



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

***ESTUDIO PILOTO PARA LA EVALUACIÓN DE LOS
POLIMORFISMOS P12A (PPARG), rs9939609 (FTO) Y
R230C (ABCA1) Y SU ASOCIACIÓN CON
PARÁMETROS DE SÍNDROME METABÓLICO EN
NIÑOS DE CHIMALHUACAN***

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**PRESENTA
LIZBETH DÍAZ ROQUE**

MÉXICO, D.F. 2015





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: MARISOL LÓPEZ LÓPEZ

VOCAL: Profesor: JOSÉ PEDRAZA CHAVERRI

SECRETARIO: Profesor: MENJIVAR IRAHETA MARTA ALICIA

1er. SUPLENTE: Profesor: TZVETANKA DIMITROVA DINKOVA

2° SUPLENTE: Profesor: MA. DE LOS ÁNGELES GRANADOS SILVESTRE

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: FACULTAD DE QUÍMICA

ASESOR DEL TEMA:

DRA. MARTA ALICIA MENJIVAR IRAHETA

SUPERVISOR TÉCNICO:

M.C. MA. DE LOS ÁNGELES GRANADOS SILVESTRE

SUSTENTANTE:

LIZBETH DÍAZ ROQUE

ESTA TESIS FUE APOYADA POR EL PROYECTO PAPIIT IN221014, DE LA DGAPA

INDICE	1
ABREVIATURAS	3
RESUMEN	4
INTRODUCCIÓN	7
1. Síndrome metabólico	7
2. Prevalencia del síndrome metabólico	9
3. Síndrome metabólico en niños	9
4. Criterios para la determinación de SM en niños	11
5. Situación metabólica infantil en México	12
6. Población de estudio	14
7. Factores genéticos	14
7.1. Gen <i>FTO</i>	19
7.2. Gen <i>ABCA1</i>	21
7.3. Gen <i>PPARG</i>	23
JUSTIFICACIÓN	25
HIPÓTESIS	26
OBJETIVO GENERAL	27
OBJETIVOS PARTICULARES	27
MATERIALES Y MÉTODOS	28
TÉCNICA DE EXTRACCIÓN DE ADN	28
CUANTIFICACIÓN DE ADN	29
METODOLOGÍA PARA ELECTROFORESIS	30
GENOTIPIFICACIÓN	31
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	31
RESULTADOS	32
DISCUSIÓN	43
CONCLUSIONES	47
ANEXO I	48
ANEXO II	49
ANEXO III	50
BIBLIOGRAFÍA	52

ABREVIATURAS

SM	Síndrome metabólico
NCEP/ ATPIII	National Cholesterol Education Program/ Adult Treatment Panel III.
OMS	Organización Mundial de la Salud.
AHA/ NHLBI	American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute.
IDF	International Diabetes Federation
AACE	American Association of Clinical Endocrinologist.
EGIR	European Group for the Study of Insulin Resistance.
ADA	American Diabetes Association.
PAS	Presión arterial sistólica.
PAD	Presión arterial diastólica
FPG	Glucosa plasmática en ayuno (Por sus siglas en inglés).
OGT	Prueba de tolerancia oral de glucosa (Por sus siglas en inglés).
IMC	Índice de masa corporal.
PC	Percentil.
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido.
SM	Síndrome metabólico.
C-HDL	Colesterol de alta densidad (Por sus siglas en inglés).
WC	Circunferencia de la cintura (Por sus siglas en inglés).
BP	Presión sanguínea (Por sus siglas en inglés).
GLUC	Glucosa
TG	Triglicéridos
VD	Disfunción vascular (Por sus siglas en inglés).
PG	Glucosa plasmática (Por sus siglas en inglés).
ADL	Dislipidemia aterogénica (Por sus siglas en inglés).
VI	Inflamación vascular (Por sus siglas en inglés).
CO	Obesidad central (Por sus siglas en inglés).
PTS	Estado protrombótico (Por sus siglas en inglés).
GWAS	Estudios de asociación del genoma (Por sus siglas en inglés).
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición.
LCAT	Lecitin colesterol acetil transferasa.
APOA-1	Apolipoproteína A-1
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa.

RESUMEN

El síndrome metabólico (SM) comprende un conjunto de alteraciones en el metabolismo de la glucosa, dislipidemia, obesidad abdominal e hipertensión arterial que conducen a tener un mayor riesgo de enfermedades crónicas degenerativas no transmisibles. En los últimos años, el interés por el SM en niños ha aumentado sustancialmente debido a la creciente prevalencia de la obesidad en la infancia. En este contexto, México tiene la mayor prevalencia de obesidad en todo el mundo, el 26% de los niños y 31% de los adolescentes tienen sobrepeso u obesidad, factores de riesgo que colocan a la población en posición muy vulnerable para presentar SM. La etiología de cada uno de los factores que componen el SM es diversa, se sabe que el ambiente tiene gran influencia, sin embargo, también existen factores genéticos que se correlacionan con estas condiciones. Así, es de gran importancia evaluar la prevalencia de SM en población infantil mexicana y el papel que juegan los factores genéticos en su aparición.

Se han encontrado diferentes polimorfismos asociados con el SM tal es el caso del polimorfismo rs9282541 en el gen que codifica para el transportador dependiente de la unión de adenosin trifosfato (ATP) tipo cassette (*ABCA1*), localizado en el cromosoma 9, con papel clave en el flujo de salida del colesterol, y su transferencia a las células periféricas, hacia las apolipoproteínas A1 (ApoA1), primer paso para la formación de las lipoproteínas de baja densidad (HDL). Esta mutación está asociada con niveles bajos de colesterol HDL (C-HDL), obesidad y diabetes tipo 2 en población mestiza mexicana. Otro de los polimorfismos asociados con SM es el rs9939609 en el gen *FTO*, localizado en el cromosoma 16, que codifica para una desmetilasa 2-oxoglutarato-dependiente de ácidos nucleicos. Se ha demostrado que polimorfismos del gen *FTO*, incluyendo al rs9939609, confieren una asociación altamente significativa con la obesidad, sobre todo con el tipo de clase III, en la población mexicana. Asimismo un polimorfismo importante en el SM es el P12A, del gen que codifica para la proteína receptor-activado de proliferación de peroxisomas (PPARG), se encuentra en el cromosoma 3p25, es una sustitución C→G que resulta en la conversión de prolina a alanina en el residuo 12 de la proteína, la cual es un receptor nuclear expresado principalmente en el tejido adiposo y ejerce un papel

esencial en la regulación de la diferenciación de los adipocitos, el almacenamiento de lípidos, y sensibilización a la insulina. La activación del gen *PPARG* conduce a la regulación positiva de genes que median la absorción y captura de ácidos grasos.

El objetivo del presente trabajo fue analizar si existe asociación de los polimorfismos antes mencionados con alguno de los parámetros del SM: glucemia, triglicéridos, C-HDL, presión arterial y diámetro de la cintura en población escolar de Chimalhuacán.

Metodología: El proyecto consistió en la evaluación de los polimorfismos P12A (*PPARG*), rs9939609 (*FTO*) Y R230C (*ABCA1*) en niños de la población de Chimalhuacán, Estado de México. Se seleccionaron 259 niños entre 7 y 12 años de edad, a cada niño se le tomaron medidas antropométricas así como dos muestras sanguíneas, una destinada para el análisis bioquímico y la segunda para la extracción de ADN. Mediante las pruebas bioquímicas y con los criterios de Ferranti, se evaluó la prevalencia de SM en la población. Mediante RT-PCR se realizó la genotipificación para evaluar los polimorfismos seleccionados. Se realizó la asociación de los polimorfismos con los parámetros antes mencionados del SM a través del programa estadístico SPSS versión 21.0 para Windows, por medio de un modelo lineal univariante.

Resultados. La prevalencia de SM en la población de estudio fue de 20.46%, en niñas fue de 11.20% y 9.27% para el caso de los niños. Se encontró una frecuencia alélica para el alelo de riesgo **C** de *FTO* de 18.2%, para *ABCA1* el alelo de riesgo **T** tuvo una frecuencia de 28.3%, y para *PPARG* el alelo de riesgo **C** tuvo una frecuencia de 87.4%. Los tres genes se encontraron en equilibrio de Hardy-Winberg. Se encontró correlación del polimorfismo R230C del gen *ABCA1* con concentraciones bajas de C-HDL, mediante los modelos de herencia recesivo ($p=0.016$) y aditivo ($p=0.041$), con mayor percentil de cintura mediante el modelo recesivo ($p=0.005$) y el modelo aditivo ($p=0.014$). Asimismo, también se asoció con mayores valores del percentil de presión sistólica ($p=0.001$) mediante el modelo aditivo. El polimorfismo P12A del gen *PPARG* se asoció con niveles elevados de triglicéridos ($p=0.021$), mediante el modelo dominante. Respecto del polimorfismo rs9939609 del gen *FTO* no se encontró asociación con ningún parámetro del SM.

Conclusiones.

En este estudio se encontró una alta frecuencia de SM en la población infantil del Municipio de Chimalhuacán. La evaluación de los polimorfismos R230C de ABCA1 y Pro12Ala del gen PPARG, muestra evidencia de su correlación con parámetros del SM lo que sugiere que la parte genética juega un papel muy importante en la aparición de enfermedades metabólicas en la población mexicana. La evaluación de la población mediante herramientas genómicas en la etapa infantil resulta de gran importancia pues permite la prevención de enfermedades crónico degenerativas no transmisibles.

INTRODUCCIÓN

1. Síndrome metabólico

El síndrome metabólico (SM) comprende un conjunto de alteraciones relacionadas con el metabolismo anormal de la glucosa, dislipidemia, obesidad abdominal e hipertensión arterial, que conllevan a un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares y metabólicas como diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) (Alberti & Zimmet, 2007).

El actual modelo de SM fue propuesto por primera vez por James Reaven en 1988 y fue llamado como "síndrome X". Reaven planteó la hipótesis de un papel central de la resistencia a la insulina en la fisiopatología del síndrome y el riesgo de diabetes y enfermedades cardiovasculares (Thankamony & Williams, 2011).

A partir del concepto de "síndrome X", se han presentado una serie de diferentes definiciones por varias organizaciones, incluyendo el National Cholesterol Education Program (NCEP, Adult Treatment Panel III), la Organización Mundial de la Salud (OMS), la American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute (AHA/NHLBI) y la Federación Internacional de Diabetes (IDF). Tales definiciones presentan componentes similares e incorporan medidas de la masa grasa, la presión sanguínea, niveles de lípidos y metabolismo de la glucosa (Tabla 1) (Thankamony & Williams, 2011) .

Sin embargo, en el 2009 se llegó a una armonización basada en dos definiciones de uso común, AHA / NHLBI y de las IDF, dirigida a población adulta, en la cual requiere que se cumplan tres de los cinco criterios para hacer un diagnóstico de SM. Estos criterios incluyen el origen de la población y circunferencia específica de la cintura, triglicéridos, colesterol HDL, presión arterial y la glucemia en ayunas. (Thankamony & Williams, 2011).

Tabla 1. Criterios para definir SM de acuerdo a diferentes organizaciones (Samson & Garber, 2014)

	AHA/NHLBI/ADA						
	OMS	EGIR	NCEP/ATPIII	AACE	Actualizada NCEP/ATPIII	IDF	Definición armonizada
Año	1999	1999	2001	2003	2004	2005	2009
Número de factores de riesgo	IFG/IGT/T2DM o resistencia a la insulina y dos más	Tres o más	Tres o más	IGT/IFG	Tres o más	Obesidad y dos más	Tres o más
Obesidad	Cintura/cadera ratio >0.9 M, >0.85 F O IMC >30 kg/m ²	WC 94 cm M 80 cm F	WC 102 cm M 88 cm F	IMC 25 kg/m ²	WC 102 cm M 88 cm F	WC 94 cm M 80 cm F	WC Específico por etnia y ubicación geográfica
Dislipidemia	C-HDL <0.91 mmol/L M (35 mg/dL) <1.0 mmol/L F (<39 mg/dL) TG 1.7 mmol/L (150 mg/dL)	C-HDL <1.0 mmol/L (39 mg/dL) TG 2.0 mmol/L (177 mg/dL)	C-HDL <1.0 mmol/L M (40 mg/dL) <1.3 mmol/L F (50 mg/dL) TG 1.69 mmol/L (150 mg/dL)	C-HDL <1.0 mmol/L M (40 mg/dL) <1.3 mmol/L F (50 mg/dL) TG 1.69 mmol/L (150 mg/dL)	C-HDL <1.0 mmol/L M (40 mg/dL) <1.3 mmol/L F (50 mg/dL) TG 1.69 mmol/L (150 mg/dL)	C-HDL <1.0 mmol/L M (40 mg/dL) <1.3 mmol/L F (50 mg/dL) TG 1.7 mmol/L (150 mg/dL)	C-HDL <1.0 mmol/L M (40 mg/dL) <1.3 mmol/L F (50 mg/dL) TG 1.7 mmol/L (150 mg/dL)
Hiperglicemia	DMT2 FPG >6.1 mmol/L (110mg/dL) 2h OGT>7.7 mmol/L (140 mg/dL)	No DMT2 FPG >6.1mmol/L (110 mg/dL)	DMT2 FPG≥110 mg/dL (6.1 mmol/L)	No DMT2 FPG ≥110 mg/dL (6.1 mmol/L) 2h OGT>7.7 mmol/L (140 mg/dL)	DMT2 FPG ≥5.6mmol/L (100 mg/dL)	DMT2 FPG ≥5.6mmol/L (100 mg/dL)	FPG ≥5.6 mmol/L (100 mg/dL) o tratado
Hipertensión	PAS≥140 PAD≥90	PAS≥140 PAD≥90 o tratado	PAS≥130 PAD≥85	PAS≥130 PAD≥85	PAS≥130 PAD≥85 o tratado	PAS≥130 PAD≥85 o tratado	PAS≥130 PAD≥85 o tratado
Componentes adicionales	Microalbuminuria ≥20 mg/min Albumina/creatinina ≥30 mg/g	-	-	Resistencia a la insulina (Historia familiar, DMT2, edad, etnia, sedentarismo, estilo de vida)	-	-	-

OMS. Organización Mundial de la Salud.
EGIR. European Group for the Study of Insulin Resistance.
NCEP/ATPIII. National Cholesterol Education Program/ Adult Treatment Panel III.
AACE. American Association of Clinical Endocrinologist.
IDF. International Diabetes Federation
IMC. Índice de masa corporal
WC. Circunferencia de cintura

C-HDL. Colesterol de alta densidad.
TG. Triglicéridos
DMT2. Diabetes mellitus tipo 2.
PAS. Presión arterial sistólica
PAD. Presión arterial diastólica
FPG. Glucosa plasmática en ayuno.

2. Prevalencia del síndrome metabólico

La prevalencia de SM varía dependiendo de la definición utilizada, la edad, el sexo, el nivel socioeconómico y el origen étnico de las cohortes del estudio. (Thankamony & Williams, 2011). De acuerdo con la OMS se presenta en el 15% de los hombres y en el 10% de las mujeres que tienen metabolismo de la glucosa normal y en el 64% de los varones y el 42% de mujeres que presentan alteración en la glucosa de ayuno o intolerancia a la glucosa (González et al., 2002). Aunado a dichos datos, la IDF indica que las personas con SM tienen tres veces más probabilidades de tener un ataque al corazón o un derrame cerebral en comparación con las personas sin el síndrome; también las personas con SM tienen cinco veces más riesgo de desarrollar DMT2 (Alberti & Zimmet, 2006).

3. Síndrome metabólico en niños

Establecer la prevalencia de SM en niños, resulta un poco controversial pues el uso de diferentes definiciones para diagnosticar SM en una misma cohorte de pacientes puede resultar en diferente prevalencia. En general, todas las definiciones incluyen un elemento de la obesidad (circunferencia de cintura o IMC), dos elementos "relacionados con la dislipidemia" (triglicéridos elevados y colesterol HDL bajo), presión arterial elevada, y un componente que incluye alguna anormalidad en el metabolismo de la glucosa (glucosa en ayunas alterada o intolerancia a la glucosa). Todas estas definiciones se basan en umbrales poblacionales derivados del percentil de cada componente por tratarse de población infantil que se encuentra en un desarrollo continuo; por tanto, esto implica que los componentes antropométricos y bioquímicos utilizados en las diferentes definiciones para diagnóstico de SM en niños, deben ser específicos por etnia y derivados de resultados de una población de referencia (Weiss, 2011). Por tal razón establecer una definición válida para toda la población infantil es complejo; a la fecha, existe una definición consenso por la IDF de acuerdo a la edad de los niños, y que se presenta en la Tabla 2.

Tabla 2. Definición consenso de la IDF del SM en niños y adolescentes

La definición consenso de la IDF del síndrome metabólico en niños y adolescentes (Thankamony & Williams, 2011)					
Grupo de edad (años)	Obesidad (WC)	TG	C- HDL	Presión sanguínea	Glucosa (mmol/l) o DMT2
6 a <10 años	≥90 PC	El síndrome metabólico no puede diagnosticarse, pero deben realizarse más mediciones si hay antecedentes familiares de SM, diabetes mellitus tipo 2, dislipidemia, enfermedad cardiovascular y / u obesidad.			
10 a <16 años	≥90 PC	1.7 mmol/l	<1.03 mmol/l	Sistólica 130/ Diastólica 85 mm Hg	Glucosa plasmática en ayunas ≥ 5.6 mmol/l
Mayor a 16 años	<p>Usar criterios para adultos: obesidad central definida como 94 cm (hombres) y 80 cm (mujeres), utilizando valores de cada etnia apropiados para otros grupos, además de dos de cada cuatro de los siguientes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • TG ≥ 1.7 mmol/l • C-HDL ≥1.03 mmol / l (hombres) y 1.29 mmol / l (mujeres) o un tratamiento específico para estas anomalías lipídicas • Aumento de la presión arterial sistólica o diastólica ≥130 85 mm Hg o diagnóstico previo de hipertensión. • Alteración de la glucemia en ayunas (glucosa en ayunas de 5.6 mmol / l) o previamente diagnosticados con diabetes tipo 2. 				

WC. Circunferencia de cintura.
 C-HDL. Colesterol de alta densidad.
 TG. Triglicéridos
 DMT2. Diabetes mellitus tipo 2.

En los últimos años, el interés por el SM en niños ha aumentado sustancialmente debido a la creciente prevalencia de la obesidad en la infancia (Qiaoxuan, 2013). México tiene la mayor prevalencia de la obesidad en todo el mundo, 26% de los niños y 31% de los adolescentes tienen sobrepeso u obesidad (Olaiz, 2006).

4. Criterios para la determinación de SM en niños.

Sin embargo, a pesar de las complicaciones para establecer la presencia del SM en niños, es de gran importancia la evaluación de los parámetros que involucran tal condición para la prevención del riesgo cardiovascular y metabólico a temprana edad (Weiss, 2011).

Además de la definición consenso, diferentes autores han propuesto criterios para establecer la presencia de SM en niños, que varían respecto a la edad, así como en los valores de índice de masa corporal (IMC), presión arterial, triglicéridos, colesterol HDL y glucemia. Tales criterios se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3. Criterios para establecer la presencia de SM en población infantil (Gil, 2010)

Autor Criterios	Edad (años)	IMC/PC	Presión arterial	Triglicéridos	C-HDL	Insulina/Glucosa
*Cook	12-19	PC >p90	>p90	>p90	<p10	ADA.
*De Ferranti	12-19	PC >p75 (NHANES)	>p90	≥100 mg/dL	<50 mg/dL	Insulina >p75 o glucemia ≥ 6.1 mmol/l.
*Lamber	9, 13, 16	IMC >P85	PAS>p75	>p75	<p25	Glucemia ≥ 6.1 mmol/l o TG 140- 200 mg/dl a las 2 horas.
*Weiss	4-20	IMC >p97	>p95	>p95	<p5	Glucemia ≥ 6.1 mmol/l o TG ADA.
*Cruz	8-13	PC >p90	>p90	>p90	<p10	Glucemia ≥ 6.1 mmol/l o TG 140- 200 mg/dl a las 2 horas.
*Viner	2-18	PC >p95	PAS>p95	>p90	<p10	Glucemia ≥ 6.1 mmol/l .
*Invitti	6-16	IMC ó PC > p97	>p95	>p95	<p5	OMS.

*Autores citados en el artículo de la Tabla 3

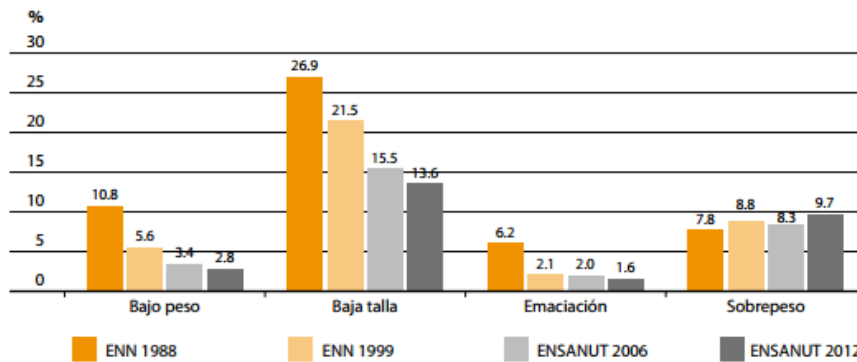
OMS. Organización Mundial de la Salud.
ADA. American Diabetes Association.
IMC. Índice de masa corporal

PC. Percentil de cintura.
TG. Triglicéridos
C-HDL. Colesterol de alta densidad.

5. Situación metabólica infantil en México

En México, la población infantil presenta anomalías en cuanto a su estado nutricional, como puede observarse en la Figura 1 el 2.8% de los menores de cinco años de edad presentan bajo peso, 13.6% baja talla y 1.6% emaciación, en todo el país. Así mismo la encuesta nacional de salud y nutrición (ENSANUT) indica que una población menor a 2.5% está bien nutrida. Sin embargo el 9.7% presenta sobrepeso.

Figura 1. Comparación de la prevalencia nacional de bajo peso, baja talla, emaciación y sobrepeso en



menores de cinco años. ENSANUT 2012.

En la Figura 2 puede observarse, la distribución de la baja talla en niños, en las regiones geográficas del país tanto rurales como urbanas.

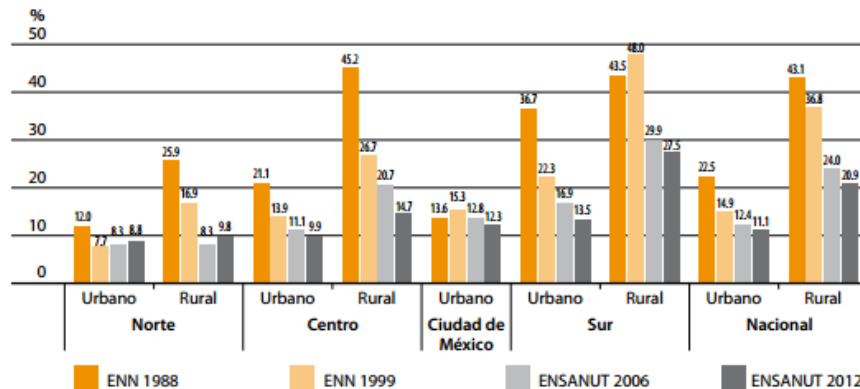


Figura 2. Comparativo de prevalencia nacional de baja talla en menores de cinco años por región y tipo de localidad. ENSANUT 2012.

Para la población en edad escolar (de 5 a 11 años de edad), la prevalencia nacional combinada de sobrepeso y obesidad en 2012, utilizando los criterios de la OMS (Figura 3 y 4), fue de 34.4% (19.8 y 14.6%, respectivamente). Para las niñas esta cifra es de 32% (20.2 y 11.8%, respectivamente) y para los niños mayor a 36.9% (19.5 y 17.4%, respectivamente). Estas prevalencias en niños en edad escolar representan alrededor de 5 664 870 niños con sobrepeso y obesidad en el ámbito nacional.

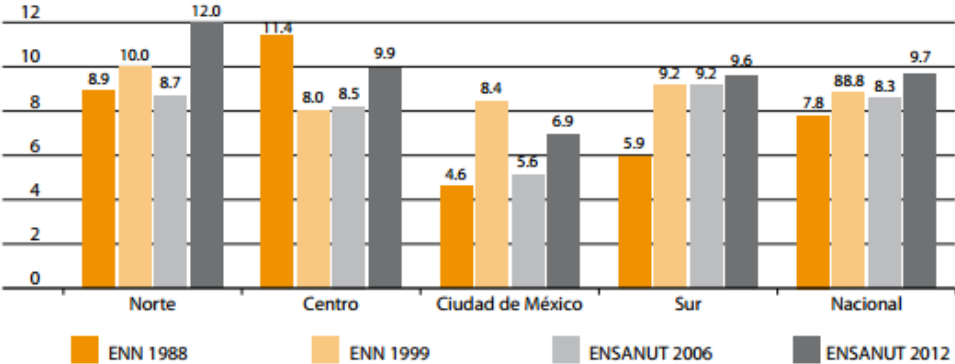


Figura 3. Prevalencia nacional de sobrepeso más obesidad en menores de cinco años. ENSANUT 2012.

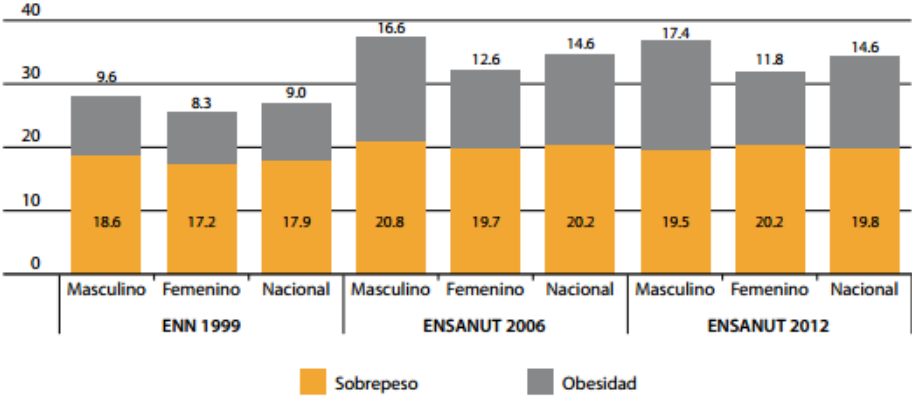


Figura 4. Comparativo de la prevalencia nacional de sobrepeso y obesidad en población de 5 a 11 años de edad. ENSANUT 2012.

La prevalencia de sobrepeso y obesidad en los menores de cinco años en el estado de México en 2012 fue de 6.5%. Con una distribución para las localidades urbanas de 6.9% y 4.0% para las rurales en el año 2012. Mientras que en niños entre 5 y 11 años de edad las prevalencias de sobrepeso y obesidad fueron 21.8 y 14.8%,

respectivamente (suma de sobrepeso y obesidad, 36.7%). ENSANUT Estado de México.

6. Población de estudio

El municipio de Chimalhuacán, Estado de México, se ubica en la zona oriente del Valle de México, colindando al norte con el municipio de Texcoco, al sur con los municipios de La Paz y Nezahualcóyotl. Tiene una población de 525,389 habitantes según datos del INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía).

La población es producto de una mezcla de grupos étnicos originarios de varias partes de la república, principalmente de Oaxaca, Puebla, Veracruz, Hidalgo y Tlaxcala. (Chimalhuacán, 2015)

De los 525,389 habitantes de Chimalhuacán, el 49.20% de la población son hombres y el 50.80% mujeres. Y la mitad de la población tiene 23 años o menos. Además 4 % de la población de 5 años y más, habla una lengua indígena, siendo las de mayor porcentaje náhuatl 31.8% y mixteco 24.0% (INEGI, 2015).

En cuanto a la educación, el municipio cuenta con un total de 617 escuelas, 237 a nivel preescolar, 209 de primaria, 104 de nivel secundaria, 30 de educación media superior, 2 superior y 35 de otro tipo. El total de alumnos es de 153, 450, y la mayor cantidad de estos se encuentra a nivel primaria, 79, 264 (IGECEM, 2011).

7. Factores genéticos

Los estudios epidemiológicos indican que los factores ambientales tales como la ingesta de alimentos ricos en grasas y la falta de actividad física contribuyen al desarrollo del SM. Sin embargo, los factores genéticos también juegan un papel importante en la patogénesis del SM (Xiaoyuan et al., 2014).

Existen estudios prospectivos de gemelos, segregación familiar, y herencia genética que respaldan la existencia de una base genética de los componentes del SM (Orho, 2006).

Actualmente, el análisis de ligamiento, el enfoque del gen candidato, y los estudios de asociación del genoma (GWAS) se realizan para hallar más variantes genéticas asociadas a la aparición de SM (Stančáková & Laakso, 2014).

Gen candidato

Los estudios basados en el gen candidato consisten en analizar genes que se asocian a la regulación o participan en procesos asociados al desarrollo de SM, tales como la ingesta de energía, el gasto energético y el peso corporal (por ejemplo, la leptina, receptor de leptina, opiomelanocortina, los receptores de melanocortina, neuropéptido Y, lípidos y el metabolismo de carbohidratos (por ejemplo receptores adrenérgicos β 2- y β 3-, lipasa sensible a hormonas, lipoproteína lipasa, la lipasa hepática, apolipoproteína E, apolipoproteína A5, proteína de unión a ácido graso 2, la apolipoproteína C-III, glicógeno sintasa, PPAR γ , inflamación (Factor de necrosis tumoral α (TNF- α), Interleucina 1- β (IL1- β)), señalización de insulina (*Insulin receptor substrate 1* (IRS-1), *Insulin-like growth factor 1 receptor* (IGF1R)), o la presión arterial (ACE). Sin embargo, los diversos estudios realizados de genes candidatos que han presentado una asociación con el SM, varían entre diferentes poblaciones. (Stančáková & Laakso, 2014).

Estudios de ligamiento

Cuando el objetivo de un estudio es identificar un polimorfismo o variante en un gen que esté relacionado con una enfermedad se pueden emplear diferentes estrategias. En primer lugar, es importante obtener evidencia de que al menos una fracción de la enfermedad está determinada genéticamente. En segundo lugar, hay que identificar dónde están los genes de interés para la enfermedad, en esta fase se realizan estudios denominados de ligamiento (Iniesta, et al., 2005)

Estos estudios emplean como marcadores genéticos una serie de polimorfismos repartidos por todo el genoma. Se suelen emplear familias grandes con varios miembros afectados y sus análisis permiten identificar zonas del genoma de interés, pero tienen poca resolución. En esas zonas identificadas puede haber centenares de genes interesantes y miles de polimorfismos candidatos. En cuanto al SM, la mayoría

de los estudios se realizan mediante grupos de fenotipos relacionados con el SM para el análisis de sus componentes principales.

Un estudio con 2,209 personas de 507 familias caucásicas demostró que el cromosoma 3q27 se asocia fuertemente con seis rasgos relacionados con el SM (incluyendo IMC, e insulina en ayuno en plasma). En otro estudio de ligamiento que se realizó en 2,467 sujetos de 387 familias se encontraron evidencias de la vinculación del cromosoma 2, con una relación con IMC, cintura-cadera, pliegue subescapular, TG, C-HDL, y ácido úrico en suero, lo que sugiere que pueden existir un locus pleiotrópico en el cromosoma 2 que contribuye a la agrupación de los fenotipos relacionados con el SM (Stančáková & Laakso, 2014).

GWAS

Los estudios de asociación buscan relacionar un marcador genético particular con una enfermedad (o un rasgo complejo) a través de una población, más que dentro de familias. Estos estudios tienen mucho más poder para detectar los efectos de las variantes comunes con respecto a los estudios de ligamiento (Sevilla, 2007).

Un tipo de estudios de asociación son los estudios de GWAS (*Genome Wide Association Studies*) los cuales son un tipo de asociación indirecta, es decir, consisten en probar un mapa denso de SNPs para la asociación con la enfermedad, bajo la premisa de que si un polimorfismo de riesgo existe, éste será o bien tipificado directamente o se encontrara en fuerte ligación con uno de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs). Estos utilizan cientos de miles de SNPs marcadores y se realizan generalmente en tres fases: 1) se genotifican individualmente alrededor de 250,000 SNPs en cientos de miles de individuos, 2) se validan los SNPs que demuestran ser más significativos (decenas a miles de SNPs) por genotificado en nuevas cohortes y por ultimo 3) se realiza el mapeo fino de los SNPs adyacentes a los SNPs validados (generalmente sólo unas pocas regiones). Esta técnica permite un screening extenso y de alta densidad del genoma completo en busca de sitios de significativa asociación con el fenotipo estudiado (Sevilla, 2007).

Los estudios GWAS relacionados con SM, con relevancia se presentan en la Tabla 4.

Algunas de estas variantes genéticas se han encontrado en o cerca de genes que regulan el metabolismo de los lípidos. Además se ha descrito que varios loci, tienen efectos pleiotrópicos sobre los componentes del SM (Stančáková & Laakso, 2014).

Asimismo los factores epigenéticos (metilación del ADN y la modificación de las histonas) probablemente desempeñan un papel importante en la patogénesis del SM, ya que podrían ser los mediadores de los efectos de la exposición ambiental en el riesgo del SM, sin embargo se requieren más investigaciones que puedan dilucidar los mecanismos epigenéticos en el desarrollo de esta patología. (Stančáková & Laakso, 2014).

Actualmente existen diversos estudios GWAS que han identificado SNPs asociados con el IMC o mayor riesgo de obesidad (Xiaoyuan et al., 2014).

Estos polimorfismos alélicos definen la predisposición de una persona a ganar peso y presentar el marco para la obesidad poligénica particularmente en vista de los cambios ambientales (Hess & Brüning, 2014).

Como gen candidato de asociación con la obesidad y la masa grasa ha sido identificado el gen *FTO* (Jacobsson et al., 2008).

Tabla 4 Estudios GWAS en relación con SM (Stančáková & Laakso, 2014).

Estudio	Fenotipo	Locus	SNP	Asociaciones adicionales para el locus	N	Población
Zabaneh and Balding	SM (IDF 2005)	No se encontraron asociaciones significativas			4,560	India, Asiática
Kraja et al.	SM(NCEP ATPIII)	<i>LPL</i>	rs295	HDLC-WC, HDLC-TG, TG-BP, TG-GLUC, BP-HDLC	22,161	Europea
		<i>BUD13</i>	rs10790162	TG-BP, TG-GLUC, HDLC-TG, WC-TG	"	"
		<i>ZNF259</i>	rs2075290	TG-BP, TG-GLUC, HDLC-TG, WC-TG	"	"
		<i>APOA5</i>	rs2266788	HDLC-TG, TG-BP, WC-TG	"	"
		<i>CETP</i>	rs173539	HDLC-TG, HDLC-WC, BP-HDLC, HDLC-GLUC	"	"
	Dos parámetros de síndrome	<i>GCKR</i>	rs780093	TG-BP, WC-TG	"	"

	metabólico					
		<i>C2orf16</i>	rs1919128	WC-TG	"	"
		<i>ZNF512</i>	rs13022873	WC-TG	"	"
		<i>CCDC121</i>	rs3749147	WC-TG	"	"
		<i>ABCB11</i>	rs569805	HDLC-GLUC	"	"
		<i>TFAP2B</i>	rs2206277	WC-GLUC	"	"
		<i>LOC100129150</i>	rs9987289	HDLC-TG, HDLC-WC	"	"
		<i>TRIB1</i>	several SNPs	HDLC-TG, TG-BP	"	"
		<i>LOC100128354</i>	rs1387153	BP-GLUC, HDLC-GLUC, TG-GLUC	"	"
		<i>LIPC</i>	several SNPs	HDLC-WC, HDLC-GLUC	"	"
		<i>LOC100129500</i>	rs439401	HDLC-TG	"	"
Kristiansson et al.	SM (IDF 2005) TG/HDLC/ WC-factor	<i>APOA1/C3/A4/A5</i> <i>LPL</i>	rs964184 rs7841189	TG, TG/HDLC/ WC TG, HDLC	10,564	Europea (Finlandés)
		<i>CETP</i>	rs247617	HDLC	"	"
		<i>APOB</i>	rs673548, rs6728178	HDLC	"	"
Avery et al.	Fenotipo metabólico	<i>BRAP</i>	rs11065987	VD, ↑PG, ADL, CO	19,468	Europea Americana
	Dominios	<i>APOC1</i>	rs4420638	↑PG, ADL, VI, PTS, CO	"	"
		<i>PLCG1</i>	rs753381	↑PG, ADL, VI, CO	"	"
		<i>GCKR</i>	rs1260326	↑PG, ADL, VI, PTS	"	"
		<i>ABCB11</i>	rs579060	↑PG, ADL, VI	"	"
		<i>LPL</i>	rs301	VD, ↑PG, ADL, CO	"	"
		<i>ABCA1</i>	rs2575876	ADL, CO	"	"
		<i>ABO</i>	rs687621	↑PG, ADL, PTS	"	"
		<i>HNF1A</i>	rs7979473	ADL, VI, PTS	"	"
		<i>FTO</i>	rs9923233	↑PG, CO	"	"
		<i>SUGP1</i>	rs10401969	ADL, VI	"	"
		<i>CRP</i>	rs2592887	VI, CO	6,287	Africana Americana
		<i>CD36</i>	rs3211938	ADL, VI, PTS	"	"

		CETP	rs247616	ADL, VI	“	”
--	--	------	----------	---------	---	---

NCEP/ATPIII. National Cholesterol Education Program.
 IDF. International Diabetes Federation
 SNP. Polimorfismo de un solo nucleótido.
 WC. Circunferencia de cintura
 SM. Síndrome metabólico.
 HDL-C.. Colesterol de alta densidad.
 TG. Triglicéridos
 ADL.

BP. Presión sanguínea.
 GLUC. Glucosa
 VD. Disfunción vascular
 PG. Glucosa plasmática
 CO. Obesidad central.
 VI. Inflamación vascular.
 PTS. Estado protrombótico.

7.1. Gen *FTO*

El gen *FTO* es miembro de la dioxigenasa no hemo (Fe (II)) y de la superfamilia de las dioxigenasas 2-oxoglutarato-dependientes. La función del gen *FTO* se desconoce en gran parte, pero se expresa en varios tejidos; especialmente en el hipotálamo, la hipófisis, las glándulas suprarrenales y los músculos. Así mismo, hay sugerencias de que *FTO* puede estar implicado en la regulación de la masa grasa corporal a través de la lipólisis (Jacobsson et al., 2008).

Los estudios que demuestran que un grupo de SNPs en el primer intrón del gen *FTO* se correlacionan con un aumento en el IMC, se han realizado tanto en niños como en adultos, mostrando un resultado similar, así mismo los resultados son independientes del sexo y tal asociación se ha confirmado repetidamente en varias cohortes de múltiples etnias (Hess & Brüning, 2014).

Hasta ahora, el resultado funcional de los genotipos *FTO* sigue siendo en gran parte desconocido. Tampoco se conocen las consecuencias exactas de los SNPs dentro del primer intrón del gen *FTO*, ni si estas variaciones afectan su expresión en absoluto (Hess & Brüning, 2014).

Sin embargo, es importante tener en cuenta que el primer intrón del gen *FTO* podría representar un sitio regulatorio importante tanto para *FTO* como para el gen *retinitis pigmentosa GTPase regulator interacting protein-1 like (RPGRIP1L)*, cuyo inicio de transcripción se encuentra en la dirección opuesta y cerca del primer exón del gen *FTO*. Por tanto la evidencia indica que se trata de una co-regulación transcripcional de *FTO* y *RPGRIP1L* a través de, al menos, dos CUX1 (también conocido como CUTL1), sitios de unión dentro de la región SNP del primer intrón de *FTO* (Hess & Brüning, 2014).

Cuando la región asociada a la obesidad alberga uno de estos sitios de unión, la isoforma P110 de CUX1 aumenta la actividad del promotor de FTO y RPGRIP1L, mientras que la isoforma P200 disminuye la actividad (Stratigopoulos, et al., 2011). Cuando existe aumento de la expresión de FTO y RPGRIP1L, CUX1 potencialmente conduce a una mayor sensibilidad a la leptina mediante el aumento de la agrupación de receptores de leptina en el polo ciliar de una neurona (evidencia experimental en roedores) y en última instancia puede disminuir la ingesta de alimentos (Stratigopoulos et al., 2011).

Además de la asociación con la obesidad, se han realizado GWAS que demuestran que algunos de los polimorfismos del gen *FTO* se han asociado con otras condiciones; dado que la expresión del gen *FTO* en el cerebro es alta, y éste se asocia con cambios en la conducta alimentaria, incluso a temprana edad, se efectuaron estudios para evaluar si hay un vínculo entre el gen y el fenotipo de comportamiento de niños (Choudhry et al., 2013).

Los resultados indicaron que los polimorfismos rs9939609 y rs8050136 se asociaron con el síndrome de déficit de atención e hiperactividad (TDAH). A pesar de que el TDAH no medicado se asocia con un mayor riesgo a desarrollar sobrepeso infantil, los alelos de riesgo rs9939609 y rs8050136 se correlacionan inversamente con TDAH independientemente del IMC (Choudhry et al., 2013).

Asimismo, los niños con el alelo de riesgo rs9939609 tienen un mejor control emocional y una mayor capacidad de respuesta a los alimentos independientemente de los síntomas del TDA (Choudhry et al., 2013) ; (Velders et al., 2012).

También se ha demostrado que polimorfismos del gen *FTO*, incluyendo al polimorfismo rs9939609, confiere una asociación altamente significativa con la obesidad, sobre todo con el tipo de clase III, en la población mexicana (Canizales et al., 2008).

Por tanto uno de los polimorfismos de relevancia del gen *FTO* es el rs9939609, localizado en el cromosoma 16, este polimorfismo es una transversión intrónica, es decir el cambio de una base púrica por una pirimidínica o viceversa, en este caso cambia una adenina por una timina.

7.2. Gen *ABCA1*

Además del gen *FTO* se han asociado polimorfismos en otros genes con parámetros del SM, como es el caso del gen *ABCA1* el cual codifica para una proteína transportadora de unión a ATP tipo cassette, que tiene un papel clave en el flujo de salida del colesterol, y la transferencia de éste, de las células periféricas, hacia las apolipoproteínas A1 (ApoA1), es el primer paso para la formación de las HDL (Canizales et al., 2010).

La proteína transportadora *ABCA1* es un determinante importante de los niveles de colesterol HDL en plasma de los seres humanos, además de que mutaciones homocigóticas o heterocigóticas compuestas en *ABCA1* causan la enfermedad de Tangier, enfermedad autosómica recesiva caracterizada por muy bajos niveles de colesterol HDL en plasma, mientras que mutaciones heterocigóticas causan la hipoalfalipoproteinemia familiar (Canizales et al., 2007). La identificación de éste gen como responsable de la enfermedad de Tangier ha contribuido sustancialmente a la comprensión de su papel como transportador clave de colesterol celular y fosfolípidos través de las membranas celulares a moléculas aceptoras como ApoA1. El contenido de colesterol de las células se reduce por la estimulación de la vía de LXR, esta consiste en que el colesterol intracelular es convertido en oxiesterol, el cual estimula a LXR a unirse a LXRE, que se encuentra en el promotor del gen *ABCA1*. Lo anterior produce un aumento en la expresión del transportador *ABCA1* y con ello, promueve la salida del colesterol intracelular, para ser captado por la apolipoproteína ApoA-I, dónde se formaran las pre β HDL nacientes, en las que posteriormente el colesterol presente será esterificado por la lecitin colesterol acetil transferasa (LCAT) para finalmente formar las HDL, (Figura 5), (Brewer et al., 2004). La principal apolipoproteína aceptora de colesterol, mediante el transportador *ABCA1* es la apoA-I; sin embargo también las apolipoproteínas C-I, C-III y E también participan en la remoción de colesterol intracelular, la característica estructural común de estas apolipoproteínas es una estructura helicoidal anfipática, con una superficie hidrófila y la otra hidrófoba (Brewer, et al., 2004). Esta estructura aumenta la capacidad de la apolipoproteína para interactuar con las superficies de lípidos y

eliminar el colesterol de las membranas celulares (Brewer et al., 2004). Además de la vía transportador ABCA1, la salida del exceso de colesterol celular, puede llevarse a cabo por la vía SR-BI y por difusión pasiva (Figura 5) (Brewer et al., 2004).

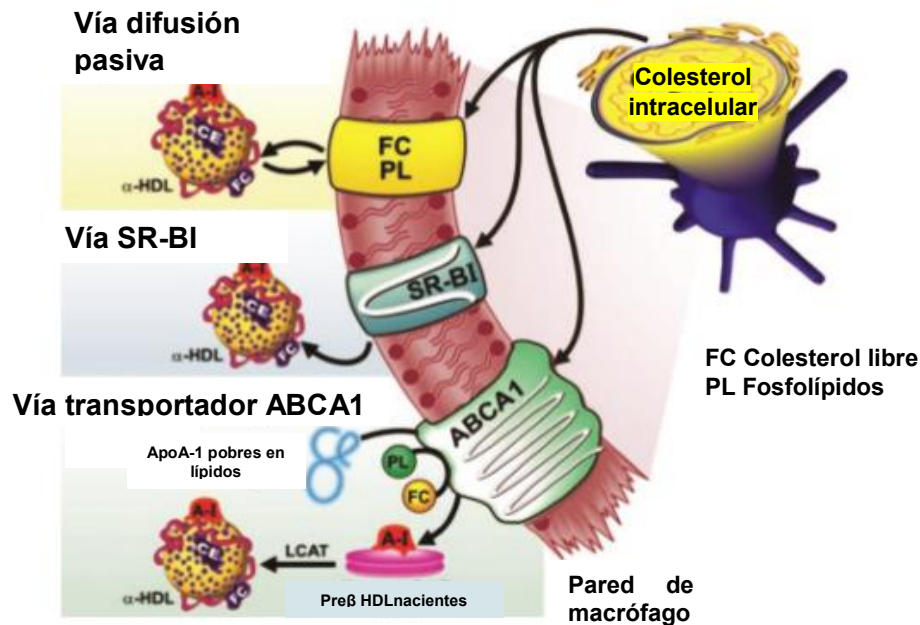


Figura 5 Esquema de la formación de C-HDL, a partir del colesterol intracelular, por medio de la vía del transportador ABCA1, SR-B1 y difusión pasiva (Brewer, et al., 2004).

El gen *ABCA1* se expresa ampliamente en muchos tejidos animales, en los que tiene múltiples y diversas funciones, su expresión está fuertemente inducida en la diferenciación de los pre-adipocitos 3T3-L1 a adipocitos maduros (Canizales et al., 2007).

Los niveles bajos de HDL, así como la hipoalfalipoproteinemia familiar, de acuerdo con datos obtenidos en una encuesta realizada en México, son las principales dislipidemias que se presentan en el país, y al analizar los factores genéticos involucrados en tales dislipidemias se encontró que la variante R230C del gen *ABCA1* es común en la población mexicana. (Canizales et al., 2007).

El polimorfismo R230C se localiza en el cromosoma 9 y consiste en un SNP. El cambio es de una timina por una citocina que provoca una mutación con sentido erróneo, es decir el codón CGT cambia por TGT, y que altera la secuencia de

aminoácidos de la proteína final (arginina 230 cisteína). Esta mutación está asociada con niveles bajos de C-HDL, obesidad y diabetes Tipo 2 en población mestiza mexicana (Canizales et al., 2010).

7.3. Gen *PPARG*

Además de la correlación con los niveles de colesterol, se han estudiado genes que se correlacionan con el balance de energía y la pre disposición para la obesidad tal como el que codifica para el receptor- activado de proliferación de peroxisomas, el gen *PPARG*, el cual se encuentra en el cromosoma 3, codifica para un receptor nuclear que detecta concentraciones de ácidos grasos. El gen se expresa casi exclusivamente en el tejido adiposo, y determina la adiposidad mediante la regulación de la diferenciación de adipocitos y metabolismo de las grasas a través de un complejo programa de la expresión génica (Cecil et al., 2006).

El gen *PPARG* codifica para un factor de transcripción que se activa por ligandos endógenos y farmacológicos, tales como ácidos grasos poliinsaturados y las tiazolidinedionas (Tontonoz, 1994). El gen *PPARG* regula también el metabolismo de las lipoproteínas, y sensibilidad a la insulina (Auwerx, 1999). Se han identificado cuatro isoformas de *PPARG*: *PPARG* 1, *PPARG*2, *PPARG*3, y *PPARG*4, que resultan de cualquiera de los sitios de inicio de transcripción alternativos o splicing alternativo (Sundvold, 2001).

Se han realizado estudios que revelan la importancia del gen *PPARG*, uno de ellos demuestra que los ratones knockout para *PPARG* fallan para desarrollar tejido adiposo, lo que demuestra que tal gen es esencial para la formación de nuevos adipocitos (Rosen et al., 2002). Otro de los estudios en humanos demuestra que los niveles de ARNm de *PPARG* se incrementan en los adipocitos de los sujetos mórbidamente obesos, mientras que la expresión de *PPARG* se atenúa en el tejido adiposo visceral en sujetos delgados (Vidal-Puig et al., 1997). Por lo tanto *PPARG* representa un vínculo genético directo a la regulación de la adiposidad regional y el peso corporal (Cecil et al., 2006).

Una de las variantes más comunes del gen *PPARG* es la P12A, consiste en el cambio de un aminoácido: prolina por alanina en el codón 12, es una sustitución de

C→G y provoca que el receptor sea menos activo a los ligandos naturales y sintéticos. La sustitución de alanina se ha asociado con la resistencia al desarrollo de la diabetes tipo 2, aumento de la sensibilidad a la insulina y un IMC menor en los adultos (Altshuler et al., 2000).

Además tales características de la variante son evidentes a temprana edad, pues se ha demostrado que P12A está asociada con un IMC significativamente menor en niños, así como con el porcentaje de grasa corporal en los mismos (Cecil et al., 2006).

JUSTIFICACIÓN

Sin duda uno de los problemas de salud de relevancia en México son las enfermedades cardiovasculares y metabólicas, el mayor ejemplo de las segundas es la DMT2, enfermedad muy importante en términos de morbilidad y mortalidad. La causa de estas enfermedades complejas no es única y existen diversos factores de riesgo que predisponen a tales condiciones, algunos de éstos son la hipertensión arterial, las dislipidemias, la alteración de la glucosa en ayuno y la obesidad, que en conjunto son conocidas como SM. La etiología de cada uno de estos factores es diversa, se sabe que los factores ambientales tienen gran influencia, sin embargo, no sólo éstos pueden explicar tales patologías, sino que también existen factores genéticos que ayudan a comprender el origen de los componentes del SM. Por tanto, es de vital importancia el estudio de la participación de los factores genéticos en el desarrollo del SM, en la población infantil, debido a que esta población será la afectada en el futuro y la prevención será uno de los factores claves para disminuir su incidencia. Sobre todo en población infantil vulnerable como es el caso de Chimalhuacán.

También desde el punto de vista de salud pública, es de gran importancia identificar grupos de riesgo a enfermedades crónico degenerativas no transmisibles, debido a que en costos resulta más bajo la prevención o el diagnóstico de una enfermedad en una etapa temprana que su tratamiento.

HIPÓTESIS

Se encontrará asociación de los polimorfismos rs9939609 de *FTO*, R230C de *ABCA1* y Pro12Ala de *PPARG* con los factores que componen al síndrome metabólico.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar si los polimorfismos rs9939609 (*FTO*), R230C (*ABCA1*) y P12A (*PPARG*), se encuentran asociados a parámetros de SM en niños de Chimalhuacán.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Realizar un muestreo de corte transversal en niños.
- Determinación de parámetros antropométricos y bioquímicos de los niños seleccionados.
- Evaluación de los polimorfismos rs9939609 (*FTO*), R230C (*ABCA1*) y P12A (*PPARG*).
- Buscar asociaciones de los polimorfismos rs9939609 (*FTO*), R230C (*ABCA1*) y P12A (*PPARG*) con parámetros de SM en niños.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron 259 niños entre 8 y 11 años de edad de la Escuela Primaria Emiliano Zapata del municipio de Chimalhuacán, Estado de México. El proyecto fue aprobado por el comité de ética del Hospital Juárez de México (ver ANEXO I). Los niños que aceptaron participar, así como sus padres, firmaron una carta de consentimiento y asentimiento informado respectivamente (ver ANEXO II). A cada niño se le realizó un cuestionario para conocer sus hábitos alimenticios (ver ANEXO III) y se les tomaron las medidas antropométricas (cintura, cadera, talla y peso), así como dos muestras sanguíneas, una destinada al análisis bioquímico y la segunda para la extracción de ADN. El análisis bioquímico se realizó en el Hospital Juárez de México, se analizaron los parámetros de glucosa, colesterol, triglicéridos, C-HDL, C-LDL, VLDL.

Para determinar la presencia de SM en los niños se utilizaron los criterios de Ferranti (De Ferranti, et al., 2004) que toman en cuenta los parámetros de glucosa (≥ 110 mg/dL), C-HDL (< 50 mg/dL), triglicéridos (≥ 110 mg/dL), presión arterial ($>$ percentil 90) y medida de cintura ($>$ percentil 75).

TÉCNICA DE EXTRACCIÓN DE ADN

La extracción y purificación del ADN es la etapa primaria para gran parte de los estudios en biología molecular para ello existen varias maneras de realizarlo; sin embargo es importante elegir el método en el cual la calidad y la pureza del ADN, sea idónea para su posterior análisis mediante PCR.

El método elegido para la extracción del ADN implica una etapa de lisis celular y otra de purificación, que incluye la precipitación salina de las proteínas celulares y finalmente la eliminación de componentes que puedan interferir en el PCR (Miller et al., 1988).

Metodología para extracción de ADN

- En un tubo cónico
- 2.5 mL de sangre periférica

- de 15 mL:
- 6.5 mL de sacarosa tritón **2x (frío)**
 - 3.5 mL de H₂O destilada (estéril)
 - *Mezclar suavemente por inversión e incubar en hielo 10 min.*
- Centrifugar a 900 g por 15min. 4°C.
 - Decantar el sobrenadante y desechar.
 - Lavar el botón con 2 ml de solución de sacarosa tritón **1x (frío)**.
 - Centrifugar a 900 g por 15min. 4°C.
 - Tirar cuidadosamente el sobrenadante, el precipitado debe verse color rosado, de lo contrario, lavar nuevamente con sacarosa Tritón **1x (frío)**.
 - Agregar:
 - 1 mL de amortiguador de lisis nuclear
 - 55 µL de SDS al 10%
 - 25 µL de proteinasa K (5mg/mL)
 - *Mezclar suavemente e incubar a 37°C durante toda la noche con agitación constante.*
 - *Posterior a la incubación:*
 - Agregar 600 µl de cloruro de sodio saturado y agitar vigorosamente.
 - Centrifugar a 900 g por 15 min a 4 C.
 - Transferir el sobrenadante a otro tubo falcon estéril.
 - Agregar 2 volúmenes de etanol al 100% **FRÍO**.
 - Mezclar suavemente por inversión y retirar el ADN con una pipeta Pasteur sellada de la punta.
 - Lavar el ADN con etanol al 70% dentro de un tubo eppendorf.
 - Dejar secar el ADN. (*El ADN seco tiene un aspecto transparente*)
 - Disolver el ADN dejando la pipeta pasteur por 20 min a 37° C en un tubo eppendorf con 200 µL de H₂O grado molecular.

CUANTIFICACIÓN DE ADN

El DNA extraído es cuantificado mediante espectroscopia UV. El NanoDrop™ Lite, es un espectrofotómetro que permite conocer la pureza y concentración de los ácidos

nucleicos obtenidos utilizando microvolúmenes de los mismos. El pico máximo de absorción del ADN está en 260 nm. A esta longitud por lo tanto, la absorción es proporcional a la concentración. La relación ($\frac{260}{280}$) debe estar en un rango de 1.8-2.0, si es menor probablemente estén presentes proteínas u otros compuestos que absorban a 280 nm. La relación ($\frac{260}{230}$) debe estar en un rango de 2.0-2.2, si es menor puede que existan contaminantes que absorban a 230 nm.

METODOLOGÍA PARA ELECTROFORESIS

Para evaluar la integridad del ADN extraído, se realizan geles de agarosa para electroforesis, el protocolo se puede dividir en tres etapas: (1) Se prepara un gel con una concentración de agarosa al 2% (2) las muestras de ADN se cargan en los pocillos y el gel se corre a un voltaje específico y por un período óptimo; y (3) el gel se visualiza directamente sobre la iluminación con luz UV.

1.- Preparación del gel de agarosa al 2%

- Pesar 1 g de agarosa y disolverlos en 50 mL de amortiguador TBE 1x
- Calentar en el microondas en lapsos de 20s hasta que la agarosa quede totalmente disuelta.
- Cuando la solución de agarosa haya alcanzado una temperatura soportable por la mano, agregar 0.7 μ L de bromuro de etidio (10 mg/mL). Mezclar de manera circular evitando que se forme burbujas en el gel.
- Colocar el o los peines en el molde de corrida. Verter lentamente el gel líquido por uno de los extremos y retirar las burbujas que queden sobre el área de corrida de las muestras con una punta limpia.
- Dejar enfriar la agarosa.

2.- Para la corrida de electroforesis.

- Llenar la cámara de electroforesis con amortiguador TBE 1x hasta cubrir el gel.

- En cada pozo colocar 1.5 μ L de muestra de ADN y 3 μ L de amortiguador de carga. (Este paso requiere de cierta rapidez para evitar que la muestra se difunda en el gel).
- Conectar los electrodos correctamente de la cámara a la fuente de poder y correr la electroforesis a 90V durante 1 h.

GENOTIPIFICACIÓN

Los SNPs son los marcadores genéticos más abundantes en el genoma. Entre los métodos más utilizados para genotipificación de SNPs es mediante la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR).

Este proceso se realizó, mediante RT-PCR en el equipo ViiA™ 7 Real- Time PCR System por Applied Biosystems Life Technologies (México, D.F.), y se utilizaron las sondas Taqman® SNP Genotyping assay C_11720861_10 rs9939609 para *FTO*, C_30090620_10 rs9282541 para *ABCA1* y C_1129864 rs1801282 para *PPARG*.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El equilibrio de Hardy-Weinberg para cada polimorfismo se determinó por medio de la prueba de Chi cuadrada.

La asociación de los polimorfismos en los genes *FTO*, *ABCA1* y *PPARG* con los parámetros de SM se realizó por medio de un modelo lineal univariante, codificando los genotipos encontrados para poder comparar a los individuos que tienen la variante con los que no la tienen. Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo usando el paquete de software SPSS 21.0 para Windows.

RESULTADOS

La prevalencia de síndrome metabólico se determinó mediante los criterios de Ferranti (3 o más criterios) y se encontró que el porcentaje de niñas con SM fue de 11.20% y 9.27% para el caso de los niños. El porcentaje global de niños con SM fue de 20.46%. En la Figura 6 se representa a la población de niños sanos y los niños que cumplen con uno, dos, tres, cuatro y cinco criterios del SM.

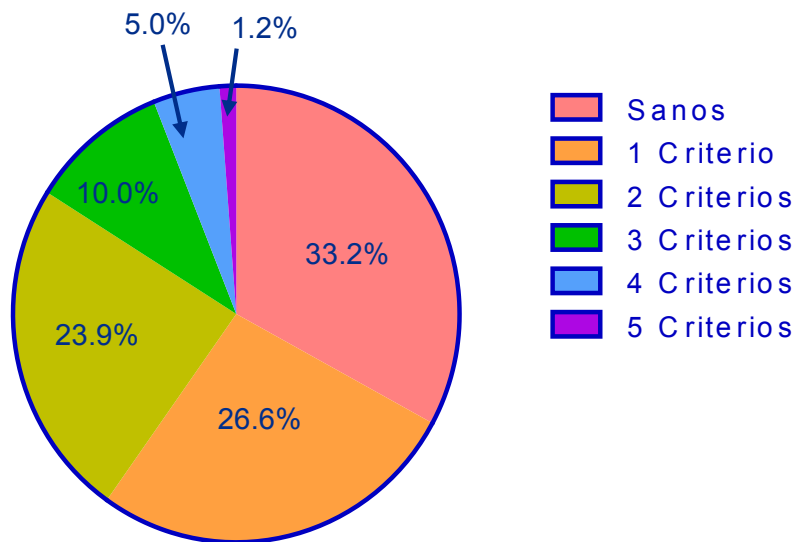


Figura 6. Población de estudio: niños sanos y niños que cumplen de uno a cinco criterios de SM

Las características antropométricas y bioquímicas de los niños con o sin SM, se presentan en la Tabla 5. Las características que presentan significancia estadística son el percentil de cintura y presión sistólica, los valores de triglicéridos y C-HDL.

Tabla 5 Características antropométricas y bioquímicas de los niños con SM

Parámetro		Valor de referencia	Con síndrome metabólico	Sin síndrome metabólico	P<0.05
Edad (años)			9.9 (9.0-10.0)	9.9 (9.0-10.0)	—
Femenino %			11.20	42.08	—
Masculino %			9.27	37.5	—
Cintura PC			77.9 (75.0-90.0)	36.9(75.0-90.0)	<0.01*
Cadera (cms)			83.8 (78.5-89.5)	73.3 (68.0-77.0)	0.519
Talla (mts)			1.40 ± 0.1	1.40 ± 0.1	0.467
Peso (kg)			46.0 ± 11.3	34.2 ± 8.0	0.715
Presión arterial (mmHg)	Sistólica	100 mmHg	112.3 (106.0-121.0)	105.1(101.0-110.0)	0.432
	Diastólica	61 mmHg	70.5 ±9.8	67.1 ±9.0	0.826
	PC sistólica		75.5(63.7-95.9)	61.2 (62.8-95.6)	<0.01*
Glucosa (mg/dL)		70-100 mg/dL	93.4 ± 5.8	92.7 ± 5.6	0.898
Colesterol (mg/dL)		<200 mg/dL	160.7 ± 23.8	152.5 ± 25.2	0.386
Triglicéridos (mg/dL)		50-150 mg/dL	148.6 (109.5.0-169.5)	86.9 (64.3-105.8)	<0.01*
C-HDL (mg/dL)		> 40 mg/dL	39.4 ± 6.2	46.7± 10.5	0.001*
C-LDL(mg/dL)		10-100 mg/dL	99.8 ± 20.8	90.2 ± 21.9	0.447
VLDL (mg/dL)		< 50 mg/dL	39.7 (22.0-34.0)	17.4 (13.0-21.0)	0.488

Media ± DS

Mediana (PC25-PC75)

C-HDL. Colesterol de alta densidad.

PC. Percentil de cintura.

C-LDL. Colesterol de baja densidad

VLDL.. Colesterol de muy baja densidad.

Genotipificación

La integridad del ADN, se verificó mediante geles de agarosa al 2%. En la Figura 7 se observa una sola banda lo cual nos indica que el ADN extraído se encuentra integro.

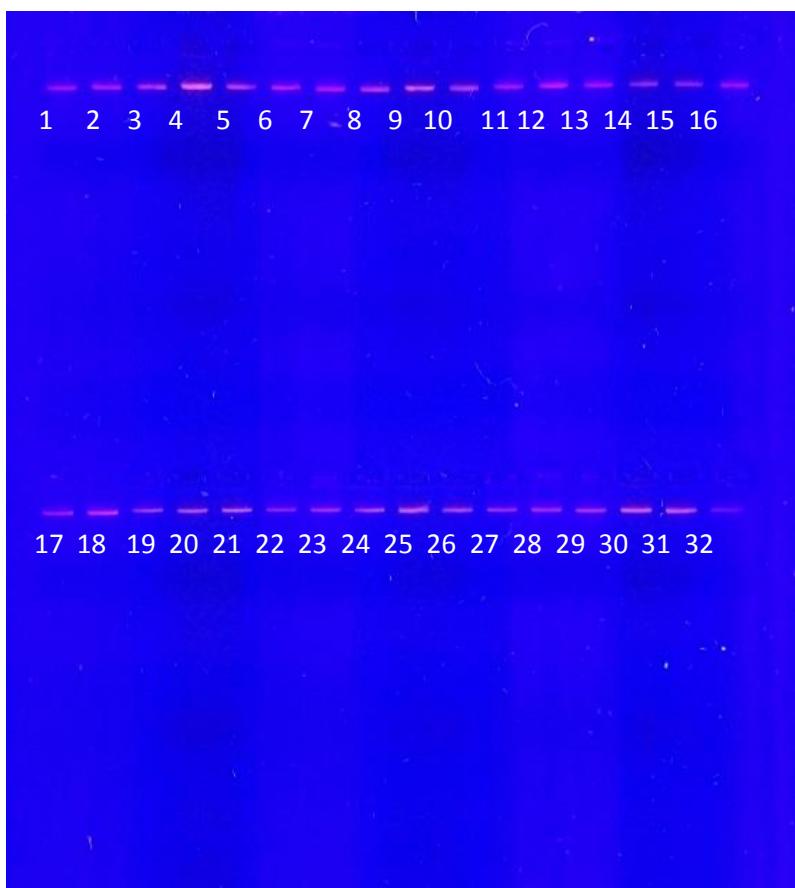


Figura 7. Gel de agarosa al 2%, para verificar integridad de ADN extraído

Como resultado de la genotipificación se obtuvieron los gráficos representativos de la discriminación alélica de cada gen, en color azul y rojo se representan los genotipos homocigotos, el color verde representa los genotipos heterocigotos, y el color negro representa a los controles negativos (sin ADN) (Figs. 8,9 y 10)

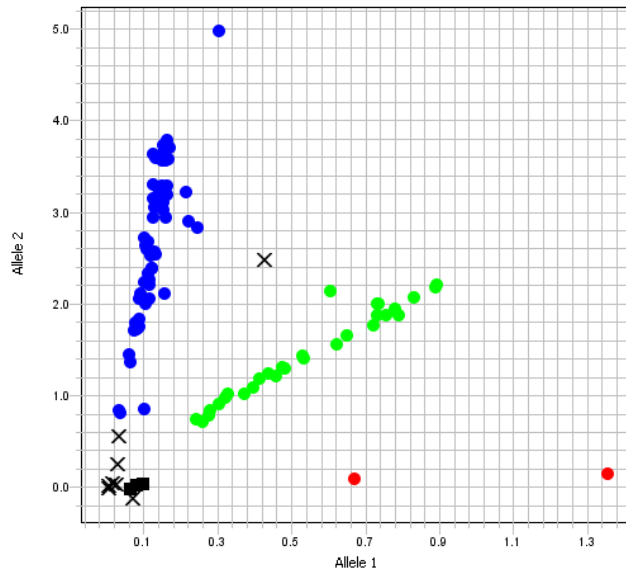


Figura 8. Gráfico representativo de la discriminación alélica del gen *FTO*

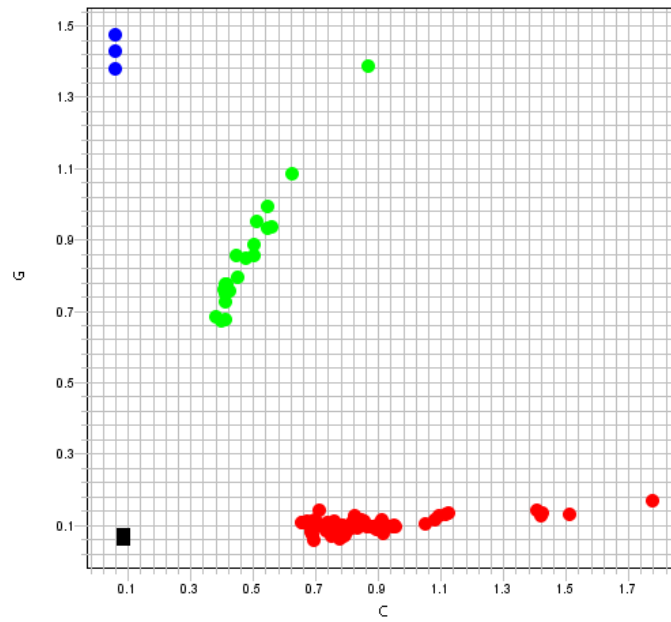


Figura 9. Gráfico representativo de la discriminación alélica del gen *PPARG*

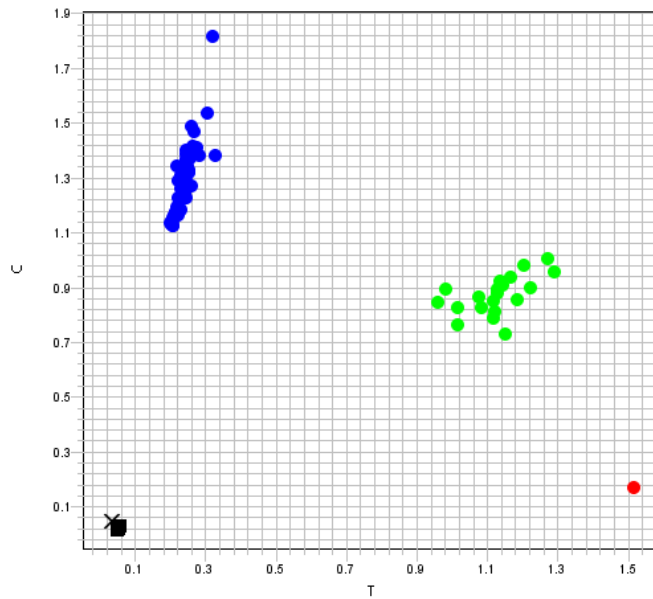


Figura 10. Gráfico representativo de la discriminación alélica del gen *ABCA1*

La frecuencia de genotipos para los tres genes se presenta en los gráficos 11, 12 y 13. Para el gen *FTO* el genotipo con mayor frecuencia es el homocigoto para T, que corresponde al alelo silvestre.

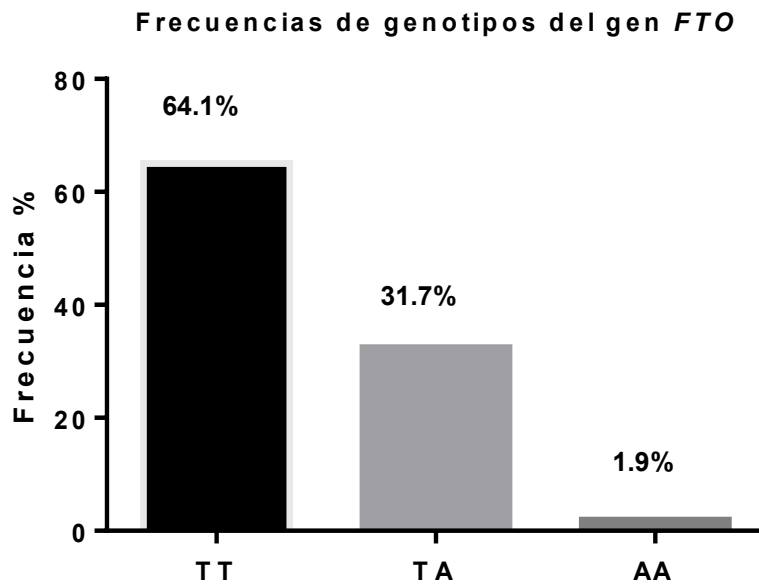


Figura 11. Frecuencia de genotipos del gen *FTO*.

Para el gen *ABCA1* el genotipo predominante es el homocigoto para C, que de igual forma corresponde al alelo silvestre.

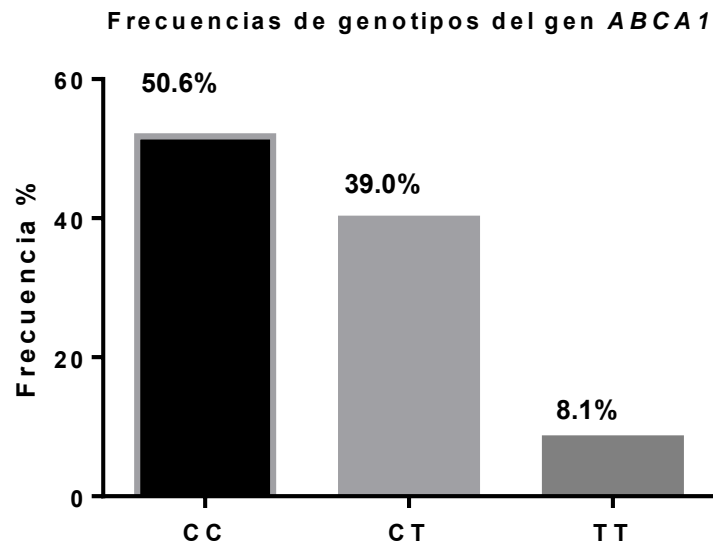


Figura 12. Frecuencia de genotipos del gen *ABCA1*.

Para el gen *PPARG* el genotipo de mayor frecuencia es el homocigoto para C, el cual corresponde al alelo de riesgo.

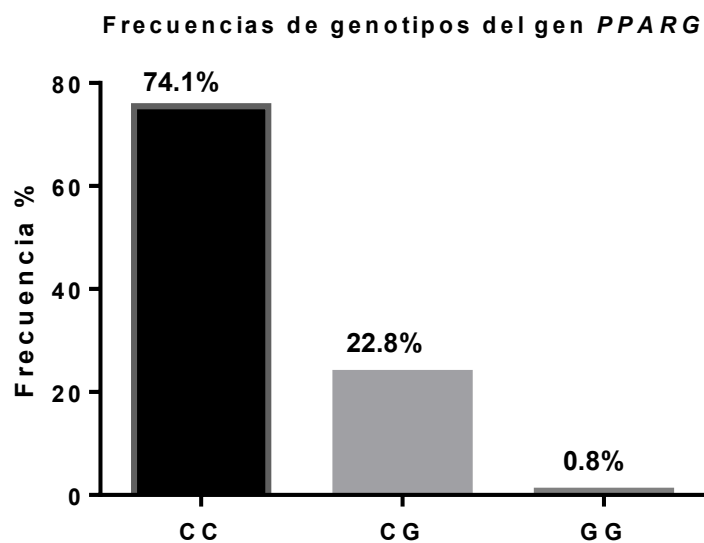


Figura 13. Frecuencia de genotipos del gen *PPARG*.

Se determinó el equilibrio de Hardy-Weinberg para los tres polimorfismos y no se encontraron desviaciones en ningún caso ($\chi < 3.84$). Tabla 6

Tabla 6. Determinación del equilibrio de Hardy-Weinberg por medio de la prueba Chi cuadrada.

<i>FTO</i> (rs9939609)		
Genotipo	N	p= 0.82
TT	166	q= 0.18
TA	82	$\chi = 2.02^*$
AA	5	
<i>ABCA1</i> (R230C)		
Genotipo	N	p= 0.72
CC	131	q= 0.28
CT	101	$\chi = 0.061^*$
TT	21	
<i>PPARG</i> (P12A)		
Genotipo	N	p=0.87
CC	191	q=0.13
CG	60	$\chi=1.36^*$
GG	2	

* $\chi < 3.84$

X. Valor de chi.

En cuanto a las frecuencias alélicas, se presentan en la Tabla 7 para el rs9939609 del gen *FTO* la mayor frecuencia alélica corresponde para el alelo silvestre, T 81.8%, para el R230C del gen *ABCA1* igualmente es el alelo silvestre, C, en 71.7%, y para P12A del gen *PPARG* la mayor frecuencia alélica corresponde al alelo de riesgo 87.4%.

Tabla 7. Frecuencias alélicas

Gen	Polimorfismo	Alelo silvestre	Alelo de riesgo*
<i>FTO</i>	rs9939609	T 81.8%	A 18.2%
<i>ABCA1</i>	R230C	C 71.7%	T 28.3%
<i>PPARG</i>	P12A	G 12.6%	C 87.4%

Asociación de los genotipos con parámetros de SM

Mediante el modelo lineal general univariante se analizó si existe correlación entre los polimorfismos estudiados y los parámetros del SM, a través de los modelos dominante, recesivo y aditivo. En la Tabla 8 se presentan los resultados para el polimorfismo rs9939609 del gen *FTO* con los parámetros de SM: C-HDL, PC de cintura, triglicéridos y PC de presión sistólica. No se observó una diferencia significativa entre los portadores de la variante y los que no la portan con los diferentes parámetros evaluados.

En la Tabla 9 se presentan los resultados del análisis para evaluar la asociación entre el polimorfismo R230C del gen *ABCA1* con los parámetros C-HDL, PC cintura, triglicéridos y PC presión sistólica, se observó una diferencia significativa entre los portadores de la variante y los que no la portan ($p < 0.050$) en las concentraciones de C-HDL con los modelos de herencia recesivo ($p = 0.016$) y aditivo ($p = 0.041$); los estadísticos descriptivos revelan que los portadores de la variante de riesgo presentan una menor concentración de C-HDL.

Así mismo, también se observó una diferencia significativa en los valores de PC de cintura con los modelos de herencia recesivo ($p = 0.005$) y aditivo ($p = 0.014$); los

estadísticos descriptivos revelan que los portadores de la variante de riesgo presentan un valor mayor de PC de cintura.

Finalmente también se observó diferencia significativa en los valores de PC de presión sistólica con los modelos de herencia recesivo ($p < 0.001$) y aditivo ($p = 0.001$); los estadísticos descriptivos revelan que los portadores de la variante de riesgo presentan un valor mayor de PC de presión sistólica.

En la Tabla 10 se presentan los resultados del análisis estadístico para evaluar si existe asociación entre el polimorfismo P12A del gen *PPARG* con los parámetros C-HDL, PC cintura, triglicéridos y PC presión sistólica, se observó una diferencia significativa entre los portadores de la variante y los que no la portan ($p < 0.050$) en las concentraciones de triglicéridos con el modelo de herencia dominante ($p = 0.021$), los estadísticos descriptivos muestran que los portadores de la variante de riesgo presentan una mayor concentración de triglicéridos.

Tabla 8. Relación de los parámetros de SM con el polimorfismo rs9939609 (*FTO*) de acuerdo a los modelos de herencia.

<i>FTO</i> (rs9939609)												
Modelo de herencia	Genotipo	N	C-HDL (mg/dL)		PC cintura		Glucosa (mg/dL)		Triglicéridos (mg/dL)		PC presión sistólica	
			Media	p	Media	p	Media	p	Media	p	Media	p
Dominante	TT	166	47.08± 10.12	0.747	46.32± 29.64	0.750	93.07± 5.62	0.350	101.47 ± 45.41	0.816	64.49± 26.93	0.968
	TA/AA	87	47.53± 10.90		45.06± 30.07		92.37± 5.81		100.07 ± 45.45		64.64± 27.70	
Recesivo	TT/TA	248	47.29± 10.33	0.597	45.96± 29.72	0.769	92.90± 5.66	0.150	100.67 ± 44.03	0.432	64.26± 27.27	0.259
	AA	5	44.80± 13.35		42.0± 33.47		89.20± 6.22		116.80 ± 97.07		78.14± 20.03	
Aditivo	TT	166	47.08± 10.12	0.791	46.32± 29.64	0.425	93.07± 5.62	0.285	101.47 ± 45.41	0.680	64.49± 26.43	0.521
	TA	82	47.70± 10.81		45.24± 30.07		92.56± 5.77		99.05± 41.34		63.82± 28.07	
	AA	5	44.80± 10.38		42.0± 33.47		89.20± 6.22		116.8± 97.07		78.14± 20.03	

*Diferencia significativa $p < 0.050$

C-HDL. Colesterol de alta densidad.

PC. Percentil.

P. Diferencia estadística.

Tabla 9. Relación de los parámetros de SM con el polimorfismo R230C (ABCA1) de acuerdo a los modelos de herencia.

ABCA1 (R230C)												
Modelo de herencia	Genotipo	N	HDL (mg/dL)		PC cintura		Glucosa (mg/dL)		Triglicéridos (mg/dL)		PC presión sistólica	
			Media	p	Media	p	Media	p	Media	p	Media	p
Dominante	CC	131	48.18± 10.52	0.136	45.51 ± 28.47	0.840	93.29± 5,25	0.183	101.50 ± 45.54	0.350	61.36± 26.95	0.058
	CT/TT	122	46.23± 10.17		46.27 ± 30.63		92.34± 6.11		98.22± 44.02		67.94± 27.13	
Recesivo	CC/CT	232	47.71± 10.50	0.016 *	44.29± 29.14	0.005 *	92.76± 5.74	0.534	100.97 ± 45.47	0.979	62.67± 27.26	<0.01*
	TT	21	42.05± 7.18		63.33± 30.71		93.57± 5.18		101.24 ± 44.91		84.60± 16.26	
Aditivo	CC	131	48.18± 10.52	0.041 *	45.51± 28.97	0.014 *	93.29± 5.25	0.227	103.56 ± 46.54	0.611	61.36± 26.95	0.001 *
	CT	101	47.10± 10.50		42.72± 29.54		92.08± 6.28		97.54± 44.03		64.37± 27.71	
	TT	21	42.05± 7.18		63.33± 30.71		93.57± 5.18		101.24 ± 44.91		84.60± 16.26	

*Diferencia significativa p<0.050

C-HDL. Colesterol de alta densidad.
PC. Percentil.
P. Diferencia estadística.

Tabla 10. Relación de los parámetros de SM con el polimorfismo *P12A* (PPARG) de acuerdo a los modelos de herencia.

PPARG (P12A)												
Modelo de herencia	Genotipo	N	HDL (mg/dL)		PC cintura		Glucosa (mg/dL)		Triglicéridos (mg/dL)		PC presión sistólica	
			Media	p	Media	p	Media	p	Media	p	Media	P
Dominante	CC	192	47.09± 10.85	0.697	46.93± 30.36	0.326	92.84± 5.90	0.966	104.64 ± 47.54	0.021*	63.52± 27.60	0.304
	CG/GG	61	47.69± 8.77		42.62± 27.68		92.80± 4.99		89.33± 35.43		67.65± 25.86	
Recesivo	CC/CG	251	47.27± 10.41	0.610	45.91± 29.71	0.872	92.78± 5.69	0.157	101.20 ± 45.39	0.417	64.51± 27.25	0.847
	GG	2	43.50± 0.707		42.50± 45.96		98.50± 0.71		75.0± 39.60		68.25± 24.39	
Aditivo	CC	192	47.09± 10.85	0.784	46.93± 30.36	0.618	92.84± 5.90	0.356	104.64 ± 47.54	0.063	63.52± 27.60	0.590
	CG	59	47.83± 8.88		42.63± 27.50		92.61± 4.96		89.81± 35.56		67.63± 26.10	
	GG	2	43.50± 0.707		42.50± 45.96		98.50± 0.71		75.0± 39.60		68.25± 24.39	

*Diferencia significativa p<0.050

C-HDL. Colesterol de alta densidad.
PC. Percentil.
P. Diferencia estadística.

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se evaluó la frecuencia y asociación de tres polimorfismos (rs9929609, R230C y P12A) con los parámetros de SM: C-HDL, PC cintura, triglicéridos y PC presión sistólica en población infantil mexicana.

Se determinaron los parámetros bioquímicos de todas las muestras, y medidas antropométricas de todos los niños y a partir de ellos, tomando en cuenta los criterios de Ferranti se determinó que la frecuencia del SM en la población de estudio, fue de 20.46%. En un estudio realizado en población mexicana entre 7 y 24 años de edad de Cuernavaca, Morelos y Toluca, Estado de México, se encontró una prevalencia de SM de 19.6%, se utilizaron los criterios de ATPIII (Castillo et al., 2007), estos resultados aunque son similares a los encontrados en el presente estudio, no pueden considerarse iguales, debido a los criterios y puntos de corte que se toman en cuenta, sin embargo si nos dan un panorama de la gravedad del problema en la población infantil mexicana. Comparando estudios similares en otras poblaciones, Costa y cols. encontraron una prevalencia de SM de 12.8% en niños entre 7 y 14 años de Brasil tomando en cuenta los criterios de Ferranti. La razón por la que la población mexicana infantil presenta mayor prevalencia de SM, puede ser causa de los factores genéticos que particularmente se presentan en México.

El parámetro encontrado con mayor frecuencia en la población fue la hipertrigliceridemia (42.1%), seguido del valor elevado del PC de cintura (31.3%), baja concentración de C-HDL (22.0%), PC de presión sistólica elevado (20.8%) y finalmente hiperglicemia (14.3%). En el estudio ya mencionado de Costa y cols. dónde se tomaron en cuenta los mismos criterios, de Ferranti, se halló como parámetro de mayor frecuencia la baja concentración de C-HDL (58,2%), seguido por la hipertrigliceridemia (41,8%), presión arterial aumentada (29,1%), circunferencia de la cintura aumentada (26,7%) e hiperglicemia (7,2%).

El parámetro con similar frecuencia en ambas poblaciones es la hipertrigliceridemia; sin embargo los parámetros restantes se encuentran en frecuencias diferentes.

Se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre la población con SM y sin SM, en cuatro parámetros, el PC de cintura el cuál fue mayor en la población con SM, el PC de presión sistólica, que también fue mayor en la población con SM pero es menor al PC90 y la concentración de C-HDL la cual es menor a 40 mg/dL, en los valores de triglicéridos, la población con SM presentó concentraciones mayores (Tabla 5), como se puede observar la mayoría de estos parámetros son factores de riesgo para desarrollar enfermedad cardiovascular.

De la genotipificación realizada, no se encontró desviación para el equilibrio de Hardy-Weinberg de ninguno de los polimorfismos en estudio (Tabla 6).

Para el gen *FTO* el genotipo con mayor frecuencia es el homocigoto TT, 64.1%, que corresponde al alelo silvestre, seguido del genotipo heterocigoto AT, 31.7%, y finalmente el genotipo homocigoto AA, 1.9%. Estos resultados tienen la misma tendencia que los encontrados en población mexicana adulta, no obesa y no diabética, TT 66.8%, AT 29.9% y AA 3.32%. Así mismo la frecuencia del alelo de riesgo A, 18.2%, es similar con la descrita en la población mencionada, 16.7%. (Canizales et al., 2008). Respecto al análisis de asociación realizado, el polimorfismo rs9939609 del gen *FTO* no presenta asociación con ninguno de los parámetros del SM (Tabla 8). Se ha informado que el rs9939609 se asocia con obesidad tipo 3, mórbida, y ninguno de los niños de estudio presenta este grado de obesidad.

Para el gen *ABCA1* el genotipo con mayor frecuencia es el homocigoto CC, 50.6%, que corresponde al alelo silvestre, seguido del genotipo heterocigoto CT, 39.0%, y el genotipo homocigoto TT, 8.1%. Los datos en población mestizo-mexicana entre 6 y 15 años de edad indican que el genotipo homocigoto CC se presenta en el 80.5% de la población, mientras que el genotipo CT 17.6% y el genotipo TT en 1.6% de esta (Canizales et al., 2010). Los resultados obtenidos en esta población revelan una mayor frecuencia para los genotipos CT y TT, aquí es importante mencionar que la población de Chimalhuacán está conformada por migrantes de varios estados del país, por lo que esta diferencia en la aparición de frecuencias respecto a una población mestiza mexicana pueda deberse a este fenómeno, prueba de ello es lo

encontrado en población Maya (Lara et al., 2015) donde el alelo de riesgo (T) se encuentra en 28.3% y en nuestro estudio en 20.3%.

Se sabe que el gen *ABCA1* codifica para una proteína transportadora de unión a ATP tipo cassette, relevante en el flujo de salida del colesterol, y la transferencia de éste, de las células periféricas hacia ApoA1, paso inicial de la formación de las HDL. En el presente estudio se encontró una correlación del polimorfismo R230C con concentraciones bajas de C-HDL, mediante los modelos de herencia recesivo ($p=0.016$) y aditivo ($p=0.041$). Además el genotipo que presenta las concentraciones más bajas de C-HDL es el homocigoto TT, 42.05 ± 7.18 mg/dL. Se ha descrito en población mexicana que el polimorfismo R230C del gen *ABCA1* correlaciona con niveles bajos de C-HDL (Canizales et al., 2007). Se sabe que el origen de la población mexicana y algunas latinoamericanas fue resultado de una mezcla de población española y nativos americanos; sin embargo en la población infantil española los niveles de C-HDL que se presentan son mayores (55-60 mg/dL) (Canizales, et al., 2010) comparados con los de la población mexicana (38-45mg/dL), además se ha informado que el principal tipo de dislipidemia en México son los niveles bajos de C-HDL en adolescentes y adultos (Canizales et al., 2010), por tanto la clara diferencia de los valores que presenta la población mexicana puede ser a causa de los factores genéticos pues las poblaciones mestizo latinoamericanas con un componente de ancestría amerindio comparten variantes genéticas que confieren un mayor riesgo a presentar alteraciones metabólicas como niveles bajos de C-HDL (Canizales et al., 2010). Asimismo se encontró que el polimorfismo R203C también se asoció con un valor por debajo del percentil 90 de presión sistólica, mediante el modelo aditivo ($p=0.001$) es decir se encuentra dentro de los valores de referencia, sin embargo es importante mencionar que es un valor mayor al que no posee la variante de riesgo.

Para el gen *PPARG* el genotipo con mayor frecuencia es el homocigoto CC ,74.1%, seguido del genotipo heterocigoto CG, 22.8%, y el genotipo homocigoto GG, 0.8%. En población mestiza, el genotipo homocigoto CC se presenta en el 80.2% de la población, el genotipo heterocigoto CG, 19.8%, y el genotipo homocigoto GG, 0.0%

(Canizales, et al., 2007). En población maya, el genotipo homocigoto CC se presenta en el 72.5% de la población, el genotipo heterocigoto CG, 23.5%, y el genotipo homocigoto GG, 3.9% (Canizales et al., 2007). Los resultados obtenidos en el presente estudio siguen una tendencia similar a lo encontrado en dichas poblaciones. Es importante mencionar que los resultados obtenidos también tienen una tendencia similar a los reportados en un estudio llevado a cabo en población caucásica, que indican que el genotipo homocigoto CC se presenta en el 71.8% de la población, el genotipo heterocigoto CG se presenta en 24.5% y el genotipo homocigoto GG se presenta en el 2.5% de la población de estudio (Kruzliak et al., 2015). Se ha descrito que el alelo de riesgo C confiere un riesgo de presentar diabetes tipo 2, en la población estudiada se encuentra en una proporción de 87.4%, lo cual es de gran relevancia ya que al ser un alelo de susceptibilidad la población en riesgo deberá ser tratada con medidas preventivas ya que en un futuro puede presentar tal enfermedad. Cabe mencionar que el alelo C se presenta en el 85% de la población caucásica también (Altshuler et al., 2000). Por el contrario el alelo G, en menor proporción (12.6%), provee un efecto protector de diabetes tipo 2 (Altshuler et al., 2000). En estudios realizados en población caucásica el alelo G se presenta del 5.9% a 21.6% (media de 12.7%) (Pörksen, et al., 2008) en población asiática se presenta del 1.7% a 9.3% (media de 4.5%) (Gouda et al., 2010). La frecuencia que se encontró en el presente estudio es similar a lo mencionado en los estudios anteriores. En este estudio, la variante de riesgo C se asoció con niveles elevados de triglicéridos ($p=0.021$), mediante el modelo dominante, se ha descrito que este polimorfismo se asocia con una disminución de la actividad y expresión de la lipoproteína lipasa, la cual hidroliza a los triglicéridos circulantes (Schneider, 2002), por lo que puede haber un aumento de los niveles de triglicéridos debido a la disminución de su hidrólisis. Asimismo se ha descrito que el gen *PPARG* participa en la diferenciación de los adipocitos y promueve la formación de los adipocitos maduros que contienen triglicéridos. (Meirhaeghe & Amouyela, 2004), por lo que posiblemente al presentar la variante de riesgo tal proceso pueda verse afectado y se refleje en un mayor nivel de triglicéridos.

CONCLUSIONES

La evaluación de los parámetros que caracterizan al SM en la etapa infantil, permite la prevención del mismo y que en la edad adulta, exista un menor riesgo de que presenten enfermedades crónico degenerativas no transmisibles como las cardiovasculares y la diabetes tipo 2.

Se encontró una alta frecuencia de SM en la población infantil estudiada del Municipio de Chimalhuacán.

En este estudio se encontró la correlación del polimorfismo R230C del gen *ABCA1* con parámetros del SM en niños: con concentraciones bajas de C-HDL, a través de los modelos de herencia recesivo ($p=0.016$) y aditivo ($p=0.041$), se asoció con mayor percentil de cintura mediante el modelo recesivo ($p=0.005$) y el modelo aditivo ($p=0.014$). También con mayores valores del percentil de la presión sistólica mediante el modelo aditivo ($p=0.001$).

El polimorfismo P12A del gen *PPARG* se correlacionó con concentraciones elevadas de triglicéridos ($p=0.021$), el alelo que se presentó en el 87.4% de la población de estudio, se ha reportado como un factor de riesgo de diabetes tipo 2.

La evaluación de los factores del SM mediante herramientas genéticas en poblaciones vulnerables donde el medio ambiente influye en conjunción con los factores genéticos serán muy importantes para sugerir medidas preventivas que ayuden a disminuir los factores de riesgo para desarrollar enfermedades crónico degenerativas en un futuro en la población infantil.

ANEXO I



**HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA
ACEPTACION DE PROTOCOLO/TESIS DE INVESTIGACION**



México D. F., a 11 de MARZO de 2014

M. EN C. GUADALUPE ORTIZ LOPEZ
LAB. ENDOCRINOLOGIA MOLECULAR

PRESENTE


Por medio de este conducto le informo que los Comités de ÉTICA
INVESTIGACION y BIOSEGURIDAD evaluaron su Protocolo/Tesis:

EVALUACION DEL ESTADO NUTRICIONAL EN NIÑOS DE CHIMALHUACÁN: ABORDAJE ANTROPOMETRICO, BIOQUIMICO Y MOLECULAR.

y de acuerdo a los investigadores revisores dictaminaron **Aceptarlo**, asignándole el número de registro: HJM 2315/14-C.

Por lo tanto se autoriza su realización y deberá renovarse su vigencia en 2015.

**ATENTAMENTE
DIRECTOR DE INVESTIGACION**


DR. EN C. GUSTAVO ACOSTA ALTAMIRANO

ENTERADO


**MEDICO INVESTIGADOR
INVESTIGADOR RESPONSABLE/TUTOR**

Notas:

- 1.- Esto me comprometo a informar trimestralmente del avance del proyecto en el Área de Registro de Protocolos y Seguimiento de la Dirección de Investigación y Enseñanza.
- 2.- A partir de la fecha de aprobación del protocolo los investigadores tienen dos años para publicar resultados en revistas de nivel III.

c.c.p. _____

GAAARMN

HJM-DIE-FOR-014-AP

ANEXO II



SALUD
SECRETARÍA DE SALUD



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO
LABORATORIO DE ENDOCRINOLOGÍA MOLECULAR

CARTA CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN LA INVESTIGACIÓN:

"Evaluación del estado de salud y nutrición en escolares de Chimalhuacán"

Chimalhuacán, Estado de México., a _____

A QUIEN CORRESPONDA:

El (la) que suscribe _____ de ____ años, acepto la participación en forma libre y voluntaria que mi hijo (a) _____ participe en el estudio "Evaluación del estado de salud y nutrición en escolares de Chimalhuacán", cuyo propósito es conocer el estado de salud y nutrición de los escolares del municipio de Chimalhuacán, para lo cual se tomará la presión arterial, talla, peso, circunferencia de cintura y cadera, así como una muestra de sangre (5 mL) para evaluar sus concentraciones de colesterol, colesterol-HDL, triglicéridos, glucosa, insulina y hemoglobina. También responderé un cuestionario por escrito sobre los hábitos alimenticios de mi hijo.

Tengo conocimiento que este estudio se lleva a cabo por parte de una colaboración entre la Facultad de Química de la UNAM, el Hospital Juárez de México y los servicios de Salud del Municipio de Chimalhuacán, Estado de México.

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 del participante

Dirección: _____

Firma del investigador: _____

Testigo 1: _____

Testigo 2: _____

ANEXO III



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO Y EL HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO

La Universidad Nacional Autónoma de México en colaboración con el Hospital Juárez de México está realizando un estudio de síndrome metabólico que incluye la evaluación de factores de riesgo como el estado nutricional, obesidad y herencia en niños de primaria del Estado de México.

DATOS GENERALES DEL ALUMNO						
Nombre						
Lugar de nacimiento				Fecha de nacimiento		
Peso al nacer			Grado escolar			
ANTECEDENTES FAMILIARES						
Padece o padeció de: (marcar SÍ con √; NO con X)						
Familiar	Lugar de nacimiento*	DIABETES	OBESIDAD	DISLIPIDEMIA*	HTA*	
Padre						
Madre						
Abuelo materno						
Abuela materna						
Abuelo paterno						
Abuela materna						

*Especificar el municipio o ciudad y estado de nacimiento. Dislipidemia = niveles elevados de colesterol o triglicéridos, bajos niveles de colesterol-HDL. HTA = hipertensión arterial

1.- ¿Tienes hermanos en tu escuela?

Sí / NO

Sí: nombre del hermano (a) _____

2.- ¿Tú o tus padres hablan otra lengua que no sea el español? ¿Cuál?

SOMATOMETRÍA

Peso (Kg)	
Talla (cm)	
Circunferencia abdominal (cm)	
Presión arterial 1 mmHg	
Presión arterial 2 mmHg	

FRECUENCIA DE ALIMENTOS

Instrucciones: marque con una X el espacio donde indique la frecuencia con que come cada alimento de la lista.

ALIMENTO	MENOS DE UNA VEZ A LA SEMANA	DOS A CUATRO VECES A LA SEMANA	DIARIO (cantidad)
Aceite			
Aderezos (como mayonesa)			
Cacahuates			
Café			
Dulces, chocolates			
Carne roja			
Frutas			
Galletas			
Guisados			
Jugos de fruta			
Helado			
Huevo			
Leche o yogur			
Leguminosas			
Manteca			
Margarina			
Pan dulce			
Pan blanco o cereal			
Papa, pasta o arroz			
Pescado, atún, sardina			
Pavo o pollo			
Queso			
Refresco			
Tacos o tortas			
Tamales			

BIBLIOGRAFÍA

- Alberti, G. & Zimmet, P., 2006. *The IDF consensus world wide definition of the Metabolic Syndrome*, s.l.: International Diabetes Federation.
- Alberti, G. & Zimmet, P., 2007. *Metabolic Syndrome in children and adolescents*. s.l.:International Diabetes Federation.
- Altshuler, D. y autores, 2000. The common PPARgamma Pro12Ala polymorphism is associated with decreased risk of type 2 diabetes. *Nature Genetics*, Volumen 26: 76-80.
- Auwerx, J., 1999. PPAR γ , the ultimate thrifty gene.. *Diabetologia* , 42: 1033-1049.
- Brewer, B. y autores, 2004. Regulation of Plasma High-Density Lipoprotein Levels by the ABCA1 Transporter and the Emerging Role of High-Density Lipoprotein in the Treatment of Cardiovascular Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* , 24: 1755-1760.
- Canizales, C. y autores, 2007. Association of PPARG2 Pro12Ala Variant with Larger Body Mass Index in Mestizo and Amerindian Populations of Mexico. *Human Biology*, 79(1): 111-119.
- Canizales, S., Aguilar, C., Tusié, T. & et.al, 2008. The FTO Gene Is Associated With Adulthood Obesity in the Mexican Population. *Obesity*, 16(10): 2296–2301.
- Canizales, S., Baier, L., Hayden, M. & et.al., 2010. A functional ABCA1 gene variant is associated with low HDL-cholesterol levels and shows evidence of positive selection in Native Americans. *Human Molecular Genetics*, 19(14): 2877–2885.
- Canizales, S. y autores, 2010. Association of R230CABCA1 gene variant with low HDL-C levels and abnormal HDL subclass distribution in Mexican school-aged children. *Clinica Chimica Acta* 411, 411: 1214–1217.
- Canizales, S. y autores, 2007. The ATP-Binding Cassette Transporter A1 R230C Variant Affects HDL Cholesterol Levels and BMI in the Mexican Population. Association With Obesity and Obesity-Related Comorbidities. *Diabetes*, 56: 1881-1887.
- Castillo, E. y autores, 2007. Body Mass Index and the Prevalence of Metabolic Syndrome among Children and Adolescents in Two Mexican Populations. *Journal of Adolescent Health*, 40: 521-526.
- Cecil, J., Watt, P., Palmer, C. & Hetherington, M., 2006. Balance energético y la ingesta de alimentos: El papel de los polimorfismos del gen PPARG. *Physiology & Behavior* , 88: 227-233.
- Chimalhuacán, g. d., 2015. *Gobierno de Chimalhuacán*. [En línea]
Disponible en: <http://www.chimalhuacan.gob.mx>
[Último acceso: 23 Agosto 2015].
- Chimalhuacán, G. d., 2015. *Gobierno de Chimalhuacán*. [En línea]
Disponible en: www.chimalhuacan.gob.mx
[Último acceso: 3 Marzo 2015].
- Choudhry, Z. y autores, 2013. Association between obesity-related gene FTO and ADHD. *Obesity*, 21(12): 738-744.

- Costa, J., Rodrigues, L., Portela de Santana, M. & da Conceição Monteiro da Silva, M., 2014. Metabolic syndrome and associated factors in children and adolescents of a Brazilian municipality. *Nutrición Hospitalaria*, 29(4): 865-872 .
- De Ferranti, S., MD, MPH & et.al, 2004. Prevalence of the Metabolic Syndrome in American Adolescents. Findings From the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Circulation*, 16(110): 2494-2497.
- Gil, Á., 2010. *Tratado de Nutrición*. 2ª ed. España: Médica Panamericana.
- González, A., Rosas, A. & Alvarado, R., 2002. Consenso Mexicano sobre el Tratamiento Integral. *Revista Mexicana de Cardiología*, 13(1): 4-30.
- Gouda, H. y autores, 2010. The Association Between the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-g2 (PPARG2) Pro12Ala Gene Variant and Type 2 Diabetes Mellitus: A HuGE Review and Meta-Analysis. *American Journal of Epidemiology. Human Genome Epidemiology*, 171(6): 645–655.
- Hess, M. & Brüning, J., 2014. The fat mass and obesity-associated (FTO) gene: Obesity and beyond?. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1842(203): 9-2047.
- IGECEM, 2011. *iiigecem*. [En línea]
Disponible en: <http://iiigecem.edomex.gob.mx/>
[Último acceso: 23 Agosto 2015].
- INEGI, 2015. *INEGI*. [En línea]
Disponible en: <http://www.inegi.org.mx/>
[Último acceso: 23 Agosto 2015].
- Iniestaa, R., Guinóa, E. & Morenoa, V., 2005. Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos. *Gaceta Sanitaria*, 19(4): 333-341.
- Jacobsson, J. y autores, 2008. Major gender difference in association of FTO gene variant among severely obese children with obesity and obesity related phenotypes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 368: 476–482.
- Kruzliak, P. y autores s, 2015. Polymorphisms of the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-γ (rs1801282) and its coactivator-1 (rs8192673) are associated with obesity indexes in subjects with type 2 diabetes mellitus. *Cardiovascular Diabetology*, 14(42).
- Lara, J. y autores, 2015. Diabetes susceptibility in Mayas: Evidence for the involvement of polymorphisms in HHEX, HNF4α, KCNJ11, PPARγ, CDKN2A/2B, SLC30A8, CDC123/CAMK1D, TCF7L2, ABCA1 and SLC16A11 genes. *Gene*, 565: 68-75.
- Meirhaeghea, A. & Amouyela, P., 2004. Impact of genetic variation of PPAR in humans. *Molecular Genetics and Metabolism*, 83: 93–102.
- Miller, A., Dykes, D. & Polesky, F., 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Reserch*, 16(3): 1215.
- Olaiz, F. G., 2006. *Encuesta Nacional de Salud y Nutricion*. Morelos, México: Instituto Nacional de Salud Publica.

- Orho, M., 2006 . El síndrome metabólico: estilo de vida, genética y origen étnico. *Diabetes voice*, 51(especial): 21-24.
- Pörksen, S. y autores, 2008. Variation within the PPARG gene is associated with residual beta-cell function and glycemic control in children and adolescents during the first year of clinical type 1 diabetes. *Pediatric Diabetes* , 9(1):297–302 .
- Qiaoxuan, W., 2013. Prevalence of metabolic syndrome in a cohort of Chinese schoolchildren: comparison of two definitions and assessment of adipokines as components by factor analysis. *BioMed Central Public Health* , 13(249).
- Rosen, E. y autores, 2002. EBPalpha induces adipogenesis through PPARgamma: a unified pathway.. *Genes & Development*, 16: 22-6.
- Samson, S. & Garber, A., 2014. Metabolic Syndrome. *Endocrinol Metab Clin* , 43: 1-23.
- Schneider, J. K. J. H. A. N. P. D. K., 2002. The proline 12 alanine substitution in the peroxisome proliferator-activated receptor- γ 2 gene. *Diabetes*, 51: 867–870.
- Sevilla, S., 2007. Metodología de los estudios de asociación genética. *Insuficiencia cardíaca*, 2(3): 111-114.
- Stančáková, A. & Laakso, M., 2014. Genetics of metabolic syndrome. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 15: 243-252.
- Stratigopoulos, G. y autores, 2011. Cut-like homeobox 1 (CUX1) regulates expression of the fat mass and obesity-associated and retinitis pigmentosa GTPase regulator-interacting protein-1-like (RPGRIP1L) genes and coordinates leptin receptor signaling. *Journal of Biological Chemistry*, 286: 2155-2170.
- Sundvold, H. L. S., 2001. Identification of a novel peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma promoter in man and transactivation by the nuclear receptor RORalpha1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 287: 383–390.
- Thankamony, A. & Williams, R., 2011. Metabolic Syndrome in children unravelled. *Pediatrics and Child Health*, 21(7): 301-305.
- Tontonoz, P. E. H. a. B. M. S., 1994. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR gamma 2, a lipid-activated transcription factor.. *Cell* , 79: 1147–1156.
- Velders, F. y autores, 2012. FTO at rs9939609, food responsiveness, emotional control and symptoms of ADHD in preschool children. *PLoS ONE* 7, 7: 49131.
- Vidal-Puig, A. y autores, 1997. Peroxisome proliferator-activated receptor gene expression in human tissues. Effects of obesity, weight loss, and regulation by insulin and glucocorticoids.. *Journal of Clinical Investigation*, 99(10): 2416-2422.
- Weiss, R., 2011. Childhood Metabolic Syndrome Must we define it to deal with it?. *Diabetes Care*, 34(2): 171-176.

Xiaoyuan, Z., Yue, S. & Lijun, W., 2014. An obesity genetic risk score is associated with metabolic syndrome in Chinese children. *Gene*, 535: 299-302.