admitido

El tamaño de muestra mínima para este estudio es de 359 niños.

7.3. Datos generales y antropométricos

Las mediciones antropométricas serán realizadas por dos evaluadores previamente entrenados. A cada participante se le medirá la cintura (cm), la cadera (cm), el peso (kg) y la talla (m) para calcular el índice de masa corporal (IMC) e índice cintura cadera (ICC), de acuerdo a las normas antropométricas internacionales.

La presión arterial será evaluada mediante baumanómetros electrónicos infantiles previo reposo del niño de al menos 10 minutos y por duplicado.



7.4. Determinaciones bioquímicas.

Para las determinaciones bioquímicas se tomará a cada uno de los participantes una muestra de sangre venosa de 10 ml que se repartirán en dos tubos de 5ml; uno con EDTA y otro sin anticoagulante. Los participantes tendrán un ayuno de 10 a 12 horas.

Se medirá la concentración sérica de glucosa, colesterol, colesterol-HDL y triglicéridos por métodos colorimétricos, el cálculo de colesterol LDL será estimado por la fórmula de Friedewald. Las concentraciones de insulina en suero serán determinadas por el método de Quimioluminiscencia.

7.5. Análisis molecular.

Para obtener el ADN se utilizará la muestra de sangre con EDTA. El ADN se extraerá a partir de leucocitos por método estándar. El ADN se cuantificará espectrofotométricamente (260/280nm), y será utilizado para la genotipificación de los polimorfismos P12A de PPAR γ , T130I de HNF4 α , R230C de ABCA1, E23K de KCNJ11, I/D de ECA, rs1111875 de HHEX y la rs9939609 de FTO se realizará por PCR tiempo real con sondas Taqman y equipo ViiA 7 (Applied Biosystems, CA). La variante ECA/ID será detectado solo por PCR, por que la variante consiste en una inserción/delección de 273pb fácilmente detectable por PCR.

7.6. Análisis estadístico.

Inicialmente se estratificará la población con base en los criterios descritos por de Ferranti con el fin de asociar cada rasgo metabólico con las variantes en estudio mediante una regresión logística lineal. Además, se evaluarán las variantes en conjunto para determinar si presentan un efecto aditivo que contribuya al desarrollo del SM, para esto se utilizará un análisis de X^2 .



8. Resultados

La toma de muestra se llevó a cabo en 7 escuelas del estado de Campeche, 3 de zona rural (Escuela Pablo García, Escuela Carlos R. Menéndez) y 4 de zona urbana (Centro Adolfo López Mateos, Escuela Presidente Adolfo López Mateos, Escuela Leona Vicario y Escuela Guadalupe Chan Perera).

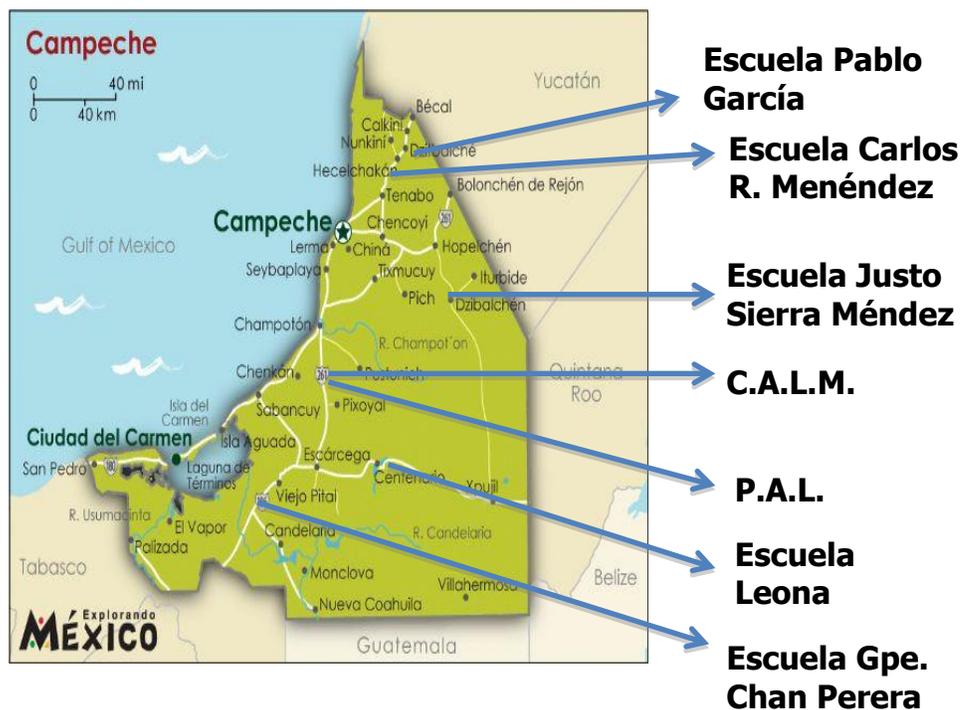
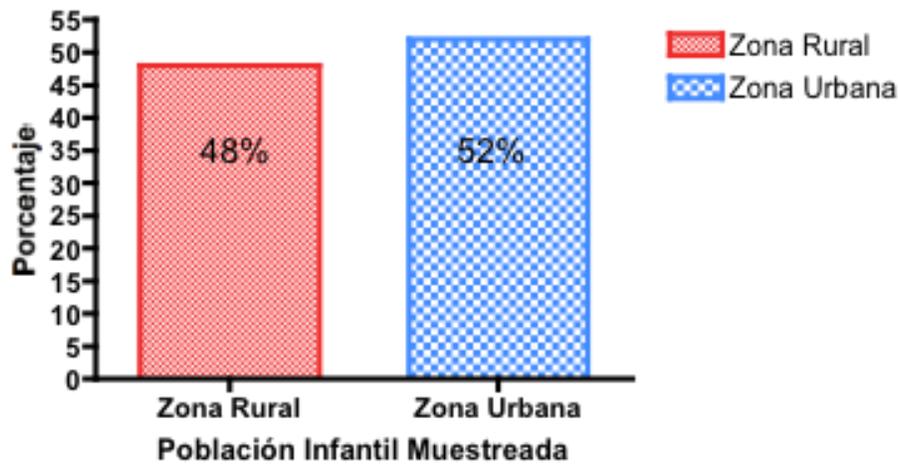


Figura 2. Muestra la ubicación aproximada de las siete escuelas del estado de Campeche.

Se tomaron 508 muestras (242 muestras zona rural y 266 muestras de zona urbana) de niños de 9 a 13 años de edad que se encontrarán cursando cuarto, quinto y sexto año de primaria. En la gráfica 1 se muestra su distribución:



Gráfica 1. Población muestreada de acuerdo a su ubicación en el estado de Campeche.

La gráfica representa el porcentaje de población muestreada en cada zona, 242 niños de Zona Rural que es equivalente a un 48% del total de la muestra y 266 niños de zona urbana que representan a un 52%.

Características antropométricas y bioquímicas de los niños de zona rural estratificados por escuela:

	Carlos R Menéndez	Pablo García	Justo Sierra	<i>p</i>
n= 242	n= 80	n= 86	n= 76	
%Cintura	66 ± 26^A	57 ± 29	50 ± 25^A	0.001
Colesterol mg/L	166 ± 31^A	170 ± 28^B	133 ± 24^{AB}	0.000
Glucosa mg/L	94 ± 5^{AB}	99 ± 7^{AC}	90 ± 9^{BC}	0.000
HDL mg/L	52 ± 10^A	51 ± 12	47 ± 12^A	0.022
%IMC	60 ± 33^A	54 ± 34	47 ± 30^A	0.046
LDL mg/L	93 ± 23^A	94 ± 22^B	80 ± 18^{AB}	0.000
%PA	71 ± 21	68 ± 21	65 ± 21	NS
Triglicéridos mg/L	112 ± 54	124 ± 61^A	98 ± 49^A	0.012



Insulina (uU/mL)	14 ± 28^A	13 ± 9^B	7 ± 4^{AB}	0.000
-------------------------	----------------------------	---------------------------	---------------------------	--------------

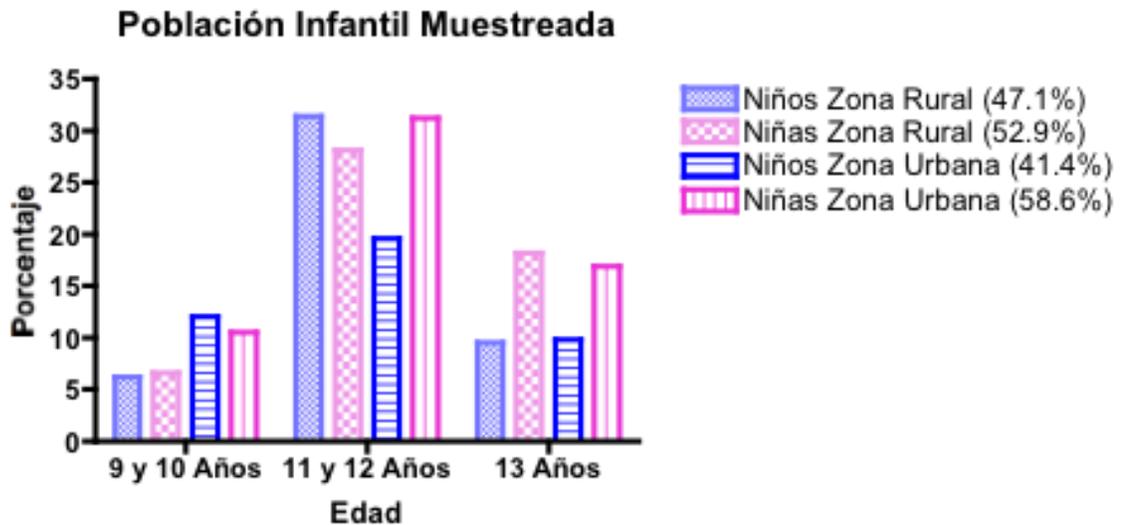
Se utilizó un ANOVA, p=0.05, n=508, Media ± DE

Características antropométricas y bioquímicas de los niños de zona urbana estratificados por escuela:

	Presidente Adolfo López	Guadalupe Chan Perera	Leona Vicario	Centro Adolfo López	p
n= 266	n= 65	n= 57	n= 40	n= 104	
%Cintura	77 ± 22	76 ± 23	70 ± 25	69 ± 27	NS
%IMC	79 ± 25	71 ± 29	69 ± 33	74 ± 29	NS
%PA	73 ± 22	71 ± 22	77 ± 22	72 ± 22	NS
Glucosa mg/L	91 ± 7	92 ± 7^C	87 ± 7^{ABC}	93 ± 13^{AB}	0.004
Colesterol mg/L	168 ± 26^{AB}	158 ± 31^B	192 ± 29^{BC}	170 ± 29^{ABC}	0.000
Triglicéridos mg/L	105 ± 50	111 ± 51	116 ± 83	124 ± 76	NS
HDL mg/L	51 ± 12	47 ± 11^A	47 ± 9	51 ± 11^A	0.027
LDL mg/L	97 ± 24^A	112 ± 31^{AB}	109 ± 28^C	93 ± 26^{BC}	0.000
Insulina (uU/mL)	15 ± 9^A	13 ± 12	10 ± 8^A	13 ± 8	0.014

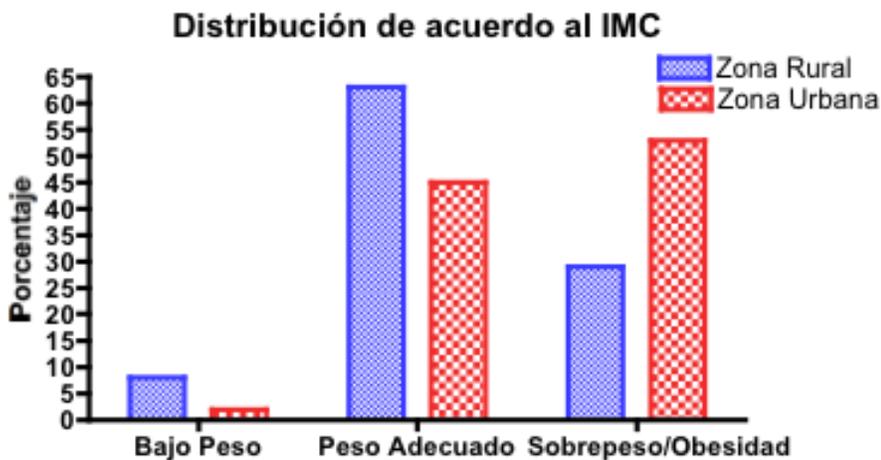
Se utilizó un ANOVA, p=0.05, n=508, Media ± DE

La población infantil de acuerdo al género y edad se distribuyó de la siguiente manera:



Gráfica 2. Distribución por género y edad de la población infantil del estado de Campeche que participa en el proyecto.

Esta gráfica representa los 508 niños muestreados separados por género, edad y zona, destacando que en ambas poblaciones se obtuvieron mayor número de muestras del género femenino entre los 11 y 12 años de edad, sin embargo al comparar el número de niños rurales vs el número de niños urbanos se encontraron diferencias significativas en los tres grupos de edad (0.006, 0.003 y 0.025) para los niños de 9 - 10, 11 -12 y 13 años respectivamente, en el caso de las niñas, sólo las de 13 años de edad mostraron una diferencia significativa (0.025) al compararlas.

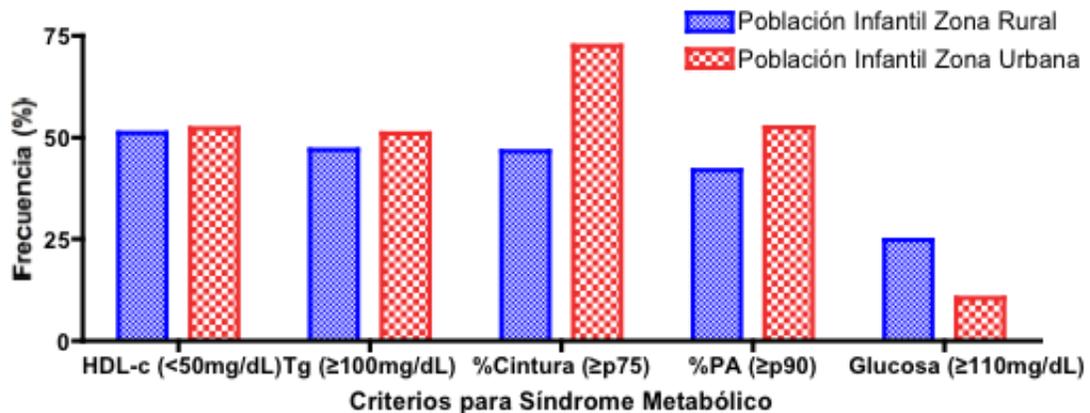


Gráfica 3. Estratificación de la población infantil Maya estudiada de acuerdo al percentil de IMC.



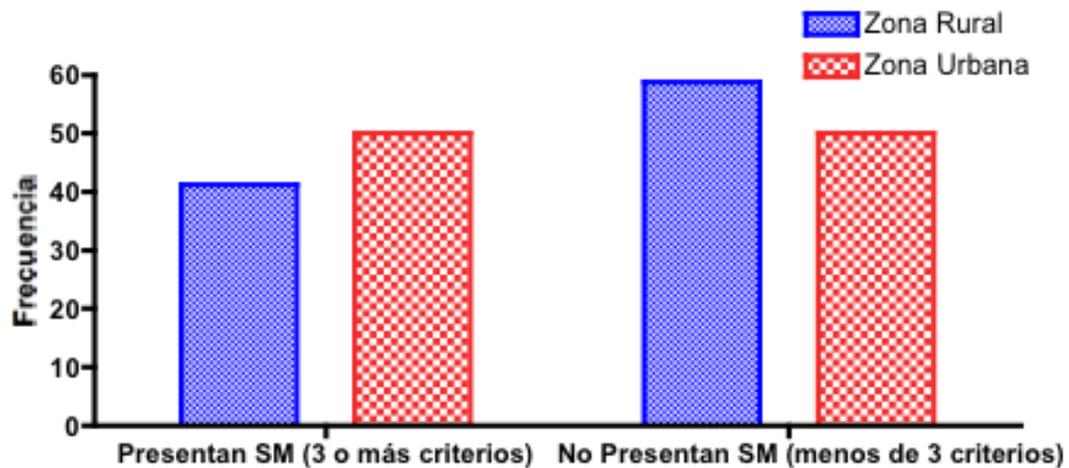
En la gráfica 3 se muestra la frecuencia de sobrepeso, obesidad, peso normal y bajo peso de acuerdo al percentil de IMC (Índice de Masa Corporal), considerando como bajo peso un IMC < 5 , peso adecuado $> 5 < 85$, como sobrepeso un percentil $> 85 \leq 95$, como obesidad un IMC > 95 , existe una marcada diferencia entre la frecuencia de sobrepeso y obesidad encontrada en población urbana contra la frecuencia de sobrepeso y obesidad encontrada en la población rural (53% y 29% respectivamente)

De acuerdo a los puntos de corte para el diagnóstico de SM, en la gráfica 4 se muestra la frecuencia en que se encontró cada criterio en la población rural y urbana del estado de Campeche, en la población rural la concentración disminuida de HDL-c es el factor más frecuente, mientras que en la población urbana el 72.6% presenta un percentil de cintura por encima del 75%.



Gráfica 4. Frecuencia de los criterios de De Ferranti en la población infantil rural y urbana del estado de Campeche.

Una vez establecida la frecuencia de aparición de los criterios de De Ferranti, se determinó la frecuencia de Síndrome Metabólico en ambas poblaciones, los resultados se muestran a continuación:



Gráfica 5. Frecuencia de Síndrome Metabólico en la población infantil del estado de Campeche.

Esta gráfica destaca que el 50% de la población urbana muestreada presenta SM, lo que indica que 50 niños por cada 100 muestreados presenta SM, en la zona rural se encontró una prevalencia del 41.3% indicando que 41 niños por cada 100 presenta SM en el zona rural.

Las frecuencias alélicas y genotípica de los siete polimorfismos estudiados en la población rural y urbana se muestra a continuación:

Frecuencia Genotípica y Alélica de rs9282541, rs1111875, rs5219, rs1800961, rs1801282, I/D y rs9939609 en ABCA1, HHEX, KCNJ11, HNF4 α PPAR γ , ECA y FTO respectivamente en población infantil Maya de zona rural y urbana

SNP	Gen	Variante	Cromosoma	Mayor/Menor alelo	Frecuencia Población Rural		Frecuencia Población Urbana	
					Genotípica	Alélica	Genotípica	Alélica
rs9282541	ABCA1	R230C	9	C/T	CC (68.2)	C (82.0)	CC (73.7)	C (83.0)
					CT (28.1)	T (18.0)	CT (19.9)	T (17.0)
					TT (3.7)		TT (6.4)	
rs1111875	HHEX		10	C/T	CC (34.7)	C (60.0)	CC (35.7)	C (60.0)
					CT (50.8)	T (40.0)	CT (47.7)	T (40.0)
					TT (14.5)		TT (16.5)	
rs5219	KCNJ11	E23K	11	C/T	CC (40.1)	C (60.0)	CC (41.0)	C (65.0)
					CT (45.5)	T (40.0)	CT (47.4)	T (35.0)
					TT (14.4)		TT (11.7)	
rs1800961	HNF4 α	T130I	20	C/T	CC (81.8)	C (90.0)	CC (85.0)	C (90.0)
					CT (17.4)	T (10.0)	CT (12.0)	T (10.0)



					TT (0.8)		TT (3.0)	
					CC (75.6)	C (87.0)	CC (83.5)	C (91.0)
rs1801282	PPAR γ	P12A	3	C/G	CG (23.6)	G (13.0)	CG (16.2)	G (9.0)
					GG (0.8)		GG (0.4)	
					TT (77.7)	T (87.0)	TT (69.2)	T (82.0)
rs 9939609	FTO		16	T/A	TA (20.2)	A (13.0)	TA (26.7)	A (18.0)
					AA (2.1)		AA (4.1)	
					II (6.6)	I (53.0)	II (4.1)	I (50.0)
	ECA	I/D	17	I/D	ID (93.4)	D (47.0)	ID (92.1)	D (50.0)
					DD (0)		DD (3.8)	



Características clínicas y bioquímicas de acuerdo al genotipo en niños Mayas de zona rural (n=242)

SNP/Gen	Variante	%Cintura	%Presión Arterial	Glucosa mg/dL	Colesterol mg/dL	Triglicéridos mg/dL	HDL mg/dL	LDL mg/dL	Insulina μ U/mL
rs928254	CC	67 \pm 27	67 \pm 21	93 \pm 8	156 \pm 31	110 \pm 54	51 \pm 11	88 \pm 22	11 \pm 20
ABCA1	CT/TT	63 \pm 28	69 \pm 21	96 \pm 8	161 \pm 35	115 \pm 60	49 \pm 13	92 \pm 23	12 \pm 10
P		NS	NS	0.005	NS	NS	NS	NS	NS
rs1111875	CC	57 \pm 27	67 \pm 21	93 \pm 9	153 \pm 34	113 \pm 63	49 \pm 10	89 \pm 22	10 \pm 8
HHEX	CT/TT	58 \pm 28	68 \pm 21	95 \pm 7	159 \pm 31	111 \pm 52	51 \pm 12	89 \pm 22	12 \pm 21
P		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
rs5219	CC	62 \pm 28	71 \pm 21	95 \pm 7	162 \pm 32	117 \pm 61	50 \pm 11	91 \pm 21	11 \pm 8
KCNJ11	CT/TT	55 \pm 28	66 \pm 21	94 \pm 8	154 \pm 34	108 \pm 52	50 \pm 12	88 \pm 23	12 \pm 21
P		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
rs1800961	CC	57 \pm 28	68 \pm 21	94 \pm 8	156 \pm 32	113 \pm 58	51 \pm 12	88 \pm 22	10 \pm 8
HNF4 α	CT/TT	60 \pm 27	67 \pm 21	94 \pm 8	163 \pm 32	106 \pm 44	48 \pm 10	93 \pm 24	17 \pm 37



P	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
rs180128 2	CC	59 ± 28	68 ± 21	95 ± 8	157 ± 33	113 ± 56	49 ± 11	90 ± 23	10 ± 9
PPAR γ	CG/GG	54 ± 26	68 ± 21	93 ± 8	158 ± 30	108 ± 57	53 ± 13	87 ± 20	12 ± 19
P		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
rs993960 9	TT	54 ± 27	67 ± 21	94 ± 8	157 ± 33	111 ± 56	50 ± 11	89 ± 23	10 ± 6
FTO	TA/AA	55 ± 30	72 ± 21	96 ± 7	158 ± 31	113 ± 57	52 ± 12	89 ± 19	12 ± 19
P		NS	0.041	NS	NS	0.08	NS	NS	NS
I/D	II	61 ± 29	68 ± 21	92 ± 6	149 ± 33	115 ± 73	47 ± 9	90 ± 19	10 ± 5
ECA	ID/DD	58 ± 28	68 ± 21	94 ± 8	158 ± 32	111 ± 55	50 ± 12	89 ± 22	12 ± 18
P		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Se tomaron como variables fijas IMC, edad y género.

Características clínicas y bioquímicas de acuerdo al genotipo en niños Mayas de zona urbana (n=266)



SNP/Gen	Variante	%Cintura	%Presión Arterial	Glucosa mg/dL	Colesterol mg/dL	Triglicéridos mg/dL	HDL mg/dL	LDL mg/dL	Insulina μ U/mL
rs928254	CC	74 \pm 24	73 \pm 22	92 \pm 11	171 \pm 32	115 \pm 69	50 \pm 11	100 \pm 28	11 \pm 20
ABCA1	CT/TT	68 \pm 27	73 \pm 22	92 \pm 6	168 \pm 27	118 \pm 61	48 \pm 11	102 \pm 28	12 \pm 10
P		NS	NS	NS	NS	NS	0.035	NS	NS
rs1111875	CC	77 \pm 22	73 \pm 22	91 \pm 9	171 \pm 32	117 \pm 72	48 \pm 10	101 \pm 25	12 \pm 8
HHEX	CT/TT	70 \pm 26	73 \pm 22	92 \pm 10	170 \pm 30	115 \pm 64	50 \pm 12	100 \pm 29	14 \pm 10
P		0.032	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
rs5219	CC	73 \pm 25	75 \pm 22	93 \pm 13	169 \pm 28	120 \pm 71	49 \pm 10	100 \pm 26	14 \pm 11
KCNJ11	CT/TT	72 \pm 24	71 \pm 22	91 \pm 7	171 \pm 32	112 \pm 64	50 \pm 12	100 \pm 29	12 \pm 8
P		NS	NS	0.027	0.04	NS	NS	NS	NS
rs1800961	CC	72 \pm 25	74 \pm 22	92 \pm 10	171 \pm 31	117 \pm 67	50 \pm 11	100 \pm 27	13 \pm 10
HNF4 α	CT/TT	74 \pm 21	68 \pm 22	90 \pm 5	169 \pm 29	109 \pm 68	48 \pm 11	101 \pm 31	11 \pm 7
P	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS



rs180128 2	CC	72 ± 25	73 ± 22	92 ± 10	169 ± 31	118 ± 70	49 ± 10	100 ± 28	13 ± 10
PPAR γ	CG/GG	75 ± 24	72 ± 22	89 ± 6	176 ± 30	105 ± 50	51 ± 14	102 ± 27	11 ± 7
P		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0.018
rs993960 9	TT	72 ± 26	75 ± 22	92 ± 10	170 ± 31	120 ± 74	50 ± 11	99 ± 28	13 ± 9
FTO	TA/AA	74 ± 23	69 ± 22	91 ± 10	172 ± 29	105 ± 45	50 ± 10	103 ± 28	12 ± 8
P		NS	0.032	NS	NS	0.044	NS	NS	0.026
I/D	II	63 ± 25	57 ± 16	91 ± 6	170 ± 29	91 ± 47	52 ± 13	96 ± 16	10 ± 6
ECA	ID/DD	73 ± 25	74 ± 21	92 ± 10	170 ± 31	117 ± 68	49 ± 11	101 ± 28	13 ± 10
P		0.050	0.012	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Se tomaron como variables fijas IMC, edad y género.

9. Discusión

Estimaciones propias a partir de los resultados publicados por la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006, muestran que la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad en niños de ambos sexos fue 27.3 con 22.9% respectivamente, al comparar estos datos con los resultados obtenidos en este estudio, son más altos a los reportados en la ENSANUT 2006 y ENSANUT 2012 ya que alcanzan cifras de 34.3% en población rural y 56.2% en población urbana, casi el doble de lo reportado en las encuestas anteriores para niños y niñas de las mismas edades.

En este estudio, al igual que en otros realizados en niños y adolescentes mexicanos, se encontró un alta prevalencia de dislipidemia, hipertriglicéridemia e hipertensión arterial. Los escolares con sobrepeso y obesidad, presentaron cifras significativamente mayores de hipercolesterolemia e hipertensión arterial, comparados con los escolares con IMC normal, coincidiendo con otros estudios realizados en niños, cabe destacar que el factor clave para la elevada prevalencia fue un percentil de cintura superior al 75, y HDL-c menores a 40mg/dL, ya que al no considerar a los niños con obesidad central (cintura >p75) la prevalencia se reduce drásticamente.

Aunque la prevalencia del SM varía ampliamente según la definición que se utilice, en algunos países en vías de desarrollo las cifras se aproximan a las que se han observado en los países desarrollados. Debido a los continuos cambios demográficos y al envejecimiento de la población, el impacto del SM será mayor en las regiones en desarrollo, los resultados obtenidos coinciden con lo reportado por Jonathan C.K. donde la frecuencia de sobrepeso y obesidad es mayor en las zonas urbanas en vías de desarrollo, en contraste a lo encontrado en la población rural donde es evidente la frecuencia de bajo peso superior a los últimos reportes de la ENSANUT.



Se evidencian diferencias en el en función de la zona de residencia, la mayor adiposidad corresponde a los niños de la zona urbana del estado de Campeche coincidiendo con lo reportado con Romero-Collazos, quien reporta que los niños de origen argentino, cubano, mexicano y venezolano, con un alto componente autóctono, presentaban una distribución de grasa más centralizada que los niños españoles, en nuestros resultados encontramos una elevada prevalencia de obesidad central (73% de la población urbana y un 47% de la población rural con percentil de cintura superior a 75).

Los resultados obtenidos con relación a la presión arterial sugieren, como en otros estudios, que la hipertensión arterial en niños no es rara y es mayor a la reportada en el 2008 por Enrique Oliver, el cual muestra una prevalencia de 4.9% de hipertensión arterial (presión arterial por arriba del 95%) en niños Mexicanos de Nuevo León de 6 a 12 años, en este estudio se observó que no solo el sobrepeso y/o obesidad condicionan a una presión arterial elevada, ya que en los niños de zona rural (52%), la mayor parte de ellos con un peso normal presentan una elevación en la PA.

ABCA1 se encuentra expresando en muchos lugares, pero sus funciones fisiológicas dependen de la célula y del tipo de tejido. Por ejemplo, ABCA1 se expresa en hepatocitos, enterocitos, y adipocitos donde se involucra en la generación de lipoproteínas de alta densidad (HDL), mientras que en los macrófagos ABCA1 es el encargado del transporte inverso del colesterol (Liu y col). Estudios sobre deficiencias de HDL en humanos, ratones transgénicos, y cultivo de células han demostrado que ABCA1 es el principal exportador de colesterol celular y fosfolípidos y aceptor de apolipoproteínas, esta actividad es esencial para la formación de las partículas de HDL in vivo (Tarling y col). Hay pruebas de que ABCA1 también juega un papel en la supresión, en este estudio se pudo observar que los portadores del Alelo de riesgo en la población rural presentan valores de c-HDL más bajos, sólo que la diferencia no llegó a ser significativa mientras que en la población urbana los niveles de c-HDL llegan a ser menores en los portadores del alelo de riesgo llegando a ser significativamente diferentes ($p=0.35$).



La frecuencia del alelo de riesgo en nuestro estudio fue de 0.18 y 0.199 en la zona rural y urbana respectivamente, siendo mucho mayor a las frecuencias reportadas donde la frecuencia se encuentra desde un 0.001 hasta un 0.043, los datos son tomados de la base de datos sobre SNPs de NCBI, donde las poblaciones Caucásicas, Europeas y Asiática no presentan frecuencia de la variante R230C del gen ABCA1. La asociación encontrada en la población rural entre las personas portadoras de la variante R230C y las concentraciones altas de glucosa y bajas de HDL, coincide con lo reportado en diversos estudios, donde la variante R230C es independientemente asociada con bajas concentraciones de HDL, nosotros encontramos concentraciones altas de glucosa en los portadores de esta variante con una significancia 0.05, que puede ser explicado por lo planteado por Brunham y col. Donde sugiere que los niveles intracelulares de colesterol pueden influenciar en la función de las células beta pancreáticas, en el estudio utilizaron ratones con inactivación selectiva de ABCA1, en este trabajo se manifestó que ABCA1 juega una papel crítico en la homeostasis del colesterol y la secreción de insulina en las células β pancreáticas, donde la ausencia de este dio lugar a acumulación de colesterol celular y una marcada reducción en la secreción de insulina in vivo y un deterioro progresivo de la tolerancia a la glucosa. Otro trabajo que confirma esta función importante de ABCA1 es el de Kruit y col. en donde se concluye que el flujo de colesterol de los islotes de las células beta pancreáticas a través de ABCA1 es crucial para la regulación del colesterol in vivo, sugiriendo que los niveles de colesterol elevados puede contribuir a la disfunción de las células beta en la DT2, en este trabajo solo los niños de zona rural portadores del alelo de riesgo presentaron valores de colesterol elevados pero sin llegar a ser estadísticamente significativos.

Se sabe que HNF4A forma parte de una red transcripcional que permite la liberación de insulina en respuesta a un aumento en los niveles de glucosa, así como la transcripción del gen mismo de la insulina, directa o indirectamente, a través de HNF1A (Bartoov, 2002), se ha visto que HNF4A juega un papel crítico en el control de la regulación de la transcripción del gen de la subunidad



reguladora de la entrada de potasio Kir6.2 (Gupta y col), y del gen de la Glucocinasa después de haber ingerido alimento (Hirota y col). La glucocinasa es la enzima clave en la regulación de la vía glucolítica. Se ha postulado entonces que HNF4A es necesaria para que se lleve a cabo una correcta secreción de insulina en respuesta a glucosa y que una alteración en el gen HNF4A genera una proteína alterada que no permite la correcta transcripción de estos genes blanco lo cual conlleva a un desequilibrio energético a nivel mitocondrial o bien a un bloqueo a nivel del canal de potasio sensible a ATP, no permitiendo que se lleve a cabo la despolarización de la membrana citoplasmática y con ello se presenta una falla en la secreción de insulina y en la homeostasis de la glucosa, conduciendo finalmente a la aparición de DM2 (Gupta y col, Lazo de la Vega y col) esto discrepa con nuestros resultados debido que en la población urbana los portadores de la variante T130I del gen HNF4A presentan concentraciones menores de glucosa, mostrando una tendencia en la significancia pero sin ser menor a 0.05. La contribución de HNF4A en la diabetes tipo 2 es motivo de controversia, se sabe que existen variantes localizadas en el promotor de HNF4A que se han sido asociadas consistentemente con un riesgo mayor de desarrollar diabetes tipo 2 en diferentes poblaciones y que hay un par de estudios donde se menciona que la variante rs1800961 (T130I), se presenta con alta frecuencia en población mestiza Mexicana (la frecuencia del alelo de riesgo encontrada es de 0.10 en ambas poblaciones, una frecuencia mayor a las reportadas que van de 0.006 a 0.01) contribuyendo de manera importante con un mayor riesgo para desarrollar DT2, pudiendo estar implicado el factor de la edad para que los niños portadores de la variante T130I no presenten hasta el momento valores elevados de glucosa.

El gen PPARG es expresado preferentemente en los adipocitos diferenciados y media la expresión de genes específicos de células adiposas, los cuales codifican proteínas directamente relacionadas con las vías lipogénicas. El polimorfismo Pro12Ala en el gen PPAR γ ha sido estudiado como una de las primeras variantes genéticas con amplio impacto en el riesgo de padecer DT2,



y se ha relacionado con diferentes componentes del SM, incluyendo obesidad central, mayores niveles de insulina, triglicéridos y menores niveles de HDL (Florez y col), en los niños el polimorfismo Pro12Ala se ha asociado con mayor riesgo de obesidad y con mayor percentil de cintura. Varios estudios lo han relacionado con bajo IMC, con una mejor sensibilidad a la insulina, en el caso de nuestros resultados, la población rural muestra una mayor secreción de insulina, los portadores de la variante Pro12Ala tienen en promedio menor concentración de colesterol y niveles más elevados de HDL, la población urbana también reporta niveles elevados de HDL al igual que lo reportado por Douglas y col. donde los individuos con el genotipo Pro/Ala, con y sin SM, presentaron niveles de HDL más elevados que los individuos con el genotipo Pro/Pro. La frecuencia máxima del Alelo de riesgo reportada en niños es de 0.12, en este estudio la población rural tuvo una frecuencia del alelo de riesgo de 0.13 mientras que en la población urbana fue de 0.09, Diferentes estudios realizados con niños obesos y de peso normal mostraron resultados diferentes al considerarse la relación entre la variante del gen PPAR γ y la obesidad, puesto que algunos demuestran aumento significativo en el índice de masa corporal y en la circunferencia de la cintura en individuos con el polimorfismo Pro12Ala, mientras otros relatan que la variante está asociada con menor IMC (Swarbrick y col), nuestro estudio muestra las dos propuestas, por un lado la población rural muestra que los portadores del alelo de riesgo tienen un IMC menor y menor percentil de cintura mientras que en la urbana los portadores del alelo de riesgo presentan IMC y percentil de cintura mayores. Hulya Yilmaz sugiere que los portadores del alelo de riesgo muestran diferencias en lípidos y glucosa, en este estudio no coincidimos con los resultados reportados.

Los canales de potasio dependientes de ATP son un complejo heterooctámero que comprende 4 subunidades del canal rectificador interno de potasio (Kir6.2), codificado por KCNJ11, acopladas a 4 subunidades del receptor de sulfonilureas (SUR1), codificado por el gen ABCC8 (Aguilar y col). Ambos genes residen adyacentes uno al lado del otro en el cromosoma 11. El cambio de aminoácido de glutamato a lisina en el codón 23 del gen KCNJ11 (E23K;



rs5219) está relacionado con diabetes gestacional y DT2. El alelo K23 esta asociado con mayor riesgo de DMT2 (Nielsen y col). El alelo de riesgo *in vitro* de este SNP afecta a las propiedades del canal de potasio, induciendo una espontánea hiperactividad de las células β pancreáticas mediante el aumento del umbral de concentración de ATP para la liberación de insulina (Schwanstecher y col). Las frecuencias reportadas para el alelo de riesgo del KCNJ11 llegan a ser hasta de 0.38, en este estudio fueron de 0.4 y 0.35 para población rural y urbana respectivamente, en el caso de la población rural al estratificar la frecuencia del polimorfismo en los niños con y sin SM, se encontró una diferencia significativa entre los tres genotipos de 0.03494 con un OR= 1.752 (I.C.=1.038-2.956), este polimorfismo mostró diferencias a lo reportado en otros estudios donde los niños portadores del alelo de riesgo presentan concentraciones de glucosa menores y mayor secreción de insulina. En 1999 se describió un ratón (llamado Ft debido al fenotipo de “dedos fusionados”, en inglés) con una eliminación importante (1.6 Mbp) en una región genómica que cubre al gen Fto así como otros 5 genes. Los autores consideraron a Fto como un gen candidato involucrado en procesos fisiológicos como la muerte celular programada o el desarrollo craneofacial. Dos estudios adicionales en modelo ratón han mostrado que la inactivación del gen Fto protege del desarrollo de obesidad. Basándose en estos hallazgos, se ha sugerido que la inhibición de la actividad de Fto podría ser un posible objetivo para el tratamiento de la obesidad mórbida. La relación del polimorfismo rs9939609 del gen FTO con el peso corporal presenta resultados contradictorios en la literatura. En algunos trabajos se ha demostrado como otros polimorfismos del gen FTO (rs17817449 y rs1421085) se asocian con una serie de medidas de adiposidad como el peso, índice de masa corporal, masa grasa y la circunferencia de la cintura, sin embargo, el polimorfismo rs9939609 no se relacionaba con ningún parámetro antropométrico. Mientras que en otro trabajo, se ha demostrado una clara relación entre este polimorfismo (rs9939609) y el IMC, sobre todo en población asiática y en menor medida en población europea, en el caso de nuestro estudio, FTO



(rs9939609) en la población rural presenta una asociación con presión arterial elevada, pero no se observan cambios en ningún parámetro bioquímico, siendo que en la población urbana el polimorfismo rs9939609 de FTO presenta asociaciones con bajas concentraciones de insulina, triglicéridos y presión arterial, mientras que el estudio realizado por quipo dirigido por Joanne E. Cecil de la Universidad de Dundee, Escocia, que estudió a 2726 niños, entre 4 y 10 años de edad en niños concluye que la variante rs9939609 confiere una predisposición a la obesidad y no parece estar implicada en la regulación del gasto energético, pero puede regular el control de la ingesta de alimentos y su elección. Esto propone vínculos con un fenotipo hiperfágico o una preferencia por los alimentos con elevada energía. Estudios recientes han mostrado que SNPs en el gen FTO predisponen a la obesidad infantil. La influencia de FTO en la composición corporal y el riesgo de desarrollar sobrepeso y obesidad se ha observado en la niñez y persiste en la adolescencia. La mayoría de las pruebas han sido conducidas en el SNP rs9939609 del gen FTO. La frecuencia menor en el alelo A ha estado entre 0.38 y 0.49 en diferentes poblaciones europeas mientras que en nuestra población estudiada es menor a 0.20, en nuestros resultados destaca que la población urbana portador del alelo de riesgo muestran un elevado IMC, coincidiendo con varios estudios donde los niños portadores del Alelo de riesgo pesan hasta 3kg más que los que no portan la variante.

La enzima convertidora de angiotensina 1, tiene un rol mayor en la regulación de la presión arterial y el balance electrolítico, así como otras funciones a nivel sistémico y tisular, hidrolizando AI a AII. Es vasopresor potente y estimula al péptido aldosterona, además inactiva a la bradiquinina que es un vasodilatador importante. El gen ECA codifica dos enzimas: La isoenzima somática ECA expresada en muchos tejidos, como la célula endotelial vascular, célula epitelial renal y célula del tejido testicular. La otra isoenzima ECA germinal o testicular expresada sólo en el esperma (Rarmaraj y col).

El ECA sérico puede variar entre los individuos, tanto como cuatro a cinco veces su nivel; sin embargo son pequeñas estas variaciones en el mismo



individuo. Rigat B. y col, identificaron que el genotipo DD incrementa los niveles tisulares del ECA y genera una mayor cantidad de AII, que produce cambios a corto y largo plazo en la estructura y tono vascular, aumentando la resistencia vascular lo que a su vez mejora la expresión vascular del ECA perpetuando la HTA (Henricus y col). Actualmente las publicaciones respecto a su asociación y riesgo de tomar parte en la expresión fenotípica de HTA, es realmente controversial. Ulrich y col publicaron un estudio en el que no encontraron asociación significativa entre polimorfismo I/D del gen ECA con la HTA primaria; pero sí mayores niveles de ECA sérico, en aquellos con el genotipo DD del gen ECA. A pesar de estos resultados no deja de reconocerse la importancia que vienen teniendo estos polimorfismos.

Ueda y col mostraron una mayor elevación de presión arterial en aquellos niños con genotipo DD, Zee Ryl y col, encontraron asociación entre el alelo de riesgo y la HTA en una población australiana. En estos estudios la prevalencia del alelo de riesgo va de 0.5 a 0.7, nuestro estudio alcanza el 0.5 en ambas poblaciones, aunque la población urbana mostró diferencias significativas en el genotipo de 0.0311 con un OR= 0.21 (IC= 0.045-0.993), encontrando solo relación con la frecuencia reportada en Chinos por Bo Xi en el 2011 que fue de 0.4%, pero si coincide con los otros estudios donde los portadores de la variante de riesgo tienen una presión arterial más elevada.

HHEX es una llave reguladora durante los procesos de desarrollo, juega un papel crucial en la identidad celular y el desarrollo embrionario, la presencia del alelo de riesgo tienen efectos sobre el desarrollo del páncreas y por ende en la secreción de insulina (Xiao y col)., En el caso de HHEX aunque varios estudios muestran una fuerte asociación de la variante C del polimorfismo rs111875 con diabetes, en este estudio ninguna de las poblaciones estudiadas mostró asociación con alguno de los componentes de susceptibilidad al desarrollo de diabetes, comportándose de la misma manera que HNF4a.



10. Conclusiones

La prevalencia del síndrome metabólico está incrementando de manera alarmante, su estudio es importante en la práctica clínica ya que integra las anormalidades que aumentan el riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y diabetes. El impacto que el SM tiene en la población adulta sobre la ECV y muerte no se manifiesta en la edad pediátrica, aunque el proceso patológico y los factores de riesgo se inicien en ella. Como las alteraciones metabólicas tienden a persistir en el tiempo, hay una alta probabilidad de que los niños obesos se conviertan en adultos obesos con dislipemia por lo que tienen especial riesgo de aterogénesis y de ECV.

Las asociaciones encontradas en este estudio, se mantuvieron aunque fueron considerados como co-variables la edad, el género y el IMC, resaltando que la importancia de estos factores genéticos no significa que el síndrome metabólico esté causado solamente por defectos genéticos; en la mayoría de los casos, los factores genéticos predisponen a una persona a desarrollar una enfermedad, mientras que los factores de estilo de vida determinan si (y cuándo) se desarrollará la enfermedad. Este estudio revela una alta prevalencia de SM en niños mayas del estado de Campeche. Las asociaciones encontradas sugieren que los polimorfismos R230C (ABCA1), P12A (PPAR γ), T130I (HNF4A), E23K (KNJJ11), ECA/ID (ECA), rs1111875 (HHEX) y rs9939609 (FTO) contribuyen en alguna medida con los factores que componen al SM en niños mayas.



11. Anexos

11.1. Datos generales y antropométricos

A cada participante se les midió la cintura y cadera, se registró el peso y la talla para el cálculo del índice de masa corporal (IMC) de acuerdo a las normas antropométricas internacionales. Así, la medición de la cintura se llevará a cabo con el niño de pie colocando la cinta métrica entre la costilla inferior y la cresta ilíaca después de una exhalación normal. Para el registro de la talla, se colocará al niño debajo del estadímetro de espalda a la pared con la mirada al frente, sobre una línea imaginaria vertical que divida su cuerpo en dos hemisferios. La cabeza, espalda, pantorrillas, talones y glúteos deberán estar en contacto con la pared y sus brazos caigan naturalmente a lo largo del cuerpo. Se trazará una línea imaginaria (Plano de Frankfort) que irá del orificio del oído a la base de la órbita del ojo. Esta línea será paralela a la base del estadímetro y formará un ángulo recto con respecto a la pared. Cuando la marca del estadímetro esté entre un centímetro y otro, se anotará el más próximo; si está a la mitad, se tomará el del centímetro anterior. Se bajará el estadímetro y se tomará la lectura en centímetros. Para el registro del peso, la medición se llevará a cabo con la menor ropa posible y sin zapatos. Se pedirá al niño que suba a la báscula colocando los pies paralelos en el centro, de frente al examinador. Deberá estar erguido, con la vista al frente, sin moverse y con los brazos que caigan naturalmente a los lados. Se empleará una báscula de piso, la lectura se registrará cuando el indicador de la báscula se encuentre completamente fijo. La presión arterial se evaluará mediante baumanómetros electrónicos infantiles con un reposo previo del niño de al menos 10 minutos y se tomará por duplicado. Además del criterio de Ferranti, la obesidad infantil se evaluará considerando el criterio de Calzada



León, criterio generado para determinar obesidad en población infantil mexicana. Este criterio contempla la relación entre el peso total y la talla estimada mediante el índice de masa corporal ($IMC = \text{peso en kg} / \text{talla en m}^2$).

11.2. Determinaciones bioquímicas

11.2.1. Glucosa

Se oxida en presencia de la enzima glucosa oxidasa (GOD) a ácido glucónico y peróxido de hidrógeno, éste último reacciona en presencia de la enzima peroxidada (POD) con 4-hidroxibenzoato y 4-aminofenazona para formar un complejo rojo-violeta de quinona. La intensidad del color es directamente proporcional a la concentración de la glucosa.

11.2.2. Colesterol

La colesterol estearasa (CE) hidroliza los ésteres para originar colesterol libre y ácidos grasos. El colesterol libre producido más el colesterol preformado se oxida en presencia de la enzima colesterol oxidasa (CHOD) para dar colestén-3-ona y peróxido de hidrógeno. Un cromógeno quinonimina, con absorción máxima a 500nm, se produce cuando el fenol se acopla oxidativamente con 4-aminofenazona en presencia de peroxidada (POD) con peróxido de hidrógeno. El color rojo es proporcional a la concentración total del colesterol.

11.2.3. Triglicéridos

- a) El glicerol y los ácidos grasos se forman en una primera etapa por acción de la lipasa sobre los triglicéridos.



- b) El glicerol se fosforila por el adenosil-5'-difosfato (ATP) para producir glicerol-3-fosfato (G3P) y adenosin-5'-difosfato (ADP) en una reacción catalizada por la glicerol fosforilasa (GK)
- c) El G3P es oxidado por la glicerol fosfato oxidasa (GPO) produciendo dihidroxiacetona fosfato (DAP) y peróxido de hidrógeno.
- d) Los peróxidos reaccionan con 4-aminoantipirina y 4-clorofenol mediante la catálisis de la peroxidasa (POD) para formar una quinoneimina de color rojo.

11.2.4. Colesterol HDL

El método se basa en las propiedades de un detergente que solubiliza sólo la fracción HDL, de forma que el HDLc se libera reaccionando con la colesterol esterasa, la colesterol oxidasa y los cromógenos. Las lipoproteínas LDL, VLDL y quilomicrones son inhibidas debido a la adsorción del detergente en sus superficies haciéndolas resistentes a la enzima. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de HDLc presente en la muestra ensayada.

11.2.5. Insulinas

Un anticuerpo monoclonal se aplica sobre la superficie de los pocillos de microtitulación y otro anticuerpo monoclonal marcado con peroxidasa de rábano picante se usa como trazador. Las moléculas del INS en la solución estándar o suero forman un "sandwich" entre los dos anticuerpos. Después de la formación de la cubierta del anticuerpo-antígeno-anticuerpoenzima compleja, la enzima-anticuerpo sin consolidar se eliminan por lavado. La actividad de peroxidasa de rábano unido en los pozos de entonces se analizada con las reacciones de quimioluminiscencia. La Unidad de Luz



relacionados (URL) de la reacción es proporcional a la concentración del INS de la muestra.

11.3. Determinaciones moleculares

11.3.1. Extracción de ADN

El ADN se extrajo mediante una técnica estándar modificada por Buffone y Darlington, a partir de los leucocitos contenidos en 5mL de sangre periférica con EDTA. Para ello, los 5mL de sangre fueron colocados en tubos cónicos de 15mL, se agregaron 8.5mL de Sacarosa Tritón 2X, se incubaron en hielo 15min; se centrifugaron a 2000rpm/15 min y se descartó el sobrenadante de cada tubo, posteriormente se agregaron 2mL de solución Sacarosa Tritón 1X, agitándose hasta disolver el botón; se centrifugaron a 2000rpm/15 min y se decantaron los tubos. A los botones obtenidos se les agregaron 1.5mL de Buffer de Lisis, se mezclaron suavemente, se agregaron 1.5mL de Buffer de Lisis, se mezclaron suavemente y se les adicionó dodecil sulfato de sodio (SDS) al 10%, se agitaron suavemente y se les agregaron 25 μ L de proteinasa K al 0.5%. los botones se disolvieron y se incubaron a 37 °C durante 24hrs; finalmente se les agregó 1mL de una solución saturada de cloruro de sodio (NaCl) y se les agito vigorosamente para posteriormente centrifugarlos a 2000rpm/15 min. El sobrenadante de cada tubo se recuperó en diferentes tubos cónicos de 15 mL. El ADN se precipitó adicionando dos volúmenes de etanol al 95% frío, con una varilla de vidrio (pipeta Pasteur sellada) se tomó el ADN y se lavó en etanol al 75% para eliminar el exceso de NaCl. El etanol se removió por evaporación y el ADN se re-suspendió en agua grado molecular.

El ADN fue cuantificado espectrofotométricamente (260/280 nm) para conocer el grado de pureza (1.8-2.0 nm) y concentración. Asimismo, se realizó



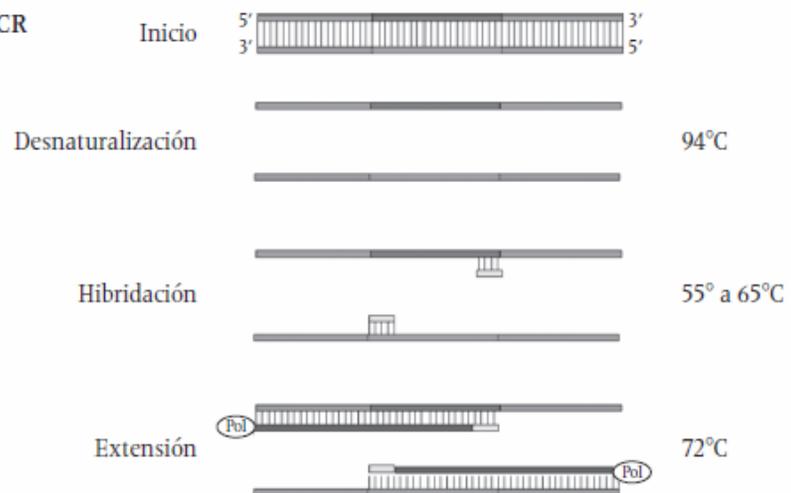
una dilución de cada uno de los ADN de 20ng/50 μ L que se mantuvo a -20 °C hasta que se realizó la genotipificación.

11.3.1.1. PCR

El objetivo de la PCR es obtener un gran número de copias del fragmento de ADN que contiene la variación genética buscada mediante la repetición de 30 a 35 ciclos consistentes en tres pasos (desnaturalización a 94°C, hibridación a 52°C a 65°C y extensión a 72°C) y que tienen lugar en un termociclador (Lorenz y cols.

2002; Tefferi y cols., 2002) (Figura 2). Tras la aplicación de la PCR, se genera una suficiente cantidad de copias de la secuencia deseada (producto de PCR) para poder continuar con diferentes sistemas de detección.

A: Detalle del primer ciclo de la PCR



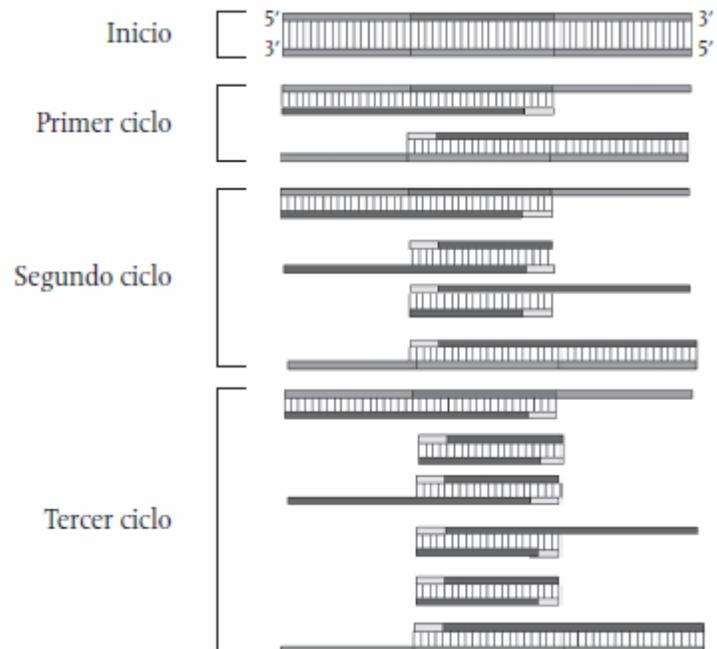
**B: Primeros ciclos de la PCR**

Figura 2. Esquema de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

La discriminación alélica es el proceso por el cual se detectan en una muestra dos variantes de la secuencia de un único nucleótido. Los SNPs son variaciones en un punto determinado de la secuencia nucleotídica de dos individuos. Se trata de la variación genética más abundante en los genomas. Como media en el Genoma Humano hablamos de una variación en cada 500-1000 pares de bases. Esta variación se considera polimorfismo cuando la variación afecta a más del 1% de la población.

Para los ensayos de discriminación alélica se emplean sondas específicas marcadas con fluorocromos. Un donador en el extremo 5', que emite fluorescencia al ser excitado y un aceptor en el extremo 3', que absorbe la fluorescencia liberada por el donador. Para que esto ocurra, las moléculas donadora y aceptora deben estar espacialmente próximas. Además, el espectro de emisión de la primera se ha de solapar con el espectro de absorción de la segunda. En todos los ensayos de discriminación alélica mediante PCR con sondas Taqman los fluorocromos empleados son VIC y FAM.



Mientras la sonda está intacta, la fluorescencia emitida por el donador es absorbida por el aceptor. Sin embargo, durante la amplificación de DNA diana, la sonda se hibrida con su cadena complementaria. Al desplazarse a lo largo de la cadena, en su acción de síntesis, la DNA 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, espacialmente alejados, la fluorescencia emitida por el primero es captada por el lector. (Figura 3)

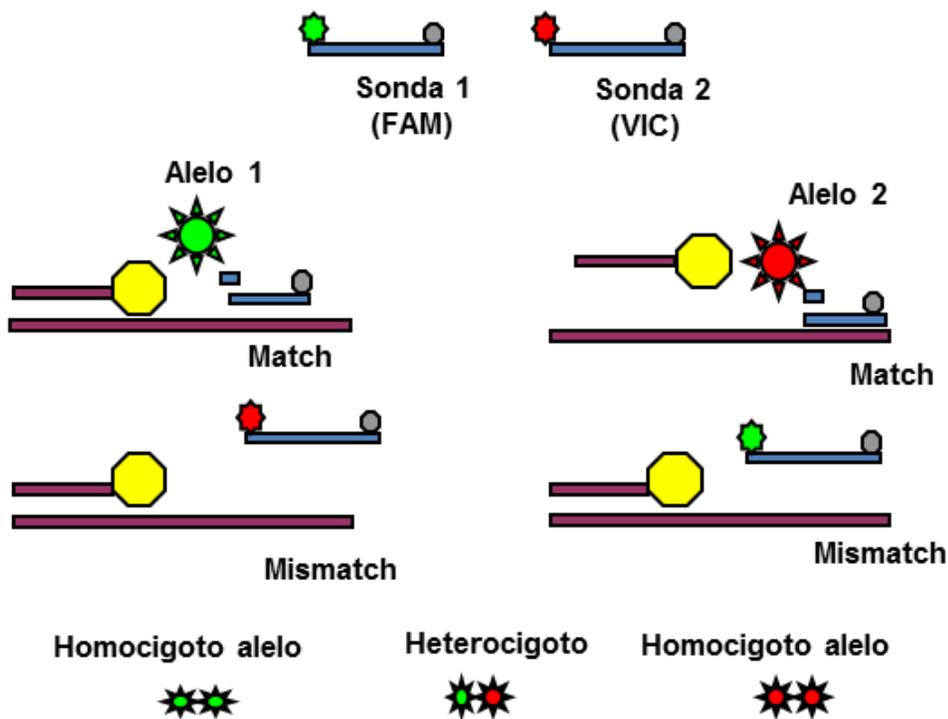


Figura 3. Mecanismo de la PCR con sondas Taqman.

El incremento de DNA en cada ciclo se corresponde con un aumento de hibridación de las sondas, lo que conlleva un aumento en la misma proporción de fluorescencia emitida. El empleo de estas sondas garantiza la especificidad de la detección y permite identificar polimorfismos.

A continuación se muestran las variantes analizadas:



GEN	SNP	UBICACIÓN	SECUENCIA	AR	AA
FTO	rs9939609	16q12.2	GGTTCCTTGCGACTGCTGTGAATTT[T/A] GTGATGCACTTGGATAGTCTCTGTT	A	T
KCNJ11	rs5219	11p15.1	CGCTGGCGGGCAGGTTACCTGGGCT[C/T] GGCAGGGTCTCTGCCAGGCGTGTC	T	C
HHEX	rs1111875	10q23.33	GACCCTGAGTGCAGGTTTCAGACGTC [C/T] AGAGGAAATGACTTGATGGTACGGA	T	C
ABCA1	rs9282541	9q31.1	GGCTTCAGGATGTCCATGTTGGAAC[T/C] AAGTACTCGCTCTGCTGCAGCCAGT	C	T
HNF4A	rs1800961	20q13.2	CACAATGAGCGGGACCGGATCAGCA[C/T] TCGAAGGTCAAGCTATGAGGACAGC	T	C
PPARG	rs1805192	3p25	GGTTGACACAGAGATGCCATTCTGG [C/G] CCACCAACTTTGGGATCAGCTCCGT	G	C

Secuencia de oligonucleotidos para ECA

ECA	
Localización	Intrón 16
Forward	5'-CTG GAG ACC ACT CCC ACT CTT TCT-3
Reverse	5'-GAT GTG GCC ATC ACA RTC GTC AGA T-3
Genotipo	II: Presencia de una sólo banda en 490pb
	DD: Presencia de una sólo banda en 190pb
	ID: Presencia de dos bandas en 490 y 190pb

11.3.2. Preparación Sacarosa-Tritón 2X

Reactivos	Modo de Preparación
219 Sacarosa	Pesar los reactivos y colocar en un matraz de aforo, aforar a un litro con agua des-ionizada, ajustar el pH a 7.6, filtrar y almacenar a 4°C.
2.42g Tris base	
2.03g MgCl ₂	
10mL Tritón 100X	



11.3.3. Preparación de Proteínasa K (5mg/mL)

Reactivos		Modo de Preparación
50mg	Proteinasa K (Fungal, cat.25530-015, Invitrogen)	Pesar la proteinasa K y aforar a 10mL, mezclar completamente, hacer alícuotas de 500µL, almacenarlas a 20°C.

11.3.4. Preparación de Buffer de lisis-nuclear

Reactivos		Modo de Preparación
1.21g	Tris-Base	Pesar los reactivos y colocar en un matraz de aforo, aforar a 500mL, esterilizar a 110°C (15lb/in ²) durante 15min. Almacenar a temperatura ambiente
23.4g	NaCl	
0.75g	Na ₂ EDTA	

11.3.5. Preparación de Cloruro de Sodio saturado

Reactivos		Modo de Preparación
350g	NaCl	Disolver 350g de NaCl en un litro de agua destilada, solubilizar lo más posible (queda una capa en el fondo), se almacena a temperatura ambiente.

11.3.6. Gel de Agarosa al 1.5%

Reactivos		Modo de Preparación
0.9g	Agarosa	Colocar en un matraz Erlenmeyer, meter en microondas hasta disolver muy bien (prox.45seg), esperar a que se enfrié un poco y posteriormente adicionar 1µL de Bromuro de etidio, mezclar perfectamente y vaciar de inmediato en la placa.
60mL	TBE 1X	



11.3.8. Buffer TBE 10X

Reactivos		Modo de Preparación
108g	Tris base	Colocar los reactivos en un matraz de aforo, aforando a 1000mL con agua destilada estéril y filtrar con vacío, almacenar a temperatura ambiente.
55g	Ácido Bórico	
40mL	EDTA 0.5M	
	pH 8.0	

11.3.9. Buffer de carga para DNA

Reactivos		Modo de Preparación
25mg	Azul de bromofenol 0.25%	Disolver los reactivos pesados en 10ml de agua destilada estéril, mezclar perfectamente y realizar alícuotas de 1mL.
25mg	Cianol-xileno 0.25%	
1.5g	Ficoll PM 400 al 15%	



11.3.10 Hojas de consentimiento informado



HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO
DIVISION DE INVESTIGACION
LABORATORIO DE ENDOCRINOLOGIA MOLECULAR

CARTA CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN LA INVESTIGACIÓN:

“Participación de los genes PPARG, HNF4A, HHEX, ABCA1, KCNJ11, FTO y ECA, como factores de riesgo asociados a síndrome metabólico en población mexicana, infantil y adolescente con sobrepeso y obesidad”

México D.F., a _____

A quien corresponda:

El (la) que suscribe _____
De _____ años, acepto la participación en forma libre y voluntaria de mi hijo (a) _____, para que done una muestra de sangre que será utilizada en el proyecto *“Participación de los genes PPARG, HNF4A, HHEX, ABCA1, KCNJ11, FTO y ECA, como factores de riesgo asociados a síndrome metabólico en población mexicana, infantil y adolescente con sobrepeso y obesidad”*, cuyo objetivo es identificar los probables genes de susceptibilidad para desarrollar síndrome metabólico, en población mexicana, que se lleva a cabo como parte de una colaboración entre el Hospital Juárez de México y la Facultad de Química de la UNAM.

Se me ha informado de la importancia del estudio, así como de los objetivos del mismo y de la forma en que se tomará la muestra de sangre. Dándome la oportunidad para hacer preguntas libremente y estando satisfecho (a) de la información y respuestas.

Firma de los padres o tutores del participante

Dirección _____

Firma del Investigador _____
Testigo 1 _____
Testigo 2 _____



"Participación de los genes los genes PPARγ, HNF4α, ABCA1, KCNJ11, ECA, HHEX y FTO como factores de riesgo asociados a síndrome metabólico en población mexicana, infantil y adolescentes con sobrepeso y obesidad"

Cuestionario general

Datos personales:

Nombre: _____ Edad: _____
Género: _____ Dirección: _____
Escolaridad: _____ Lugar de nacimiento del niño: _____ Lugar de nacimiento de los padre: (mamá): _____ (papá): _____

Datos antropométricos:

Peso: _____ kg Talla: _____ m IMC: _____
Cintura: _____ cm Cadera: _____ cm ICC: _____
Tensión arterial: _____
Destrostix: _____

Enfermedades: (Que enfermedades ha padecido el niño y si recibe algún tratamiento)

¿Desayunas antes de ir a la escuela? _____
¿Qué desayunas habitualmente? _____
¿Cuál es su hora de comida? _____
¿Qué come regularmente? _____
¿El niño cena o merienda? _____ ¿Cuál es su horario? _____



12. Referencias

Aguilar Salinas Carlos, Muñoz Hernández Linda, Cobos Bonilla Monica y col. The R230C variante of the ATP binding cassette protein A1 (ABCA1) gene is associated with a decreased response to glyburide therapy in patients with type 2 diabetes mellitas. *Metabolismo*. 2013; 65: 638-641.

Aregullin E y Alcorta M. Prevalencia de factores de riesgo de hipertensión arterial en escolares mexicanos. *Salud Pública de México*. 2009; 51: 14-18.

Avila N; Espínola N; Masso F y col. Correlación del polimorfismo (I/D) del gen de la ECA y la función ventricular en pacientes con miocardiopatía dilatada de origen isquémico e idiopático. *Revista de Investigación Clínica*. 2006; 58: 39-46.

Balas Nakash Margie, Villanueva Quintana Angélica, Tawil Dayan Sofia y col. Estudio piloto para la identificación de indicadores antropométricos asociados a marcadores de riesgo de síndrome metabólico en escolares mexicanos. *Boletín médico del Hospital infantil de México*. 2008; 65: 100-109.

Beck Nielsen H; Groop LC. Metabolic and genetic characterization of prediabetic states. *Journal of Clinical Investigation*. 1994; 94: 1714-1721.

Blázquez Fernández. Fundamentos Moleculares de la Medicina II. Editorial Real Académia Nacional de Medicina. Madrid. 2007. p. 76

Boj S; Párrizas M; Maestro M y col. A transcription factor regulatory circuit in differentiated pancreatic cells. *PNAS*. 2001; 98: 14481-14486.

Bouchard C; Lemieux S; Despres JP y col. Major gene for abdominal visceral fat area in the Quebec Family Study. *International Journal of Obesity and related metabolic disorders*. 1996; 20: 420-427.

Bungert S; Molday LL and Molday RS. Membrane topology of the ATP binding cassette transporter ABCR and its relationship to ABC1 and related ABCA transporters: identification of N-linked glycosylation sites. *The Journal of Biological Chemistry*. 2001; 276: 23539-23546.

Burrows R; Atalah E; Leiva L y col. Metabolic syndrome prevalence in Chilean children and adolescent with family history of chronic noncommunicable diseases. *Archivo Latinoamericano de Nutrición*. 2012; 62: 155-160.

CDI. Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas. Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas, Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo ; coord. Enrique Serrano Carreto. México, 2006.



Corella D; Carrasco P; Sori JV. Education modulates the association of the FTO rs9939609 polymorphism with body mass index and obesity risk in the Mediterranean population. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2012; 22: 651-658.

Dean M, Hamon Y, Chimini G. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *The Journal of Lipid Research.* 2001; 42: 1007-1017.

Del Rio Navarro B; Velazquez O; Lara A y col. Obesity and metabolic risk in children. *Archives of Medical Research.* 2008; 39: 215-221.

Demirel Y; Dogan S; Uludag A y col. Combined effect of Factor V Leiden, MTHFR, and angiotensin-converting enzyme (insertion/deletion) gene mutations in hypertensive adult individuals: a population-based study from Sivas and Canakkale, Turkey. *Genetic Test Mol Biomarkers.* 2011; 15: 785-791.

Denis M; Haidar M; Bouvier Ly col. Molecular and cellular physiology of apolipoprotein A-I lipidation by the ATP-binding cassette transporter A1 (ABCA1). *The Journal of Biological Chemistry.* 2004; 279: 7384–7394.

Despres H; Marette A. Obesity and insulin resistance: epidemiologic, metabolic and molecular aspects. Human Press. 1999: 51-82.

Després JP. Is vesperal obesity the cause of the metabolic syndrome?. *Ann Med.* 2006; 38: 52-63.

Duvnjak L; Duvnjak M. The metabolic syndrome an ongoing story. *JPP.* 2009; 60: 19-24.

Elizondo L; Serrano M; Ugalde P y col. Metabolic syndrome risk factors among a sample of overweight and obese Mexican children. *The Journal of clinical hypertension.* 2010; 12: 380-387.

Ferranini E; Andrea M. How to measure insulin sensitivity. *Journal Hypertension.* 1998; 16: 895-906.

Ferranti Sarah , MD, MPH; Kimberlee Gauvreau, ScD; David S. Ludwig, MD y col. Prevalence of the metabolic syndrome in American adolescents. *Circulation.* 2004: 2494-2497.

Ferrara A; Barrett Connor EL; Edelstein SL. Hyperinsulinemia does not increase the risk of fatal cardiovascular disease in elderly men or women without diabetes: the Rancho Bernardo Study. *American Journal Epidemiology.* 1998; 140: 857-869.

Fitzgerald, M; Mendez A; Moore K y col. ATP-binding cassette transporter A1 contains an NH₂-terminal signal anchor sequence that translocates the protein's first hydrophilic domain to the exoplasmic space. *The Journal of Biological Chemistry.* 2001; 276: 15137-15145.



Flores S; Klunder M; Reyes L y col. Increase in body mass index and waist circumference is associated with high blood pressure in children and adolescents in Mexico city. Archives of medical research. 2009; 40: 208-215.

Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. JAMA. 2002; 287: 356-359.

Ford ES, Giles WH, Mokdad AH. Increasing prevalence of the metabolic syndrome among US adults. Diabetes Care. 2004; 27: 2444-2449.

Garcia- Garcia Eudrdo; de la Llata Romero Manuel, Kaufer – Horwitz Martha y col. La obesidad y el síndrome metabólico como problema de salud pública. Una reflexión, segunda parte. Salud Mental. 2009; 32: 79-87.

Gerken T; Girard CA; Tung YCL y col. The obesity-associated FTO gene encodes a 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demethylase. Science. 2007; 318: 1469-1472.

Gloyn AL, Pearson ER, Antcliff JF, Proks P, Bruining GJ, Slingerland AS y col. Activating mutations in the gene encoding the ATP-sensitive potassium-channel subunit Kir6.2 and permanent neonatal diabetes. N Engl J Med 2004;350:1838-49

Gloyn AL, Reimann F, Girard C, Edghill EL, Proks P, Pearson ER y col. Relapsing diabetes can result from moderately activating mutations in KCNJ11. Hum Mol Genet 2005; 14:925-34

Groop L; Tuomi T. Noninsulin dependent diabetes mellitus: a collision between thrifty genes and an affluent society. Annals of Internal Medicine. 1997; 29: 37-53.

Groop L. Genetics of the metabolic syndrome. British Journal of Nutrition. 2000; 83: s39-48.

Gurnell Mark. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma and the regulation of adipocyte function: lessons from human genetic studies. Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism. 2005; 19: 501-523.

Hani EH; Boutin P; Durand E y col. Missense mutations in the pancreatic islet beta cell inwardly rectifying K⁺ channel gene (KIR6.2/BIR): a meta-analysis suggests a role in the polygenic basis of Type II diabetes mellitus in Caucasians. Diabetologia. 1998; 41: 1511-1515.

Hansen SK; Nielsen EM; Ek J y col. Analysis of separate and combined effects of common variation in KCNJ11 and PPARG on risk of type 2 diabetes. Journal Clinical Endocrinol Metab. 2005; 90: 3629-3637.

Harmer D; Gilbert M; Borman R y col. Quantitative mRNA expression profiling of ACE 2, a novel homologue of angiotensin converting enzyme. FEBS letter. 2002; 532: 107-110.



Holstein A; Hahn M; Stumuoli M y col. The E23K variant of KCNJ11 and the risk for severe sulfonylurea-induced hypoglycemia in patients with type 2 diabetes. *Hormone and Metabolic Research*. 2009; 41: 387-390.

Hubert C, Houot AM, Corvol P, Soubrier F. Structure of the angiotensin I-converting enzyme gene. Two alternate promoters correspond to evolutionary steps of a duplicated gene. *J Biol Chem* 1991; 266(23): 15377-83.

Inagak N; Gono T; Clement JP y col. Reconstitution of IKATP: an inward rectifier subunit plus the sulfonylurea receptor. *Science*. 1995; 270: 1166-1170.

Inagaki, N; Gono, T; Clement J y col. A family of sulfonylurea receptors determines the pharmacological properties of ATP-sensitive K⁺ channels. *Neuron*. 1996; 5: 1011-1017.

J.A.L. Minton, M van de Bunt, C. Boustred y col. Mutations in HHEX are not a common cause of monogenic forms of beta cell dysfunction. *Diabetologia*. 2007; 50: 2019-2022.

Juárez Cedillo T; Zuñiga J; Acuña Alonzo V y col. Genetic admixture and diversity estimations in the Mexican Mestizo population from Mexico City using 15 STR polymorphic markers. *Forensic Sci Int Genet*. 2008; 2: 37-39.

Kelishadi Roya; Jamshidi Fahimed. Pharmacotherapy of pediatric metabolic syndrome. *Journal of research in pharmacy practice*. 2013; 2: 1-2.

Kelishadi Roya; Poursafa Parinaz; De Ferranti Sarah y cols. Pediatric metabolic syndrome: from prevention to treatment. *Cholesterol*. 2012:1-2.

Kwiterovich PO Jr. Recognition and Management of dyslipidemia in children and adolescents. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2008; 93: 1-11.

M Sallman y col. Determination of the obesity associated gene variants within the entire FTO gene by ultra-deep targeted sequencing in obese and lean children. *International Journal of Obesity*. 2013. 37: 424-431.

Maffeis C; Banzato C; Talamini G. Waist to height ratio, a useful index to identify high metabolic risk in overweight children. *Journal Pediatric*. 2008; 152: 207-213.

Maffeis C; Grezzani A; Pietrobelli A y col. Does waist circumference predict fat gain in children. *International Journal of Obesity*. 2001; 25: 978-983.

Manolopoulos VG; Ragia G and Tauridou A. Pharmacogenomics of oral antidiabetic medications: current data and pharmacoepigenomic perspective. *Pharmacogenomics*. 2011; 12: 1161-1191.

Martínez JA. Body weight regulation: causes of obesity. *Proceedings of the nutrition society*. 2000; 59: 337-345.



Mathai Sarah; Cutfield Wayne; Derraik José y col. Insulin sensitivity and B- cell function in adults born preterm and their children. *Diabetes*. 2012; 61: 2479-2483.

Mayer EJ, D Agostino R; Karter AJ y col. Intensity and amount of physical activity in relation to insulin sensitivity: the Insulin resistance atherosclerosis study. *Journal of the American Medical Association*. 1998; 279: 669-674.

Mayer EJ; Newman B; Quesenberry CP y col. Usual dietary fat intake and insulina concentrations in healthy women twins. *Diabetes Care*. 1993; 16: 1459-1469.

Mehri S; Mahjoub S and Hammami S. Renin-angiotensin system polymorphisms in relation to hypertension status and obesity in a Tunisian population. *Molecular Biology Reports*. 2012; 39: 4059-4065.

Meissner, T; Beinbrech, B and Mayatepek, E. Congenital hyperinsulinism: molecular basis of heterogeneous disease. *Human Mutation*. 1999. 13: 351-361.

Mekeigue PM. Ethnic variation in insulina resistance and risk of type 2 diabetes. *Human Press*. 1999: 15-34.

Menjivar M; Granados MA; Montúfar I y col. High frequency of T130I mutation of HNF4A gene in Mexican patients with early-onset type 2 diabetes. *Clinical genetics*. 2008; 73: 185-187.

Morrison JA; Friedman LA; Wang P y col. Metabolic syndrome in childhood predicts adult metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus 25 to 30 years later. *Journal Pediatric*. 2008; 152: 201-206.

National Institutes of Health. Third Report of the National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). National Institutes of Health; 2001. NIH Publication 01-3670.

Neel V. Diabetes mellitus: a thrifty genotype rendered detrimental by progress?. *American Journal Human Genetics*. 1962; 14: 352-362.

Nelson D, Cox M: Lehninger Principios de Bioquímica. Cuarta edición. Primera reimpresión 2008. Ediciones Omega SA. Barcelona. 2008, p. 298, 323, 324, 325, 910, 911.

Oram JF; Heinecke JW. ATP-binding cassette transporter A1: a cell cholesterol exporter that protects against cardiovascular disease. *Physiological Reviews*. 2005; 85:1343- 1372.

Ortiz Hernandez L, Delgado Sanchez G, Hernandez Briones A. Cambios en factores relacionados con la transición alimentaria y nutricia en México. *Gaceta Medica*. 2006; 142: 181-193.



Pearson ER. Pharmacogenetics and future strategies in treating hyperglycaemia in diabetes. *Frontier in Bioscience: A virtual library of medicine.* 2009; 14: 4348-4362.

Pérez Rubio Gloria, Silva Zolezzi Irma, Ramírez Venegas Alejandra y col. Aspectos actuales de los estudios de asociación del genoma completo (GWAS) en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. *Revista Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias Mexicana,* 2009; 22; 337-346.

Pineda C. Síndrome metabólico: definición, historia, criterios. *Colombia Médica.* 2008; 39: 96-106.

Poulsen P; Levin K; Petersen I y col. Heritability of Insulin Secretion, Peripheral and Hepatic Insulin Action, and Intracellular Glucose Partitioning in Young and Old Danish Twins. *Diabetes.* 2005; 54: 275-283.

Ravussin E; Valencia ME; Esparza J y col. Effects of a traditional lifestyle on obesity in Pima Indians. *Diabetes Care.* 1994; 17: 1067-1074.

Reaven GM. *Diabetes.* 1988;37:1595-1607.

Regensteiner JG; Mayer EJ; Shetterly SM y col. Relationship between habitual physical activity and insulin levels among nondiabetic men and women. 1991; 14: 1066-1074.

Riedel M; Steckley D and Light P. Current status of the E23K kir6.2 polymorphism: implications for type 2 diabetes. *Human Genetic.* 2005; 116: 133-145.

Riedel MJ; Steckley DC; Light PE. Current status of the E23K Kir6.2 polymorphism: implications for type-2 diabetes. *Human Genet.* 2005; 116: 133-145.

Romero Collazos JF, Marrodán Serrano MD, Mesa Saturnino MS y col. Grasa corporal y distribución de la adiposidad en escolares latinoamericanos y españoles. *Obesidad humana y antropología aplicada.* 2010: 221-228.

Ruz Mario. Mayas, primera parte. CDI. Primera edición. 2006. 163pp.

Sanghera D.K., Ortega L., Han S., Singh J., y col. Impact of nine common type 2 diabetes risk polymorphisms in Asian Indian Sikhs: PPARG2 (Pro12Ala), IGF2BP2, TCF7L2 and FTO variants confer a significant risk. *BMC Medical Genetics,* 2008. 3(9):59.

Savva S; Tornaritis M; Savva M y col. Waist circumference and waist to height ratio are better predictors of cardiovascular disease risk factors in children than body mass index. *International Journal of obesity.* 2000; 24: 1453-1458.

Sihua Peng, Yimin Zhu y col. FTO gene polymorphisms and obesity risk: a meta-analysis. *Bio Med Central.* 2011; 9:71.

Sladek R; Rocheleau G; Rung J y col. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature.* 2007; 445: 881-885.



Smoons Maartel, Bonneux Luc. Obesity, cardiology and beyond. Journal of the American College of Cardiology. 2008; 52: 986-987.

Sorof JM; Lai D; Turner J y col. Overweight, ethnicity and the prevalence of hypertension in school aged children. Pediatrics. 2004; 113: 475-482.

Sorof JM; Lai D; Turner J y col. Overweight, ethnicity, and the prevalence of hypertension in school-aged children. Pediatrics. 2004; 113: 475-482.

Stephens JW; Humphries SE. The molecular genetics of cardiovascular disease clinical implications. Journal of internal medicine. 2003; 253: 120-127.

Stern M. The insulina resistance syndrome. International textbook of diabetes mellitus. 1997: 255-275.

Su G; Dou H; Zhao L y col. The angiotensin-converting enzyme (ACE) I/D polymorphism in Parkinson's disease. Journal of the Renin Angiotensin Aldosterone System. 2013: 1-6.

Thameen F; Voruganti VS; He X y col. Genetic variants in the renin-angiotensin system genes are associated with cardiovascular-renal-related risk factors in Mexican Americans. Human Genet. 2008; 124: 557-559.

Timothy M y col. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. NIH.2007. 316: 889-894.

Toumlehto J; Lindstrom J; Eriksson JG y col. Prevention of type 2 diabetes mellitus by changes in lifestyle among subjects with impaired glucose tolerance. The New England Journal of Medicine. 2001; 344: 1343-1350.

Trichopoulou Antonia, MD; Yiannakouris Nikos, PhD; Bamia Christina , PhD y col. Genetic predisposition, nongenetic risk factors, and coronary infarct. JAMA Internal medicine. 2008; 168: 891-896.

Trombetta M; Bonetti S; Boselli M y col. *PPARG2* Pro12Ala and *ADAMTS9* rs4607103 as "insulin resistance loci" and "insulin secretion loci" in Italian individuals. The GENFIEV study and the Verona Newly Diagnosed Type 2 Diabetes Study (VNDS) 4. 2013; 50: 401-408.

Trompier D; Alibert M; Davanture S y col. Transition from dimers to higher oligomeric forms occurs during the ATPase cycle of the ABCA1 transporter. The Journal of biological Chemistry. 2006; 281:20283–20290.

Urrutia X; Egbuchunam C; Base S y col. High blood pressure in school childrens prevalence and risk factors. Pediatrics. 2006; 6: 1-7.



Vilela M; Vaz RO; Cosenso M y col. Renin Angiotensin system blockage associates with insertion/deletion polymorphism of Angiotensin-converting enzyme in patients with hypertensive emergency. *DNA Cell Biol.* 2013; 9: 541-548.

Villalpando S; Shamah Levy T; Rojas R y col. Trends for type 2 diabetes and other cardiovascular risk factors in Mexico from 1993-2006. *Salud Publica Mexico.* 2010; 52: s72-s69.

Wacher Rodarte Niels. Epidemiología del síndrome metabólico. *Gaceta Médica.* 2009; 145: 384-391.

Wang J, Burnett JR, Near S y col. Common and rare ABCA1 variants affecting plasma HDL cholesterol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1983-9.

Wang Y; Qiao W; Zhao X y col. Quantitative assessment of the influence of hematopoietically expressed homeobox variant (rs1111875) on type 2 diabetes risk. *Mol Genetic Metabolism.* 2011; 102: 194-199.

Wenshu L; Zhirong G; Xiaoshu H. y col. Association of peroxisome proliferator-activated receptor $\alpha/\delta/\gamma$ with obesity, and gene-gene interaction, in the Chinese Han population. *Journal of Epidemiology.* 2013; 23: 187-194.

World Health Organization. Obesity. Preventing and managing the global epidemic. WHO obesity technical report series 894. Geneva Switzerland: World Health Organization; 2000. www.who.int

Xi Bo; Ruitter Rikje; Chen Jie y col. The ACE insertion/deletion polymorphism and its association with metabolic syndrome. *Metabolism Clinical and Experimental.* 2012; 61: 891-897.

Xiao-Peng Deng, Li-Xi Zhao, Bin Bin Wang y col. The HHEX gene is not related to congenital heart disease in 296 Chinese patients. *World J Pediatric.* 2013. 9: 278-280.

Xiaobo-Li, Yuqiong Li, Bei Song y col. Hematopoietically expressed homeobox gene three widely evaluated polymorphisms and risk for Diabetes: a meta-analysis. *PLOS one.* 2012. 7: 1-10.

Yilmaz H; Kurnaz O; Kucukhuselyin O y col. Different effects of PPARA, PPARG and ApoE SNPs on serum lipids in patients with coronary heart disease based on the presence of diabetes. *Gene.* 2013; 523: 20-26.

Zhu Q; Yamagata K; Miura A y col. T130I mutation in HNF-4alpha gene is a loss-of-function mutation in hepatocytes and is associated with late-onset Type 2 diabetes mellitus in Japanese subjects. *Diabetologia.* 2003; 46: 567-573.



Zimmet P; Taylor R; Ram P y col. Prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance in the biracial population of Fiji: a rural-urban comparison. *American Journal of Epidemiology*. 1983; 118: 673-688.

