



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

CAMPO DE CONOCIMIENTO: EPIDEMIOLOGÍA CLÍNICA

“EFECTO DE UNA VARIANTE DEL GEN *SIK3* SOBRE LA CONCENTRACIÓN POSTPRANDIAL DE TRIGLICÉRIDOS, GLUCOSA E INSULINA DESPUÉS DE UNA DIETA ALTA EN GRASA EN MEXICANOS”

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS
(EPIDEMIOLOGÍA CLÍNICA)**

PRESENTA:

LN MAGDALENA DEL ROCÍO SEVILLA GONZÁLEZ

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS:

Dr. Carlos Alberto Aguilar Salinas

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN “SALVADOR ZUBIRÁN”

RESPONSABLE DE CAMPO ACADÉMICO:

Dra. Patricia Elena Clark Peralta

HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO “FEDERICO GOMEZ”

CIUDAD DE MÉXICO, Octubre, 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

CONTENIDO

| | |
|---|----|
| 1.- ANTECEDENTES | 3 |
| 2.- PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN..... | 18 |
| 3.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 19 |
| 4.- JUSTIFICACIÓN | 20 |
| 5.- HIPÓTESIS..... | 20 |
| 6.- OBJETIVOS..... | 20 |
| 7.- METODOLOGÍA | 22 |
| 8.- TAMAÑO DE MUESTRA..... | 30 |
| 9.- OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES | 31 |
| 10.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO..... | 35 |
| 11.- ASPECTOS ÉTICOS | 36 |
| 12.- RESULTADOS | 37 |
| 13.- CONCLUSIÓN | 49 |
| 14.- DISCUSIÓN | 50 |
| 15.- CRONOGRAMA | 53 |
| 16.- REFERENCIAS..... | 54 |

1.- ANTECEDENTES

1.1 Epidemiología de la Hipertrigliceridemia

En las poblaciones de ascendencia amerindia, es reconocida la alta prevalencia de enfermedades metabólicas; específicamente la susceptibilidad de los hispanos a tener hipertrigliceridemia es un fenómeno ampliamente reconocido¹.

En los Estados Unidos, los hispanos son el grupo étnico con la prevalencia más alta de hipertrigliceridemia (40% en hombres y 34.9% en mujeres). Según datos de la Encuesta Nacional de Salud NHANES 1999-2004² Esta anormalidad es menos común en caucásicos (39% hombres y 31.6% mujeres) y afroamericanos (19.5% en hombres y 13.6% en mujeres) a pesar de estar expuestos a similares factores ambientales.

La contribución de hipertrigliceridemia como un componente del síndrome metabólico es substancialmente mayor en hispanos. El estudio CARMELA³ incluyó la estimación de la prevalencia del síndrome metabólico usando los criterios del *National Cholesterol Education Program III*, en donde la Hipertrigliceridemia estuvo presente en el 85.9% (95% IC 84.3%-87.6%) de los casos, en contraste esta anormalidad contribuyó al diagnóstico en solo 31.2% de los sujetos caucásicos con síndrome metabólico en la encuesta NHANES 1999 - 2004.

En México, según datos de la Encuesta Nacional de Salud del 2006⁴ la hipertrigliceridemia definida como un valor de triglicéridos ≥ 150 mg/dl después de un ayuno de 8 horas fue encontrada en un 31.5% (IC95% 29.3-33.9%) de la población. Fue más frecuente en adultos residentes de áreas metropolitanas y en la zona central del país y no estuvo afectada por el nivel educativo o el estatus socioeconómico.

La hipertrigliceridemia es el factor de riesgo cardiovascular más común en México⁵, se estima que hay 10.6 millones de mexicanos adultos con esta afectación y 6.1 millones de adultos con hiperlipidemia combinada (colesterol y triglicéridos elevados) que es el perfil lipídico asociado con un mayor riesgo de tener eventos cardiovasculares. La mayoría de los casos permanecen sin diagnosticar. En la actualidad, más del 60 % de los mexicanos adultos de 50 años o más están en riesgo de tener eventos cardiovasculares en función de sus concentraciones de colesterol y/o triglicéridos.⁴

1.2 Dislipidemia postprandial y riesgo cardiovascular

La enfermedad cardiovascular (ECV) es la principal causa de muerte en el mundo. Las muertes por ECV afectan por igual a ambos sexos, y más del 80% se producen en países de ingresos bajos y medios,⁶ en México, las enfermedades cardiovasculares que incluye enfermedad arterial coronaria (CAD), enfermedad cerebrovascular, enfermedad vascular periférica y enfermedad renal, debidas a aterosclerosis son la segunda causa de morbilidad y mortalidad.

Las dislipidemias son clínicamente importantes debido a su papel en la patogénesis de la enfermedad cardiovascular (ECV), la hipertrigliceridemia es una medida clínica que integra a las partículas ricas en triglicéridos que circulan en el suero, ya sea las sintetizadas en el intestino en forma de quilomicrones o las sintetizadas en el hígado en forma de VLDL's.⁷ La concentración de triglicéridos (TG) en suero, se ha establecido como un importante factor de riesgo cardiovascular independiente^{8 9 10 11}, y aunque tradicionalmente los elementos bioquímicos que integran el riesgo cardiovascular se han medido en estado de ayuno actualmente se reconoce la importancia del estado postprandial en el desarrollo y exacerbación de la enfermedad.

12 13 14 15

El estado de lipemia postprandial es caracterizado por un aumento de lipoproteínas ricas en triglicéridos después de comer, condición dinámica de estado no estacionario en el que los seres humanos pasan la mayor parte del tiempo, aproximadamente 18 horas¹³.

La evidencia epidemiológica, establece que un tiempo prolongado de residencia en el plasma, especialmente en el estado postprandial contribuye al aumento de la susceptibilidad cardiovascular mediante la retención de partículas remanentes en la pared de la arteria. Debido a su tamaño, la mayoría de las partículas remanentes no pueden cruzar el endotelio tan eficientemente como las lipoproteínas de baja densidad (LDL)¹⁵. Sin embargo, ya que cada partícula remanente contiene aproximadamente 40 veces más colesterol en comparación con el colesterol LDL, niveles elevados de restos pueden conducir a la aterosclerosis acelerada y con ello a la enfermedad cardiovascular.

1.3 Prueba de Tolerancia Oral a la Grasa

Para seguir la dinámica del metabolismo postprandial de las lipoproteínas ricas

en triglicéridos, se ha utilizado la prueba de tolerancia oral a la grasa (PTOG). En donde se administra una comida de prueba alta en grasa (50-70gr) posterior a un ayuno de 8 a 12 horas, para ser consumido en un lapso de 20 minutos ^{14 15}.

El primer aumento en las concentraciones de triglicéridos en sangre es de 10 a 30 minutos posterior al consumo de comida con grasa se produce antes de que la grasa del alimento haya sido absorbida en los enterocitos y es más probable que ocurra cuando la comida de la noche anterior era alta en grasa; este pico se le denomina “pico temprano” para diferenciarlo del pico principal postprandial que se produce de 3 a 4 horas después del inicio de la comida, mientras que las concentraciones de TG en VLDL’s permanecen relativamente constantes en un lapso de 4-6 horas ^{16 17}. El tiempo entre una comida y formación de los quilomicrones de TG almacenado en los enterocitos puede extenderse a por lo menos 16 h.

La respuesta postprandial de triglicéridos se analiza a partir de muestras de sangre secuenciales tomadas cada 1 o 2 horas por 6 u 8 horas, lo que puede ser interpretada como Área Bajo la Curva (ABC) o como área bajo la curva incremental (iABC) ¹⁵ la cual se calcula haciendo caso omiso de la concentración de la zona bajo el nivel en ayuno y solo tomando en cuenta el valor incremental

Datos tomados de un metanálisis ¹⁵ indican que una sola medición de triglicéridos a las 4 horas después de haberse suministrado el alimento durante la prueba de tolerancia oral a la grasa, puede ser utilizada como evaluación de la lipemia postprandial, y que una concentración de triglicéridos <220 mg/dL se puede considerar un valor deseable.

1.4 Determinantes de la lipemia postprandial

Factores fisiológicos

Edad: La lipemia postprandial es significativamente alta en personas mayores comparada con sujetos más jóvenes. ^{18 19}

Género: Evidencia ha demostrado que el incremento de triglicéridos postprandiales es mayor en hombres que en mujeres ^{18 19 20 21 22}, las mujeres pre menopáusicas tienden a tener menor respuesta postprandial que las post menopáusicas de mayor edad, esto debido a la deficiencia de estrógenos. ²³

Estilos de vida

Dieta.- La lipemia postprandial está modulada por la composición de la comida, en particular de las grasas, carbohidratos, fibra y proteínas. El contenido de grasa en una comida influye la respuesta postprandial incrementando los niveles de triglicéridos; el tipo de grasa afecta la composición de los quilomicrones y la subsecuente respuesta postprandial. Del mismo modo, el tipo de hidratos de carbono puede afectar la respuesta: la glucosa la reduce, y la sacarosa y la fructosa la incrementan. La adición de fibra puede disminuir la respuesta postprandial mediante el incremento del tránsito de lípidos a través del intestino y reduciendo la acumulación postprandial de los quilomicrones procedentes del intestino. El consumo de proteínas, por su parte, en conjunto con una comida alta en grasa parece reducir la lipemia postprandial, probablemente a través del incremento en la producción de insulina ²⁴.

Actividad física.- Los niveles de triglicéridos postprandiales están influenciados por la velocidad de aparición en la circulación y por la tasa de aclaramiento de triglicéridos por el músculo y el tejido adiposo, lo cual es afectado por la actividad de la Lipasa lipoproteica. ²⁵ En condiciones de reposo, después de una comida la lipasa lipoproteica es regulada en el tejido adiposo pero no en músculo. La actividad física incrementa la lipasa lipoproteica en músculo.

Fumar.- El hábito tabáquico se ha asociado con una respuesta postprandial alterada, los fumadores exhiben una mayor elevación de triglicéridos postprandiales en comparación con no fumadores, con defecto en el aclaramiento de quilomicrones y sus remanentes, resultando en prolongado tiempo de residencia de partículas aterogénicas en el plasma. ²⁶

Consumo de alcohol.- En sujetos normolipémicos, el etanol estimula la secreción hepática de partículas largas VLDL's que compiten con quilomicrones para su aclaramiento en el estado postprandial. ²⁷

Enfermedades

Obesidad.- Concentraciones anormales de lípidos sanguíneos son más frecuentes en casos con obesidad abdominal comparándolas con las personas con obesidad periférica. La obesidad abdominal se asocia con hipertrigliceridemia, colesterol HDL bajo, colesterol LDL discretamente elevado, predominio de las subclases pequeñas y densas de las LDL y de las subclases pequeñas de HDL. En contraste, la obesidad periférica se asocia con concentraciones bajas de triglicéridos y aumento en el nivel de colesterol HDL. ⁵ La obesidad por sí misma, representa un factor de riesgo cardiovascular independiente ²⁹, se ha observado un incremento en la respuesta postprandial incluso en sujetos con obesidad sin hipertrigliceridemia. ^{29 30}

Diabetes tipo 2.- El estado de hiperglucemia propio de la Diabetes, disminuye la secreción de insulina y aumenta la resistencia hepática a la hormona. En paralelo aumenta la cantidad de ácidos libres y sustratos para la síntesis de glucosa (glicerol), la combinación de estos factores aumenta la producción hepática de lipoproteínas.⁵ Del mismo modo que en la obesidad, se ha observado en sujetos con diabetes con buen control metabólico en ayuno, exhiben una respuesta postprandial alterada con un aumento de partículas VLDL's, disminución de la actividad de la lipasa lipoproteica³¹ Estos resultados sugieren que el estudio de la respuesta postprandial puede ser un mejor marcador del riesgo cardiovascular que los marcadores en ayuno.

Entre la población, la respuesta postprandial de triglicéridos tiene mayor variabilidad que los niveles de ayuno de triglicéridos³², y puede ser modulada por factores ambientales como los mencionados anteriormente y los factores genéticos que se enumeran a continuación.

1.5 Determinantes genéticos de la hipetrigliceridemia

En conjunto con las influencias ambientales, las variantes genéticas comunes o raras pueden colectivamente determinar las concentraciones de triglicéridos de un individuo. El conocimiento de la arquitectura genética, que es la contribución integrada de todas las variantes a la variabilidad de las concentraciones de triglicéridos se ha incrementado considerablemente a través de los resultados obtenidos de los estudios de asociación genética GWAS.³³ Un estudio de asociación del genoma completo GWA (*Genome-wide association study*) es un análisis de una variación genética a lo largo de todo el genoma humano con el objetivo de identificar su asociación a un rasgo observable. Al estudiar una gran cantidad de individuos, se pueden comparar datos genéticos entre ellos encontrando genes ligados a enfermedades o caracteres.³⁴

En 2013, Willer et al. examinaron 188, 577 individuos caucásicos y 7898 individuos de África y Asia, para identificar nuevos loci y refinar los loci conocidos que influyen sobre los lípidos; identificaron 157 loci asociados a lípidos, ($p < 5 \times 10^{-8}$) incluyendo 62 nuevos. Se asociaron 37 variantes genéticas con triglicéridos, 16 de ellas no asociadas con otras lipoproteínas (**Figura 1**). Los cuales en conjunto explican del 25 a 30% de la contribución genética a la variabilidad de triglicéridos.

Los genes con una asociación más fuerte fueron: *TRIB1*, *ANGPTL3*, *LPL*, *GCKR*,

| TABLA 1.- Estudios de genes candidatos sobre lipemia posprandial | | | | |
|--|------------------------------|---|---|--|
| Año/Autor | Gen/variante | Población | Resultados | Prueba utilizada |
| Moreno 2003 ³⁶ | ApoE variante -219 G/T | n=51 sujetos sanos españoles 18-49 años | Homocigotos (TT) tuvieron un aumento en la respuesta postprandial medida por el Área bajo la Curva (AUC) de triglicéridos (p=0.001) | PTOG: 11 Horas 60,000 UI de Vitamina A por m2 de superficie corporal 1grs de grasa y 7mg de colesterol por kg de peso 65% Lípidos 15% Proteína 25% Hidratos de Carbono |
| Pérez, 2007 ³⁷ | ApoB variante -516 C/T | n=47 sujetos sanos caucásicos Edad 23 + 4.1 | Portadores, presentan mayores concentraciones en el Área Bajo la Curva AUC de TG postprandiales (Lipoproteínas ricas en Tgaisladas por centrifugación (p=0.039) | PTOG: 11 Horas 60,000 UI de Vitamina A por m2 de superficie corporal 1grs de grasa y 7mg de colesterol por kg de peso 65% Lípidos 15% Proteína 25% Hidratos de Carbono |
| Olano, 2008 ³⁸ | APOA V Variante -1131 T/C | n= 259 Adultos sanos 20- 70 años 235 caucásicos 24 Afrocaribeños Sur Asiáticos | Heterocigotos presentan 21% de aumento en el Área bajo la Curva (AUC) de TG postprandiales (p=0.002) media 1= 326 media 2=358.5) $\Delta=32.5 = 10\%$ | PTOG: 8 horas Desayuno basal 931 kcal 111grs de Hidratos de Carbono 19gr de Proteínas 49gr de Lípidos 29.6 A las 5horas: Lunch 550 Kcal 63grs de Hidratos de Carbono 15gr de Proteínas 29grs de 14.3 Saturados |

PTOG: Prueba de Tolerancia Oral a la Grasa. PTOglu: Prueba de Tolerancia Oral a la Glucosa Kcal: Kilocalorías Kg: Kilogramos Mg: Miligramos Gr: Gramos

| TABLA 1 (Continuación) .- Estudios de genes candidatos sobre lipemia posprandial | | | | |
|--|---|---|--|---|
| Año/Autor | Gen/variante | Población | Resultados | Prueba utilizada |
| Jiménez 2008 ³⁹ | ANGIPL4 Variante -250 G/A | n=51 sujetos sanos españoles Edad 21.7 Media | Sujetos heterocigotos AG presentan una mayor Área Bajo la Curva (AUC) de lipoproteínas cortas ricas en TG (p=0.022) | PTOG: 11 Horas 60,000 UI de Vitamina A por m ² de superficie corporal 1grs de grasa y 7mg de colesterol por kg de peso 65% Lípidos 15% Proteína 25% Hidratos de Carbono |
| Talmud, 2008 ⁴⁰ | ANGPTL4 Variante T266M Variante E40K | n= 822 Casos= 407 Controles= 415 18-28 años Europeos de 4 regiones. Casos: Sujetos con riesgo cardiovascular incrementado por historial familiar de infarto | Los pacientes con riesgo cardiovascular incrementado mostraron estar asociados a un incremento en la respuesta posprandial de triglicéridos y de glucosa (p=0.023) y (p=0.003) respectivamente | PTOGlu: 2 horas 75grs de Glucosa Oral PTOG: 6 horas 1493Kcal 65.6grs de grasa 41.64gr de grasa saturada 56.2 Hidratos de Carbono 21.6 Proteínas |
| Delgado, 2010 ⁴¹ | ABCA1 Variante 27943 Variante 48168 Variante R219K | n=51 sujetos sanos españoles 18-33 años | Sujetos con el alelo A mostraron una mayor Área Bajo la Curva (AUC) de lipoproteínas cortas ricas en TG (p=0.022) comparados con los sujetos homocigotos | PTOG: 11 Horas 60,000 UI de Vitamina A por m ² de superficie corporal 1grs de grasa y 7mg de colesterol por kg de peso 65% Lípidos 15% Proteína 25% Hidratos de Carbono |

En 2015, Wojczynski⁴² y cols. Dieron a conocer el primer estudio GWAS relacionado con lipemia postprandial, con el objetivo de elucidar las variantes genéticas relacionadas con dicho rasgo fenotípico en individuos con ancestría europea, estudiaron 872 individuos, encontraron 111 asociaciones ($p < 1E-05$). Dos SNP's significativos ($p < 1E-08$) el rs12949451 y el rs964184, el cual se encuentra previamente asociado con niveles de triglicéridos en ayuno y cercano al conjunto *APOA1/C3/A4/A5*.

1.6 Escrutinio del genoma relacionado a triglicéridos en hispanos

A pesar de su reconocida predisposición, los mexicanos y otros grupos amerindios han sido poco representados en estudios genómicos.⁴³ En el caso de las dislipidemias la replicación de asociaciones derivadas de GWAS cobra gran importancia considerando la alta prevalencia de esta enfermedad en poblaciones como la latina, siendo un factor de riesgo modificable para enfermedad coronaria (la principal causa de muerte en el mundo).

En los últimos treinta años, la población mexicana (como un gran porcentaje de países de América Latina) se concentró en los principales centros urbanos. Los hábitos alimenticios han sido modificados, aumentando el consumo de calorías, grasas y azúcares simples en conjunto con una disminución de la actividad física.⁴⁴

A pesar de que se han producido estos cambios de estilo de vida en muchas áreas del mundo, es notable el mayor impacto que se produjo en poblaciones derivadas de amerindios. Los hispanos que viven en los EE.UU. y los mexicanos son buenos ejemplos de este fenómeno¹ En México la prevalencia de obesidad aumentó de 20.9 % en 1994 a 32.4% en 2012⁴⁵ El estudio de los determinantes genéticos de la hipertrigliceridemia en las poblaciones amerindias que tienen o han tenido grandes cambios en su estilo de vida, puede llegar a ser un gran recurso para identificar nuevos genes y vías asociadas con la hipertrigliceridemia.¹

Solo dos estudios GWAS relacionados a lípidos han incluido muestras de hispanos. En uno de los dos estudios se identificó la contribución de la variante *MLXIPL*, participaron 4568 individuos, la asociación con triglicéridos fue encontrada en 13 SNPs; cuatro de ellas en la región *MLXIPL* el grupo étnico con mayor prevalencia del riesgo fueron los mexicanos. Este cambio genético es común en la población amerindia y no se encuentra en otros grupos étnicos⁴⁶

Weissglass-Volkov publicaron un reporte de dos etapas de GWAS en el que se incluyeron mexicanos casos y controles, cuyo objetivo era determinar cuáles variantes eran compartidas entre la población. Los casos fueron individuos mestizos con triglicéridos en plasma >200mg/dl sin hipolipemiantes, comorbilidades y ninguna causa secundaria. Los controles sujetos sanos mestizos con triglicéridos <150mg/dl. La señal más fuerte se identificó en *APOA5*, *GCKR*, y *LPL* seguido de *ANGPTL3*, *TIMD4-HAVCR1*, *MLXIPL* y *CILP2*. La prevalencia de la susceptibilidad del alelo de *APOA5*, *ANGPTL3* y *TIMD4* era significativamente mayor en los mexicanos que en los caucásicos. Específicamente para *APOA5*, se identificó el SNP responsable de la asociación: rs964184 en mexicanos y europeos. La prevalencia de este alelo de susceptibilidad es casi tres veces mayor en los mexicanos (0.3 vs 0.12) ⁴⁷

Otras asociaciones entre variantes genéticas han resultado de estudios interétnicos que incluyen mexicanos. *TCF7L2* es un factor de transcripción que juega un importante papel en la vía de señalización de WNT, proteínas que regulan la proliferación y diferenciación celular mediante la activación o represión de múltiples genes algunos involucrados en el metabolismo de lípidos y carbohidratos, de este modo se encontró que las variantes rs7903146 y rs12255372 se encuentran asociadas con concentraciones de triglicéridos en la población mexicana. Las diferencias en la expresión fueron encontradas en el tejido adiposo dividiendo a la población por la presencia del alelo de susceptibilidad. ⁴⁸

Los estudios GWA en poblaciones mestizas han sido obstaculizados por la compleja subestructura poblacional que puede reducir el poder estadístico de las asociaciones ⁴⁹. Métodos estadísticos como inferencia de ancestría o mapeo de componentes de mezcla, han sido empleados para identificar asociaciones entre diversos loci y ciertas enfermedades en poblaciones específicas. Sin embargo comúnmente se basan en marcadores de ascendencia informativos o paneles de haplotipos que no están fácilmente disponibles en poblaciones como la latina ^{50 51 52} Ajustar por un modelo mixto o por ancestría puede reducir el problema, sin embargo aumenta la tasa de falsos negativos y el riesgo de perder variantes específicas de ancestría.

Para este fin Ko. ⁵³ y colaboradores diseñaron un nuevo abordaje “*Cross-population allele screen*” sobre un GWAS previo (CPAS-GWAS) para elucidar variantes genéticas específicas en población amerindia que contribuyen al alto riesgo de dislipidemias y obesidad en mexicanos. Este abordaje seleccionó alrededor de todo el genoma variantes que difieren en frecuencia (1-5% frecuencia del alelo menor MAF) entre dos poblaciones

que difieren en ancestría: europeos (finlandeses) y amerindios, y posteriormente se incluyeron solo estas variantes (variantes CPAS) en el GWAS mexicano, para determinar la asociación con cierto rasgo fenotípico, de esta manera el GWAS mexicano se restringió a variantes que se encuentran presentes solo en población mexicana y no en europeos. El test de Mantel-Haenszel ($p > 2.20 \times 10^{-16}$) demostró la diferencia estadísticamente significativa de la distribución de la frecuencia del alelo menor (MAF) entre ambas poblaciones después del tamizaje.

Usando este acercamiento, se identificaron 18 variantes relacionadas a lípidos y obesidad y un haplotipo de riesgo para triglicéridos en mexicanos. Estas variantes no han sido relacionadas con lípidos u obesidad previamente. Entre estas, se identificó la variante intrónica, rs139961185, en el gen *Salt Inducible Kinase 3 (SIK3)* localizada en el cr11q23.3, en la posición 116,807,343 pb, que se expresa en tejido adiposo e hígado. Adicionalmente otros cuatro polimorfismos (rs62436827, rs4360309, rs72925845 y rs78536982) mostraron señales sugerentes de asociación ($p \leq 0.05$) con TG. Utilizando un análisis de ancestría LAMP-LD muestra que las variantes residen en regiones con ancestría amerindia. La replicación de estas señales fue en una cohorte de mexicanos y finlandeses (N=6,159). Se estudiaron casos y controles, los controles fueron: finlandeses y mexicanos con niveles de triglicéridos < 150 mg/dL, los casos fueron mexicanos con niveles de triglicéridos > 150 mg/dL. La frecuencia del alelo menor encontrada fue $< 1\%$ en finlandeses controles, 15% en mexicanos controles y 20% en los casos mexicanos mostrando un OR (95% IC) de $1.44 (1.27-1.63)$ $p = 1.15 \times 10^{-12}$ lo que hace a la nueva variante, específica de mexicanos.

Mediante un análisis de DL (desequilibrio de ligamiento) se descartó la posibilidad de que la señal de asociación derivara de genes cercanos previamente asociados con la concentración de triglicéridos, como *APOA5* y *APOC3*, esto confirmó la independencia y especificidad en mexicanos de esta nueva variante. Un análisis secundario, en un subgrupo de 57 sujetos de este estudio, encontró una asociación del alelo de menor frecuencia de la variante rs139961185 con las concentraciones de triglicéridos después de la exposición a una comida mixta alta en grasa (1000kcal, 72gr de grasa, 50gr de carbohidratos y 38grs de proteína). Los sujetos con el alelo de menor frecuencia (A/A o A/G) mostraron una concentración de triglicéridos mayor durante toda la curva (8 horas), en contraste con los que no presentaban dicho alelo (G/G) ($P = 0.03$ para el área bajo la curva de triglicéridos), y que además fue independiente de la concentración basal de triglicéridos, sugiriendo que este cambio en *SIK3* puede retardar el aclaramiento de triglicéridos después de una comida

alta en grasa, sin embargo este sub análisis no fue planeado, y no se controló por confusores.

Mediante el análisis de selección se infiere que *SIK3* ha estado bajo selección natural positiva, y ha conservado alta homocigosidad, apuntando a su participación en la supervivencia reproductiva.

Los hallazgos encontrados sobre los niveles de triglicéridos han sugerido la participación de *SIK3* como gen respondedor; mantener los niveles altos de triglicéridos en plasma fue crítico para la supervivencia de los amerindios primitivos, pero ahora en respuesta a las dietas occidentales altas en energía, grasas y azúcares simples recientemente introducidas a la población latina, ha contribuido a la alta susceptibilidad de enfermedades metabólicas como dislipidemia y obesidad de los mexicanos modernos.

1.7 Salt Inducible Kinasa 3 (SIK3)

Salt Inducible Kinasa es un miembro de la subfamilia *AMP protein activate kinase* (AMPK). La actividad de AMPK, y la mayoría de sus cinasas relacionadas como las SIK's es regulada por fosforilación de una específica treonina (T-loop) por parte de LKB1 (**Figura 2**), *SIK1* fue descubierta en las glándulas suprarrenales de ratones alimentados con una dieta alta en sal, y subsecuentemente fueron descubiertas dos isoformas *SIK2* y *SIK3*. *SIK1* aparece como participante en la génesis de esteroides y *SIK2* ha sido ampliamente implicada en la inhibición de gluconeogénesis en el hígado además de suprimir la expresión de genes dependiente de la insulina del tejido adiposo pardo.⁵⁴ En ratones, una limitada expresión del gen *SIK2* confiere resistencia al estrés oxidativo posterior a una isquemia cerebral. Por su parte, *SIK3* (**Figura 3**), es una cinasa serina/treonina, es un gen codificante de proteína, algunas actividades relacionadas con este gen incluyen la actividad transferasa, en la cual se transfieren grupos que contienen fósforo, y la actividad proteína tirosina quinasa,⁵⁵ sin embargo, es la isoforma menos investigada, su función y regulación se encuentra poco estudiada

□

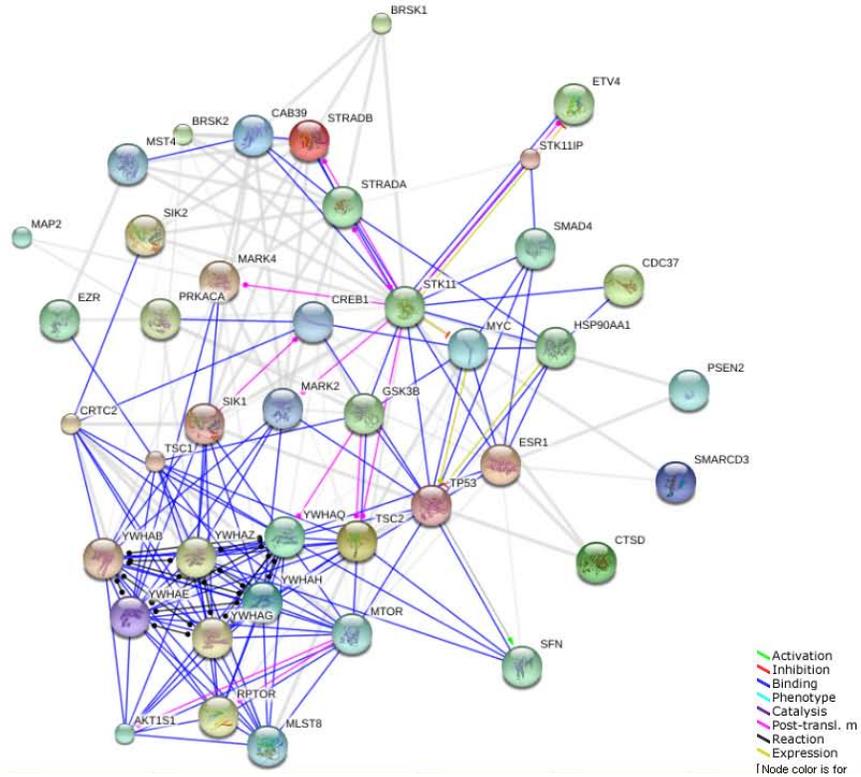


Figura 2. Cascada de señalización LKB1/pathcards.genecards.org

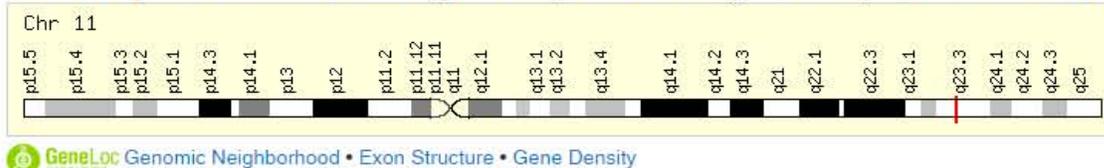
Datos de localización del gen

- Cromosoma: 11
- Inicio: 116,843,402 bp
- Término: 117,098,453 bp
- Tamaño: 255,052 bases
- Tamaño: 1263 aminoácidos
- Masa molecular: 139980 Da

□

Cytogenetic band: 11q23.3 by Ensembl 11q23.3 by Entrez Gene 11q23.3 by HGNC

SIK3 Gene in genomic location: bands according to Ensembl, locations according to GeneLoc (and/or Entrez Gene and/or Ensembl if different)



• Figura 3.- Vista genómica del gen/pathcards.genecards.org

Recientes investigaciones sugieren que las isoformas *SIK* se encuentran activadas por la proteína cinasa B (PKB) en respuesta a la insulina, resultando en la regulación del balance energético⁵⁶ Resultados previos implican a *SIK3* en la formación de corpúsculos polares⁵⁷, un resultado corroborado en estudios de ovario poli quístico, donde la sobre expresión de *SIK3* resulta en la promoción del progreso del ciclo celular⁵⁸ además es importante como modulador de la mitosis en células de mamíferos, por lo que se ha sugerido que podría servir como un blanco de la terapia antimitótica contra el cáncer⁵⁹. Así mismo se ha estudiado su papel esencial en la hipertrofia de condrocitos durante el desarrollo óseo en los ratones⁶⁰. Otros efectos señalan que *SIK3* tiene participación en la inmunidad al disminuir la respuesta a polisacáridos vía TOLK-4⁶¹

La reciente generación de un modelo de ratón knock out⁶² reveló que es posible inducir la expresión de *SIK3* (Salt-inducible kinase 3) en el hígado de ratones después del consumo de una dieta alta en grasa, sacarosa y colesterol. Los modelos murinos knockout *SIK3*^{-/-} exhiben un fenotipo de lipodistrofia, hipolipidemia, hipoglucemia y una mayor sensibilidad a la insulina, acompañada por colestasis y colelitiasis en ayuno, además de mayores tasas de consumo de energía. El análisis de expresión de genes⁶³ en el hígado de los ratones knock out indicó que la vía de la glucólisis se encontraba sub regulada, mientras que la vía de gluconeogénesis se encontraba aumentada. En modelos heterocigotos +/- los niveles de expresión en hígado tuvieron un comportamiento similar al de los silvestres. Estudios en células in vivo, señalan que *SIK3*, en lugar de *SIK1*, *SIK2*, o AMPKs, actúa como el supresor predominante de la gluconeogénesis en la expresión génica en los hepatocitos.

Estos hallazgos sugieren que *SIK3* es un nuevo regulador de energía que modula parte del metabolismo de lípidos y al menos en ratones, puede alterar el tamaño de los compartimentos para reserva de energía (**Figura 4**)

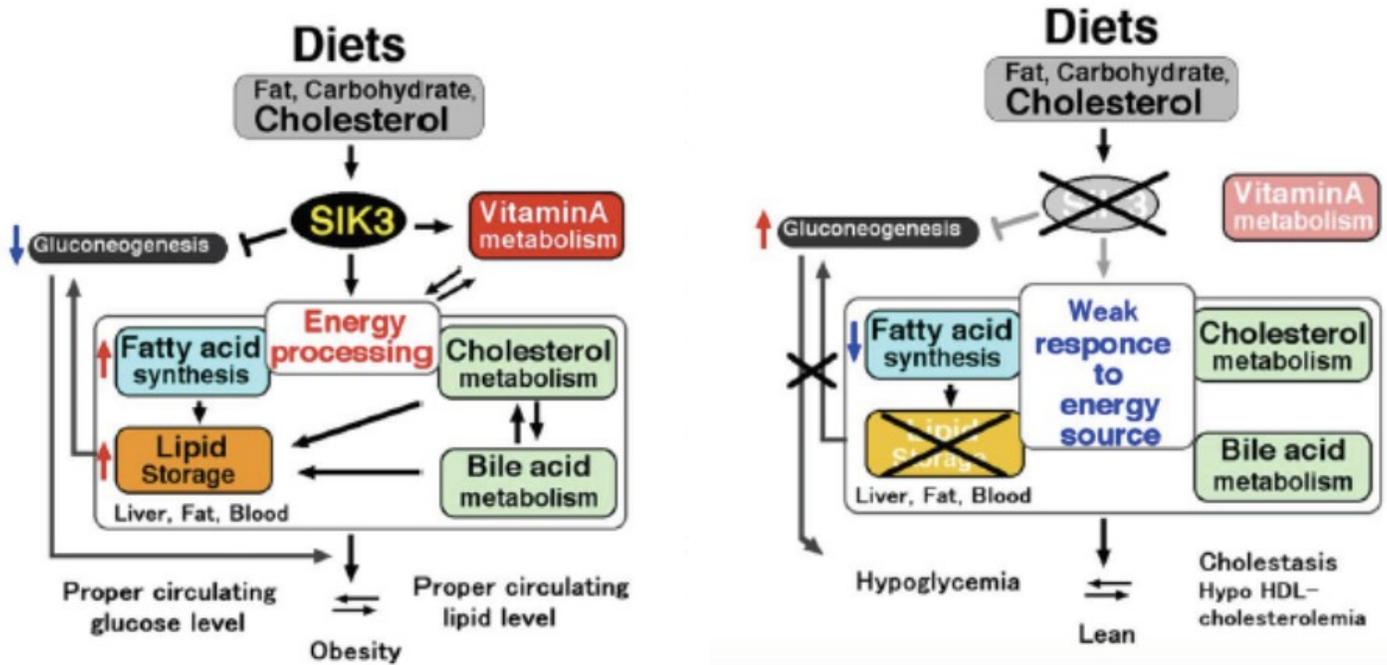


Figura 4. Resumen de los eventos metabólicos en el genotipo silvestre +/+ (derecha) y el modelo knock out -/- (izquierda) PLoS ONE, 2012. doi:10.1371/journal.pone.0037803.g009

Hasta nuestro conocimiento, no existen estudios en humanos que investiguen el papel de SIK3 en el metabolismo de lípidos u homeostasis de glucosa.

2.- PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el efecto de una variante del gen SIK3 rs139961185 cr11q23 sobre el área incremental bajo la curva de triglicéridos después de una comida mixta alta en grasa (960kcal, 50gr de grasa) en sujetos mexicanos de 18 a 65 años con la variante de menor frecuencia (AA+AG) en comparación con sujetos mexicanos de 18 a 65 años con la silvestre (GG), pareados por edad, género, índice de Masa corporal (IMC) y ancestría?

3.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se reconoce que las poblaciones de ascendencia amerindia tienen una prevalencia mayor de enfermedades metabólicas como dislipidemias, obesidad y diabetes. Estas diferencias entre los grupos étnicos están determinadas por factores nutricionales, ambientales, así como por la síntesis y metabolismo de lípidos de las lipoproteínas, que a su vez están condicionadas por la actividad de diversos productos génicos. A pesar de su reconocida susceptibilidad los mexicanos y otros grupos de ascendencia amerindia han sido sub representados en estudios genómicos, por lo que las bases genéticas siguen sin conocerse por completo.

Existen pocos estudios que han reportado asociaciones con las variantes genéticas previamente asociadas a las concentraciones de triglicéridos en ayuno en poblaciones caucásicas (como *APOC3*, *APOA5*, *APOE*, *APOCII*, *LH* y *LPL*, entre otros) con la lipemia posprandial. Estos reportes no han buscado el efecto de la interacción con otros factores de riesgo cardiovascular, (homeostasis de la glucosa) ya que los estudios descritos solo incluyen sujetos sanos.

El conocimiento de la contribución integrada de todas las variantes a la variabilidad de las concentraciones de triglicéridos postprandiales es hasta el momento un fenómeno poco estudiado en la población mexicana, recientemente se ha asociado a un aumento en el riesgo cardiovascular.

Recientemente se encontró un polimorfismo de un solo nucleótido SNP identificado por el rs139961185 cr11q23 en el gen *SIK3* que se asoció a concentraciones de triglicéridos en ayuno en mexicanos, los reportes existentes no han buscado el efecto de esta variante en el metabolismo de lípidos y homeostasis de la glucosa, por lo que es necesario confirmar este hallazgo e identificar los efectos del metabolismo posprandial de las lipoproteínas ricas en triglicéridos y homeostasis de la glucosa.

4.- JUSTIFICACIÓN

La dislipidemia es un factor de riesgo cardiovascular altamente prevalente en las poblaciones de ascendencia amerindia, que incrementará drásticamente la carga médica y económica en las décadas subsecuentes si la prevención y el tratamiento no pueden ser mejor adaptados a los grupos más susceptibles.

Los hispanos y otros grupos amerindios son comúnmente sub representados en estudios genómicos, identificar variantes específicas para hispanos es fundamental para descifrar la patogénesis genética de la dislipidemia y Enfermedad Cardiovascular y finalmente, para personalizar la prevención y tratamiento de este factor de riesgo.

Realizar el presente proyecto de investigación puede coadyuvar a elucidar las bases genéticas de una de las enfermedades de mayor prevalencia e impacto clínico en nuestro país, lo que eventualmente permitiría un mejor conocimiento de la enfermedad, diagnóstico oportuno y la introducción de nuevos tratamientos dirigidos a modular dicho rasgo fenotípico.

5.- HIPÓTESIS

Los sujetos mexicanos con la variante rs139961185 (AA+AG) en el gen *SIK3* tienen un área bajo la curva incremental de triglicéridos postprandiales después de una comida mixta alta en grasa diferente a los sujetos mexicanos con la silvestre (GG).

6.- OBJETIVOS

6.1 Objetivo General

Comparar el efecto de la variante rs1399161185 del gen *SIK3* sobre el área bajo la curva incremental de triglicéridos postprandiales después de una comida mixta alta en grasa en sujetos mexicanos de 18 a 65 años con el genotipo (AA+AG) y en sujetos mexicanos de 18 a 65 años con la silvestre (GG).

6.1.1 Objetivos específicos

- Describir las características generales, clínicas y antropométricas de la población.
- Identificar las asociaciones entre genotipo y las concentraciones de triglicéridos ayuno en los sujetos con la variante (AA+AG) y los sujetos con la con la silvestre (GG).
- Describir la respuesta postprandial (determinar las áreas bajo la curva de triglicéridos postprandiales con la fórmula de trapezoides) y determinar las diferencias entre los sujetos con la variante (AA+AG) y los sujetos con la con la silvestre (GG).
- Describir la respuesta postprandial incremental (determinar las áreas bajo la curva incremental de triglicéridos postprandiales con la fórmula de trapezoides) y determinar las diferencias entre los sujetos con la variante (AA+AG) y los sujetos con la con la silvestre (GG).
- Determinar los factores asociados a la respuesta postprandial incremental y cuantificar su impacto.

6.1.2 Objetivos específicos

- Determinar las diferencias en los subrogados de sensibilidad a la insulina entre los portadores de la variante (AA+AG) y sujetos con la silvestre (GG) después de una curva de tolerancia oral a la glucosa.
- Determinar los factores asociados a los marcadores de sensibilidad a la insulina y cuantificar su impacto después de una curva e tolerancia oral a la glucosa.

7.- METODOLOGÍA

7.1 Tipo de estudio

Casos y controles, pareado.

7.2 Lugar y tiempo

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Departamento de Endocrinología y Metabolismo. Periodo: Noviembre 2014- Diciembre 2015

7.3 Unidad de Muestreo

Sujetos previamente genotipados habitantes de la ciudad de México y zona metropolitana, con la variante rs139961185 (A/G) y la silvestre (GG) del gen *SIK3*.

7.4 Criterios de Inclusión

- Expuestos:
Sujetos de 18 a 65 años con la variante rs139961185 (AA +AG) del gen *SIK3*
- No expuestos:
Sujetos de 18 a 65 años con la silvestre (GG) del gen *SIK3*

7.5 Criterios de Exclusión

- Infecciones agudas, al menos 2 meses previos
- Enfermedad hepática crónica o aguda.
- Enfermedad renal crónica o aguda.
- Uso de fármacos que modifiquen perfil de lípidos en los últimos 2 meses
- Consumo regular (al menos 1 vez a la semana) de fármacos anticonceptivos, en los últimos 12 meses.
- Embarazo
- Consumo crónico de alcohol (≥ 3 copas de alcohol al día)

- Hábito tabáquico >15 cigarrillos/día
- Ejercicio regular intenso (>3veces a la semana) Intenso= ejercicio que aumente la frecuencia cardíaca de $\geq 80-90\%$
- Consumo regular (≥ 5 veces por semana) de suplementos antioxidantes en los últimos 2 meses
- Consumo de suplementos con omega 3 o 6
- Consumo regular (≥ 4 veces por semana) de alimentos funcionales (nopal, avena, linaza, chía) que modifiquen el perfil de lípidos en el último mes.
- Diabetes tipo 2 en descontrol (HbA1c >8%)
- Concentración de TG mayor a 1000mg/dl el día de la prueba
- Que no se cuente con alguna de las mediciones durante la curva.

7.6 Sujetos de estudio

Se invitó a participar a sujetos habitantes de la Ciudad de México y zona metropolitana, que aceptaron participar en el estudio, después de dárseles a conocer el consentimiento bajo información (**Anexo 1**) y que cumplieron con los criterios de inclusión. Se incluyeron sujetos con diferentes grados de concentración de glucosa (normo glucémicos e intolerantes a glucosa), así como diversas alteraciones en el perfil de lípidos, siempre y cuando estuviesen bajo control o no constituyera una contraindicación para la ingesta del desayuno alto en grasa.

7.7 Genotipificación

Los sujetos genotipificados fueron provenientes de estudios de tamizaje del departamento de Endocrinología y Metabolismo del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”. El aislamiento del DNA de cada paciente se inició tomando 10ml de sangre anticoagulada, en tubos vacutainer con EDTA, posteriormente se utilizaron 400 μ de cada sangre, para extraer y purificar el DNA usando el DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Ltd., Crawley, UK), una vez obtenidos se cuantificaron espectrofotométricamente, utilizando un Nanodrop1000 (Wilmington, DE, USA) y posteriormente se llevaron a cabo reacciones en cadena de la polimerasa PCR (por sus siglas en inglés), de punto final para amplificar un fragmento de 248pb.

En la Unidad de Biología Molecular se diseñaron, dos oligopéptidos específicos para

llevar a cabo las PCR. A continuación se describirán la secuencia del fragmento, de los dos oligos utilizados para su amplificación indicando sus temperaturas óptimas de hibridación y las condiciones estandarizadas para las PCR:

Secuencia del fragmento de 248 pb del gen *SIK3*

TTGTACTCACGGCTCACTGCagcctcaacctcct**g**ggctcaagtgatcctccacctcagc
ctcccaaatgctgggattacagggcatcagccaccaggcccagtcagtcagtggtctttctattac
atcgtgctgatgccaaagggccttacttacacaaacagaatggttgattatcttagggcaggaaccaag
tcttacatctcttagtatctaccactga**CTCTTCTACATAGCTGAAGTCACAA**

Secuencias de los oligos utilizados para la amplificación del fragmento que contiene la variante (g/a) y temperaturas de hibridación

Sentido: 60.1 °C 5´ttgtactcacggctcactgc 3´

Antisentido: 57.1 °C 3´tttgacttcagctatgtagaagag5´

| Componente | Por reacción (µl) |
|-------------------|-------------------|
| HotStarMaster mix | 7.5 |
| Oligo sentido | 0.6 |
| Oligo antisentido | 0.6 |
| DNA | 3.9 |
| Control | 3.9 |
| Agua ultrapura | 2.4 |

Al término de las PCR se corrieron algunas alícuotas de 2 µl de los productos, en una electroforesis en gel de agarosa al 2% a un voltaje de 75 V por 90 minutos y un carril con un marcador de pares de bases. Se visualizó el gel en un fotodocumentador Gel Logic 100, (Carestream Health, Rochester, NY) para capturar la imagen de las bandas obtenidas y corroborar el tamaño del fragmento obtenido, su calidad y especificidad.

Para la purificación de los productos de PCR se utilizó el QIAquick® PCR Purification Kit (Valencia, CA, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante. Una vez purificados los productos, se cuantificaron espectrofotométricamente utilizando un Nanodrop1000 (Wilmington, DE, USA) y se corroboró su pureza por una electroforesis en gel de agarosa, en las condiciones detalladas arriba (**Tabla 2**).

Una vez determinadas las condiciones para llevar a cabo las reacciones de

secuenciación, (**Tabla 3**) utilizando la química del Big-Dye® v3.1 (Applied Biosystems) se llevaron a cabo y al terminar se purificaron los productos de las reacciones con objeto de eliminar subproductos, iniciadores y contaminantes que impidan la secuenciación, utilizando columnas de sephadex (Centri-sep® Columns, Princeton Separations) siguiendo las instrucciones del fabricante; inmediatamente después se secaron en un SpeedVac vR-1 (Savant, Dinamarca) para su posterior restitución con 18µ de formamida y cargadas en una placa de 96 pozos y leídas es un secuenciador automatizado por inyección 3130xl Genetic Analyzer v3.0 (Thermo Fisher, Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) y finalmente leer los cromatogramas utilizando el programa BioEdit versión 7.2.5 para Windows (Carlsbad CA, USA).

| Ciclo | Tiempo | Temperatura | |
|-------|--------|-------------|---|
| I | 15min | 95°C | Activación de la polimerasa HotStarTaq |
| II | 30seg | 94°C | Desnaturalización |
| III | 30seg | 58°C | Alineación |
| IV | 35seg | 72°C | Extensión (el fragmento esperado es de 248pb) |
| V | 7min | 72°C | Extensión final |
| VI | ∞ | 4°C | |

7.8 Determinación de ancestría

Para estimar el grado de diferenciación poblacional se utilizó la técnica de análisis de componentes principales (PCA) ⁶⁴, cuantificando la subestructura poblacional por medio de 32 aims reconocidos por su alta especificidad en la población mexicana.

7.9 Procedimientos de la investigación

Los sujetos del estudio se sometieron a una evaluación médica por parte un médico pasante de servicio social, que incluye examinación clínica y física (**Anexo 2**). La licenciada en Nutrición se encargó de realizar la evaluación de hábitos de alimentación y el análisis de composición corporal, se hizo uso de un diario dietético de 2 días, el software Food Procesor Eshe Research Inc.® (Salem, OR, USA) fue utilizado para el análisis de los datos. La composición corporal se realizó por medio de impedancia bioeléctrica (Jawon®) tomando en cuenta peso (kg), porcentaje y kilogramos de masa magra y masa grasa, agua corporal total (%), área de grasa visceral (cm³). Se tomaron mediciones antropométricas de

talla, circunferencia de cintura, cadera, muñeca, para calcular los parámetros de índice cintura cadera (Saavedra), y complejión por circunferencia de muñeca según (Nowak, 1987) utilizando cinta métrica SECA201®.

7.9.1 Curva de Tolerancia Oral a la Glucosa

Se pidió al sujeto que llegara a la prueba con 12 horas de ayuno, se tomó una muestra de sangre (tiempo 0) y posteriormente se dio a ingerir 75grs de glucosa líquida. Se tomaron muestras de sangre a los 30, 60, 90 y 120 minutos. Durante la prueba solo se les permitió tomar agua en caso de molestia.

7.9.2 Prueba de Tolerancia Oral a la Grasa

Se le pidió a los sujetos que llegaran a la prueba con 12 horas de ayuno. Se hizo la recomendación de un consumo bajo en grasas saturadas y azúcares simples el día previo a la prueba, se hizo la determinación basal del perfil de lípidos así en el tiempo 0, posteriormente se les dió el desayuno alto en grasa (**Anexo 3**), que consiste en una hamburguesa McDonalds® cuarto de libra con queso, 250ml de leche Alpura® entera, 70grs de papas fritas McDonalds®, 1cda (5gr) de mayonesa McCormik®, el contenido calórico total es de 930 calorías, con la siguiente distribución: 48% (50g) grasa, 32% (73g) carbohidratos y 20% (46.6g) proteína, y se pidió que la comida sea consumida en un lapso de 20 minutos. Se midió un perfil de lípidos, a las 3 horas y a las 4hs, 5hs, 6hs y 8hs. Durante la curva solo se les permitió ingerir agua. Al final de la curva de grasa se les proporcionó el resultado basal de sus exámenes de laboratorio, dándose indicaciones médicas y nutricionales en función de los resultados por parte de un médico endocrinólogo y una Licenciada en Nutrición (**Anexo 4**).

7.9.3 Análisis de muestra de sangre

Las muestras de sangre fueron tomadas por personal de enfermería, se tomaron con el sujeto en reposo, por lo general en el brazo dominante, se desinfectó el área de punción con Chlorax®, se colocó una aguja Vacutainer®, en dirección a la vena radial, se tomaron 25ml de sangre en tubos con EDTA por tiempo, antes de la 3ra hora se colocó un catéter Angiocat calibre 20 o 22, se utilizó solución salina para mantener la permeabilidad y evitar

la coagulación durante cada toma.

Los tubos se centrifugaron a 3000rpm, durante 15min a 4°C. Los niveles de triglicéridos, colesterol total, HDL, glucosa, aspartato aminotransferasa (AST), alanina transferasa (ALT) y gamma glutamiltransferasa (GGT), fueron determinados por método enzimático colorimétrico (Beckman Synchron CX, Brea, CA). El colesterol LDL (LDL-C) fue calculado con la fórmula Friedewald⁶⁵ cuando los niveles de triglicéridos tuvieron niveles <300mg/dL. Los niveles de insulina fueron determinados utilizando inmunoanálisis de micro partículas enzimáticas (MEIA) (Axym System Abbot, Green Oaks, IL, USA), y apoB por nefelometría cinética (Beckman Immage, Brea, CA). La hemoglobina glucosilada fue determinada por cromatografía de alta presión (HPLC) con equipo Variant II turbo para HbA1c%, (Bio Rad, Hércules, CA, USA).

7.10 Pareamiento

Se parearon 1:1 o 1:2 los expuestos al alelo de menor frecuencia y la silvestre con la técnica de *propensity score*.^{66 67} Técnica estadística en la cual se realiza un puntaje de propensión de cada caso basado en sus características de edad, género, índice de Masa corporal y componente 2 de ancestría y para su pareamiento se considera un control que con un puntaje de propensión similar.

7.11 Cálculos

Para calcular el área bajo la curva de ambas pruebas (curva de tolerancia oral a la glucosa y prueba de tolerancia oral a la grasa), se usó el método de trapezoides: área bajo la curva total: $ABC = (suma\ de\ [\frac{1}{2} (valor\ al\ tiempo\ A + valor\ al\ tiempo\ B * diferencia\ en\ tiempo(min)\ entre\ A\ y\ B\ de\ 0\ a\ 480min)])$, área bajo la curva incremental $iABC = (suma\ de\ [\frac{1}{2} (valor\ al\ tiempo\ A + valor\ al\ tiempo\ B * diferencia\ en\ tiempo(min)\ entre\ A\ y\ B\ de\ 0\ a\ 120min)])$ menos $(valor\ al\ tiempo\ 0 * 480min)$. Para evaluar la sensibilidad a la insulina se utilizó el índice HOMA-R $(Glucosa\ mg * Insulina\ u/ml / 405)$ ^{68 69 70}, actualmente es el método más utilizado para evaluar la sensibilidad a la insulina; y el índice de OGIS (Oral Glucose Insulin Sensitivity) es un método validado para la evaluación de la sensibilidad a la insulina con datos provenientes de la prueba de tolerancia a la glucosa oral. OGIS requiere concentraciones de glucosa a los 0, 120' y 180' y de insulina a los 0' y 120'. Se calculó usando OGIS WEB, una herramienta electrónica que utiliza un modelo matemático derivado de la relación glucosa-insulina para obtener el valor; OGIS tiene una correlación de 0.77

($p < 0.0001$) comparada con el clamp hiperinsulinemico-euglucémico. Un coeficiente de variación de 7.1 vs 6.4% comparado con clamp. El coeficiente de variación en sí mismo ha sido calculado en 12%⁷¹ La ventaja que ofrece es ser clínicamente menos demandante que el estándar de oro clamp y al considerar los datos de la curva de glucosa da una mejor estimación del aclaramiento de glucosa.

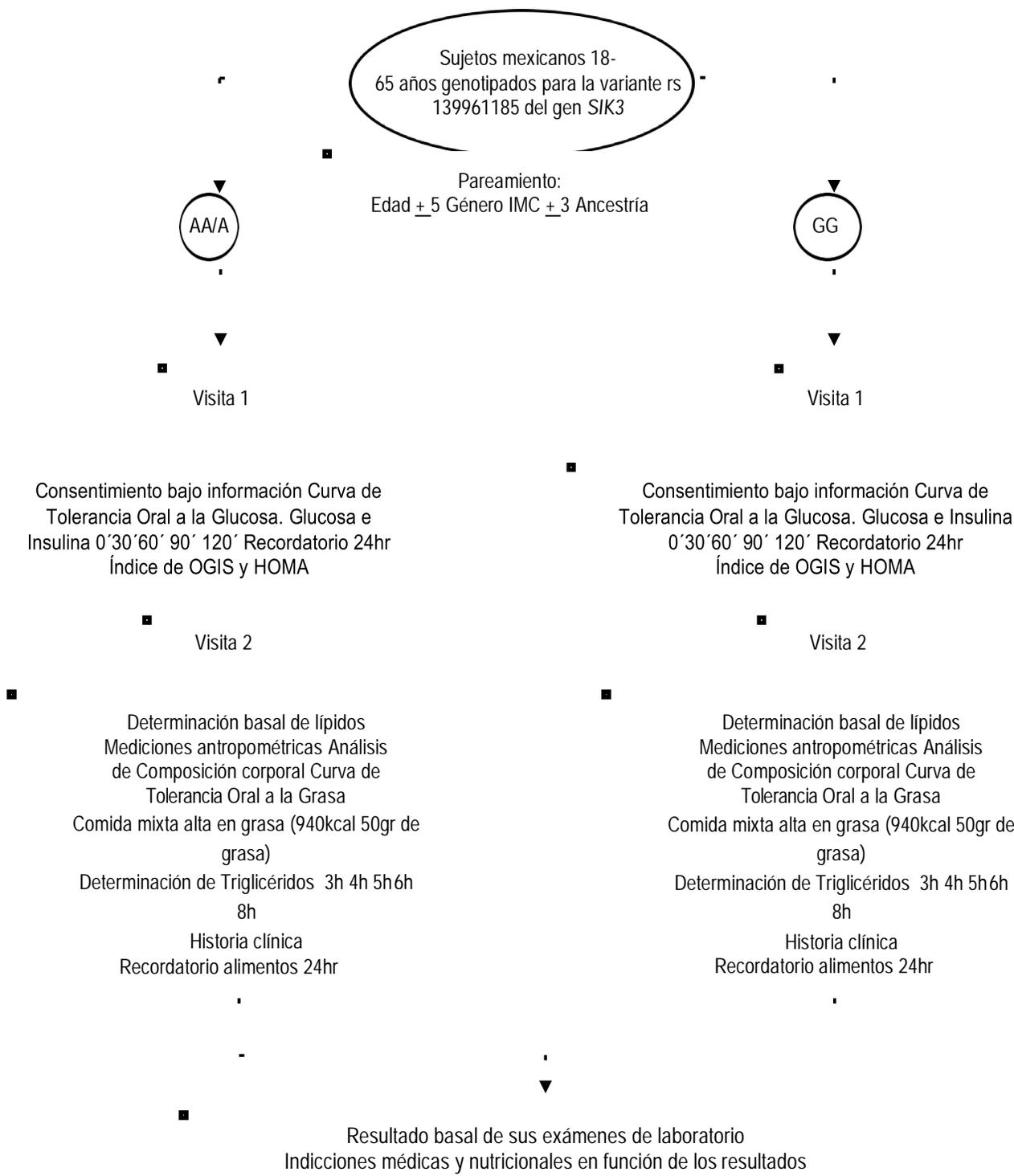


Figura 5. Metodología del estudio. N= 102 (37 sujetos grupo con la variante y 65 con la silvestre)

8.- TAMAÑO DE MUESTRA

Se utilizó la fórmula para buscar diferencias entre dos medias dependientes utilizando la variable de desenlace principal: área bajo la curva incremental ($\text{mmol/L} \cdot \text{hr}^2$), del estudio de Olano³⁸ Se utilizó la fórmula para diferencia de medias para estimar el tamaño de muestra con los siguientes datos:

- $z = 0.05$ (dos colas)
- poder = 90%
- media 1 = $326 \text{ mmol/L} \cdot \text{hr}^2$
- media 2 = $358.5 \text{ mmol/L} \cdot \text{hr}^2$
- $sd_1 = 42$
- $sd_2 = 42$

$$n = 2 \left[\frac{(Z_\alpha - Z_\beta) DE}{\mu_1 - \mu_2} \right]^2$$

$$n = 2 \left[\frac{(1.96 - (-1.28) 42)^2}{(326 - 358.5)} \right]$$

Estimado de muestra requerido = $n_1 = 36$ $n_2 = 36$

9.- OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

| Tabla 4.- Operacionalización de Variables | | | | |
|---|--|--|-------------------------|--|
| Variables dependientes | | | | |
| Variable | Definición conceptual | Definición operacional | Unidad de medición | Escala de medición |
| Área bajo la curva incremental de triglicéridos | Área resultante de la multiplicación miligramos/dL de triglicéridos séricos / tiempo 480 min/2 a partir de una serie de mediciones secuenciales. Se toma como la respuesta postprandial de triglicéridos a un estímulo de grasa. | Se analiza partir de muestras de sangre secuenciales tomada cada 0´ 3 4 5 6 y 8 horas haciendo caso omiso de la concentración de la zona bajo el nivel en ayuno y solo tomando en cuenta el valor incremental. Calculado mediante la fórmula de trapezoides. (Base mayor + Base menor * altura /2) Determinada por método enzimático colorimétrico | mg/dl/480 mg/dl*min | Cuantitativa continua |
| Área bajo la curva de Glucosa e Insulina | Área resultante de la multiplicación miligramos/dL de glucosa sérica / tiempo 180 min/2 a partir de una serie de mediciones secuenciales. Respuesta posprandial de glucosa e insulina | Se analiza partir de muestras de glucosa después de una curva de glucosa Calculado mediante la fórmula de trapezoides. (Base mayor + Base menor * altura /2) Determinada por método enzimático colorimétrico | mg/dl*min mg /dl/180 | Cuantitativa continua |
| Sensibilidad a la insulina | Capacidad de la insulina para metabolizar glucosa | Resulta de las concentraciones de glucosa a los 0, 120´ y 180´ y de insulina a los 0´ y 120´. Se calcula usando OGIS WEB. | Índice de OGIS | Cuantitativa continua Cuantitativa Continua |

Tabla 4 (Continuación) .- Operacionalización de Variables

| Variable independiente | | | | |
|--------------------------------------|--|--|--|-----------------------------------|
| Variable | Definición conceptual | Definición operacional | Unidad de medición | Escala de medición |
| Variante del gen <i>SIK3</i> | Variante rs139961185 del gen <i>SIK3</i> | Determinación por medio de PCR de punto final | AA+AG GG en el rs139961185 | Cualitativa nominal dicotómica |
| Variables antecedentes | | | | |
| Variable | Definición conceptual | Definición operacional | Unidad de medición | Escala de medición |
| Edad | Tiempo que ha vivido una persona. | Tiempo comprendido entre el nacimiento del sujeto hasta la fecha en la que se incluye al estudio. | Años | Cuantitativa continua |
| Género | Caracteres genéticos, morfológicos y funcionales, que distinguen a los hombres de las mujeres. | Aspecto externo del sujeto evaluado y auto reportado | Masculino Femenino | Cualitativa nominal Dicotómica |
| STATUS Glucémico | Estado del sujeto en relación al metabolismo de glucosa e insulina | Nivel de glucosa sanguínea a los 120' de haber consumido 75grs de glucosa en ayuno y después de 12 horas de ayuno. | Normal CTOG a las 2hrs <140 Intolerante a la Glucosa CTOG a las 2hrs 140-199 | Cualitativa ordinal |
| Índice de Masa Corporal cualitativa | Clasificación de la relación entre el peso y la talla. (OMS) | División del peso en kilos por el cuadrado de su talla en metros (kg/m ²). | 18-24.9 Normo peso ≥ 25 -29.9 Sobrepeso ≥30 Obesidad | Cualitativa ordinal |
| Índice de Masa Corporal cuantitativa | Indicador simple de la relación entre el peso y la talla. (OMS) | División del peso en kilos por el cuadrado de su talla en metros (kg/m ²). | Kg/m ² | Cuantitativa continua |

Tabla 4 (Continuación) .- Operacionalización de Variables

| Variables antecedentes | | | | |
|---------------------------|--|--|---|-----------------------|
| Variable | Definición conceptual | Definición operacional | Unidad de medición | Escala de medición |
| Componente de ancestría | Grado de diferenciación poblacional | Cuantificado la subestructura poblacional por medio de análisis de componentes principales de 32 polimorfismos de un solo nucleótido | | Cuantitativa continua |
| Índice cintura-cadera | Indicador de la relación entre la cintura y la cadera | División entre el valor del sujeto de la cadera y la cintura en centímetros | Centímetros/centímetros | Cuantitativa continua |
| Masa libre de grasa | Compartimento corporal libre de grasa, químicamente se compone de proteínas, agua y hueso. | El sujeto debe estar en ayuno, con la menor ropa posible y sin zapatos se coloca sobre un analizador de Impedancia bioeléctrica. | Kilogramos y porcentaje | Cuantitativa continua |
| Masa grasa | La masa del cuerpo compuesta sólo por grasa. | El sujeto debe estar en ayuno, con la menor ropa posible y sin zapatos, se coloca sobre un analizados de Impedancia bioeléctrica. | Kilogramos y porcentaje | Cuantitativa continua |
| Consumo calórico habitual | Consumo calórico habitual de un individuo | Promedio del consumo de 3 días habituales (2 días entre semana 1 fin de semana) referido por el sujeto. | Kilocalorías Totales Kilocalorías, gramos y porcentaje de Hidratos de Carbono Proteínas Lípidos Grasas Saturadas Polinsaturadas Mono insaturadas Fibra Azúcares simples | Cuantitativa continua |

Tabla 4 (Continuación) .- Operacionalización de Variables

| Variables antecedentes | | | | |
|---------------------------|---|--|--------------------|------------------------|
| Variable | Definición conceptual | Definición operacional | Unidad de medición | Escala de medición |
| Circunferencia de Cintura | Perímetro medido entre el punto medio de la cresta iliaca y el arco subcostal. Índice para medir grasa abdominal. | Medida en centímetros del punto medio entre la cresta iliaca y el arco subcostal, al final de una espiración tomada en cada vista, el individuo deberá estar relajado, erguido, de perfil con el abdomen descubierto | Centímetros | Cuantitativa continua. |
| Trigliceridemia en ayuno | Concentración de triglicéridos en suero después de 12 horas de ayuno. | Determinación por método enzimático colorimétrico | Miligramos/dL | Cuantitativa continua |

10.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las características demográficas y clínicas de los sujetos de estudio se presentan con estadística descriptiva, las variables cuantitativas se reportan en media y Desviación Estándar (DE) o mediana y rango intercuartil (RIC), según la distribución de las variables. Se realizaron pruebas de normalidad en cada variable cuantitativa. Para las variables cualitativas se usaron frecuencias y porcentajes.

Se calcularon áreas bajo la curva total e incremental para los valores de triglicéridos, glucosa e insulina de ambas pruebas (Curva de tolerancia oral a la grasa y prueba de tolerancia oral a la glucosa). Para el cálculo se usó el método de trapezoides: área bajo la curva total: $ABC = (\text{suma de } [\frac{1}{2} (\text{valor al tiempo A} + \text{valor al tiempo B} * \text{diferencia en tiempo}(\text{min}) \text{ entre A y B de 0 a 480min})]$, área bajo la curva incremental $iABC = (\text{suma de } [\frac{1}{2} (\text{valor al tiempo A} + \text{valor al tiempo B} * \text{diferencia en tiempo}(\text{min}) \text{ entre A y B de 0 a 120min})]$ menos $(\text{valor al tiempo 0} * 480\text{min})$. Los resultados se reportan como media y Desviación estándar (DE) o mediana y Rango Intercuartil (RIC), según la distribución. Todas las variables bioquímicas y clínicas entre sujetos con el alelo de menor frecuencia y el común, se compararon con la prueba T pareada o Wilcoxon, según la distribución de las variables (Variables con $n > 30$ se utilizará prueba paramétrica). Para la comparación de variables cualitativas se usó la prueba de McNemar. Para comparar el comportamiento de las curvas entre los sujetos en ambas pruebas se utilizó la prueba de ANOVA de medidas repetidas o Freedman según la distribución.

Para controlar por variables de confusión y en caso de hallazgos significativos en el análisis bivariado ($p < 0.20$), se realizó un análisis multivariado, donde se incluyeron a dichas variables. Se utilizó un abordaje de regresión lineal, donde la variable dependiente fue el área bajo la curva incremental de triglicéridos y la independiente el genotipo (portador/ no portador). Se respetó un límite de al menos 10 sujetos por cada variable independiente que se introdujo al modelo.

11.- ASPECTOS ÉTICOS

- a) Los riesgos que se pudieron presentar en el estudio son los relacionados a la toma de muestra de sangre (hematoma, dolor leve), estos son mínimos. La cantidad de sangre que se extrajo fue de 240mL, con lo cual se midieron todas las variables bioquímicas de interés, y la extracción de DNA para la determinación del genotipo y se almacenó suero para futuras mediciones. Lo anterior no pone en riesgo la integridad de los participantes, el suero extraído será almacenado al -70°C por un periodo menor de 5 años.
- b) Los principales beneficios del estudio son la generación de conocimiento nuevo sobre la interacción genotipo-fenotipo de nuevos genes asociados con desenlaces metabólicos en mexicanos, que eventualmente pueden ayudar a implementar tratamientos o a identificar personas en riesgo.
- c) Este estudio se ajustó a las normas éticas institucionales, a la Ley General de Salud en materia de investigación y a la declaración de Helsinki. El consentimiento escrito y los propósitos del estudio en general le fueron informados al sujeto en forma detallada en la entrevista inicial. Se obtuvo el consentimiento informado de todos los participantes y el protocolo de estudio está aprobado por el comité de ética del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán Ciudad de México (INCMNSZ) con número 1343. La información de identificación personal del participante será protegida por la asignación de códigos numéricos a toda su información, incluyendo las muestras de DNA y RNA, así como todos los datos genéticos y clínicos. Este código es un número de identificación que no incluirá ninguna información de identificación personal. La clave de este código se bloquea y sólo algunos miembros del equipo de investigación en el INCMNSZ, tienen acceso a la clave. En este estudio, los participantes se reclutarán en el INCMNSZ y todos los datos clínicos y las muestras de sangre y tejidos se recogerán en el INCMNSZ.

12.- RESULTADOS

12.1 Objetivo específico 1.-

Describir las características generales, clínicas y antropométricas de la población

El estudio comprendió a 102 participantes, 37 portadores, (31 heterocigotos (AG) y 6 homocigotos (AA), 65 homocigotos con el alelo común (GG).

La mayor participación fue de mujeres (69.6%). El rango de edad fue de 20 a 65 años, con una media de 46.6 ± 12.5 , el Índice de Masa Corporal (IMC) tuvo una media de 28.6 ± 4.1 ; en clasificación de IMC, el 26.5% (27) de los participantes tuvieron normo peso, la mayor parte de los sujetos tuvieron el diagnóstico de sobrepeso 44.1% (45), el 23.5% (24) Obesidad grado I y un 5.9% (6) tuvo el diagnóstico de Obesidad grado II. La mediana del componente principal 2 (PC2), utilizado para el apareamiento fue de $-.004050$ ($-.0506 - .0225$). La mediana de la presión diastólica en la población (PAD) fue de 76.5 (70-80) (mmHg), la mediana de la presión sistólica fue de 119.5 (110-135) (mmHg). En cuanto al estatus glucémico, el 84.3% (86) de la población no tuvo alteración en el metabolismo de la glucosa, mientras que el 15.7% (16), tuvo el diagnóstico de intolerancia a la glucosa.

La tabla 4 muestra las características generales de la población dividida por grupos de estudio, como era de esperarse, debido al apareamiento, la edad, el IMC y componente principal 2 de ancestría se encuentran distribuidos de la misma forma en ambos grupos y no representa diferencias entre ellos.

Tabla 5 Características generales de la población
(n=102)

| | Alelo silvestre (GG) 65 | Alelo Menor AG + AA 31+6 | Valor de p |
|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|------------|
| Género | | | |
| Hombre (%) | 20 (30.8 %) | 11 (29.7%) | 0.91 |
| Mujeres (%) | 45 (69.2%) | 26 (70.3%) | |
| Edad (años) | 47 (35.5-56.5) | 50 (37.5-55.5) | 0.54 |
| IMC (kg/m ²) | 28.0 ± 4.1 | 27.9 ± 4.1 | 0.69 |
| Índice de Masa corporal | | | |
| Normopeso | 17 (26.2%) | 10 (27%) | |
| Sobrepeso | 27 (41.5%) | 18 (48.6%) | 0.87 |
| Obesidad I | 17(26.2%) | 7 (18.9%) | |
| Obesidad II | 4(6.2%) | 2 (5.4%) | |
| Índice cintura cadera (ICC) | | | |
| Hombre | 0.95 ± 0.5 | 0.93 ± 0.5 | 0.36 |
| Mujer | 0.86 ± 0.6 | 0.88 ± 0.7 | 0.87 |
| Status glucémico | | | |
| Nomo-glucémico | 55 (84.6%) | 31 (83.8%) | 0.99 |
| Intolerante a la glucosa | 10 (15.4%) | 6(16.2%) | |
| | -0.0013 ± .071 | -0.00004± .075 | 0.73 |
| Componentes de ancestría | | | |
| PC1 | .0021 ± .066 | .008 ± .08 | 0.73 |
| PC2 | -0.0068 (-.0458-.0213) | .0013 (-.0661-.0469) | 0.66 |
| Triglicéridos (mg/dL) | 202 (131-266) | 181 (132.5-252) | 0.39 |
| Normal | 22(33.8%) | 12 (32.4%) | |
| Hipertrigliceridemia | 43(66.2%) | 25 (67.6%) | 0.99 |
| HDL-C (mg/dl) | 43 (37.5-51.5) | 45 (39.5-52) | 0.45 |
| LDL-C (mg/dl) | 122 ± 25.7 | 120.9 ± 31.2 | 0.83 |
| Apo-B (mg/dl) | 105.4 ± 24.1 | 105.8 ± 28 | 0.88 |
| Glucosa (mg/dL) | 96 (91-108) | 100 (93-108) | 0.70 |
| Insulina (μU/mL) | 9.5 (6.5-12.5) | 7.8 (5.4-11.8) | 0.24 |
| HOMA-IR | 2.2 (1.4-3.3) | 2.0 (1.3 -3.1) | 0.30 |

IMC: Índice de Masa Corporal PAD: Presión arterial Sistólica PAS: Presión arterial Sistólica PC1: Componente principal 1 PC2: Componente principal 2 HDL-C Colesterol de alta densidad LDL-C Colesterol de baja densidad calculado con la fórmula de Friedwald en niveles <300mg/dL Wilcoxon para datos no paramétricos T pareada: datos paramétricos Variables cualitativas McNemar

12.2 Objetivo específico 2.-

Identificar las asociaciones entre genotipo y las concentraciones de triglicéridos en ayuno

En cuanto a los parámetros bioquímicos basales, la mediana de triglicéridos en la población de estudio fue de 189.5mg/dL, más de la mitad de la población (66.7%) presentó niveles por encima de 150mg/dL. Por grupo, los portadores presentaron menores concentraciones de triglicéridos basales, aunque no llegó a ser significativo ($p=0.39$).

Respecto a los datos dietéticos, y antropométricos que pudieran determinar las concentraciones basales y postprandiales, el consumo promedio de la población fue de 1605kcal. La distribución de macro nutrientes en la población: Hidratos de carbono 52%, Proteínas 18.6%, Lípidos 28.9%, no fue distinta de las recomendaciones para la población general. Por su parte, el grupo de los portadores tuvo un mayor consumo de proteínas (20.5 vs 17.4%) ($p=0.13$) y un menor consumo de lípidos (31.9 vs 24.18%) ($p=0.58$) tendencia que continuó en los siguientes valores relacionados: gramos de grasa, grasas saturadas, mono insaturadas, polinsaturadas, ácidos grasos, omega 3, omega 6 ($p >0.05$). Es importante resaltar que el consumo de azúcares simples en ambos grupos rebasó de manera importante la recomendación para la población en general (25gr OMS), excediéndola en el grupo control más de dos veces (62.3gr). El resto de parámetros se encontraron dentro de las recomendaciones y no hay diferencias en el consumo por grupos ($p >0.05$). Es importante destacar que estos datos representan únicamente al 24.5% de la población en estudio, 24.3% de los portadores y 24.6% de los controles.

En cuanto a las características antropométricas de la población, como es de esperarse, los valores difieren en hombres y mujeres. La media del peso en las mujeres es de 67.6 ± 9.7 , mientras que en los hombres es de 79.9 ± 12.5 . El 74.6% (53) de las mujeres en estudio presentó obesidad abdominal (Cintura ≥ 80 cm NOM043), mientras que el 67.7 % (21) de los hombres presentó esta condición (Cintura ≥ 90 cm NOM043), entre ambos grupos la diferencia no es estadísticamente significativa ($p=0.81$). El 66.2% (47) de las mujeres, se encontraron en riesgo cardiovascular alto en función de su índice cintura cadera, mientras que solo el 19.4% (6) de los hombres tuvieron esta condición, por su parte, el 19.7% (14) y el 22.6% (7) de mujeres y hombres respectivamente presentaron riesgo cardiovascular moderado, En contraste, la mitad de la población masculina 54.8% (17) se encuentra en riesgo muy bajo, mientras que solo el 9.9% (7) de las mujeres compartió esta condición, las

diferencias entre grupos por genotipo no son estadísticamente significativas ($p=0.32$),

El resto de parámetros antropométricos representan únicamente al 25.4% (26) de la población. El volumen de grasa abdominal V.F.A en las mujeres del grupo del alelo de menor frecuencia fue mayor que las no portadoras (146.2 vs 112.7) sin embargo esta diferencia no llega a ser estadísticamente significativa ($p= 0.96$). El resto de variables tuvieron un comportamiento similar en ambos grupos ($p >0.05$).

12.3 Objetivo específico 3.-

Describir la respuesta postprandial y determinar las diferencias entre ambos grupos.

El comportamiento de las concentraciones de triglicéridos durante la prueba, se muestra en la figura 6, se observa que el aumento comenzó a los 30 minutos, ambos grupos mantuvieron sus niveles hasta el tiempo 180 donde comienza el aclaramiento, el cual resultó más pronunciado en los portadores. Durante la prueba, no se presentó diferencia en el comportamiento entre ambos grupos ($p=0.43$) Las concentraciones de colesterol total, HDL-C, glucosa e insulina, no se ven afectadas por la prueba de grasa y son similares en portadores y no portadores ($p >0.05$). (Tabla 6)

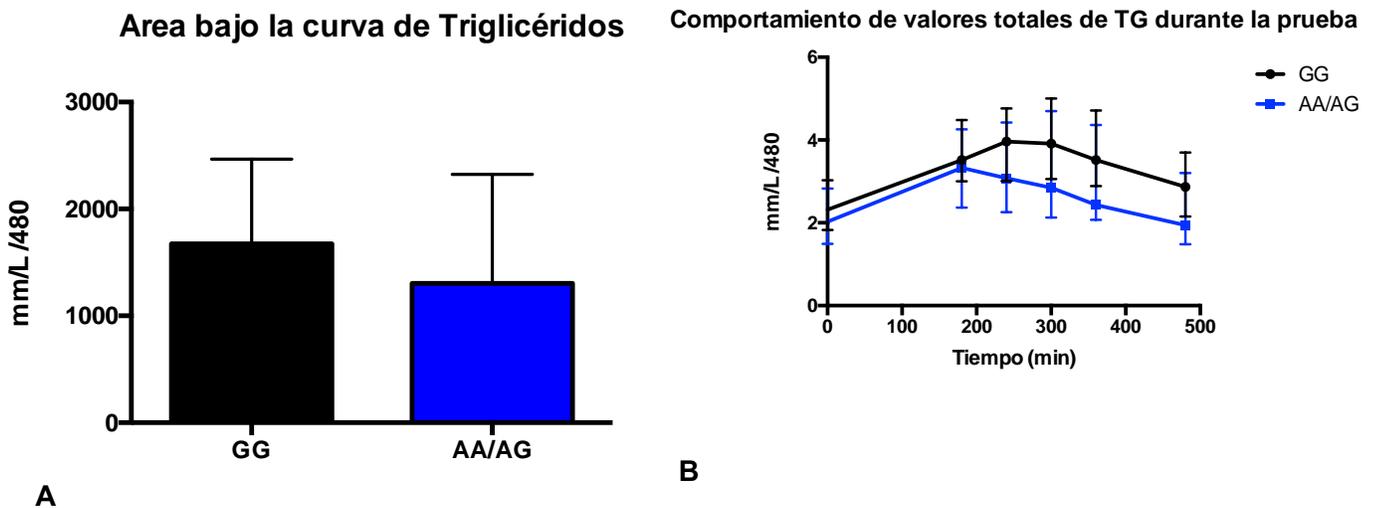


Figura 6.- A: Área bajo la curva total de triglicéridos. Valor de ($p= 0.43$) B: Comportamiento de los valores totales de triglicéridos durante la prueba de tolerancia oral a la grasa. (n=102) Negras GG=65. Azules= AG/AA= 37. Prueba entre tiempos: Wilcoxon: 180 ($p=0.33$). 240 ($p=0.12$). 300 ($p=0.07$). 360 ($p=0.06$). 480 ($p=0.06$). Efecto del tiempo ($p=0.001$) Efecto del genotipo ($p=0.43$) Interacción del GENOTIPO*TIEMPO ($p=0.13$) ANOVA de medidas repetidas

| Tabla 6.- Comportamiento del perfil metabólico después de la carga oral de grasa (n=102) | | | |
|---|----------------------------|-----------------------------|---------------|
| | Alelo silvestre (GG) 65 | Alelo Menor AA + AG 31+6 | Valor de p |
| Triglicéridos | | | |
| iABC (mmol/L/min) | 521.1 (209-738) | 374.8 (159-511) | 0.005 |
| ABC (mmol/L) /min | 1741 (943.6 – 2372.3) | 1302 (1033-2322) | 0.43 |
| Colesterol | | | |
| iABC- (mmol/L) /min | -107.7 ± 121.7 | -120.8 ± 108.3 | 0.87 |
| ABC- (mmol/L) /min | 2413.5 ± 374.1 | 2407.8 ± 484.7 | 0.72 |
| HDL-C | | | |
| iABC- (mmol/L) /min | -38.2 ± 30.4 | -40.6 ± 31.2 | 0.44 |
| ABC- (mmol/L) /min | 485.2 (419 - 557) | 501.7 (417 – 600) | 0.61 |
| Glucosa | | | |
| iABC(mmol/L) /min | -92.2 ± 240.3 | -140.2 ± 226 | 0.25 |
| ABC (mmol/L) /min | 2551 (2386 - 2760) | 2560 (2405 - 2663) | 0.76 |
| Insulina | | | |
| iABC- (μU/L)/min | 4854 (2740 - 9268) | 5226 (2073 - 8464) | 0.38 |
| ABC- (μU/L)/min | 9462 (666240 - 14173) | 9351 (4956 - 13875) | 0.21 |

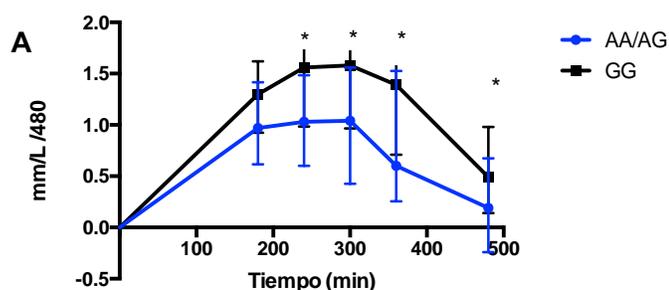
ABC Área Bajo la Curva iABC Área bajo la curva incremental HDL-C Colesterol de alta densidad. Wilcoxon para datos no paramé

12.4 Objetivo específico 4.-

Describir la respuesta postprandial incremental y determinar las diferencias entre ambos grupos.

La figura 7 muestra el comportamiento de los valores incrementales de triglicéridos, el grupo de portadores alcanzó menores niveles de triglicéridos durante toda la prueba ($p=.001$). Los portadores tuvieron menores valores de triglicéridos incrementales respecto al grupo control (521 vs 374), mismo que es significativo ($p= .005$).

Comportamiento de valores incrementales de TG durante la prueba



B

Area bajo la curva incremental de TG

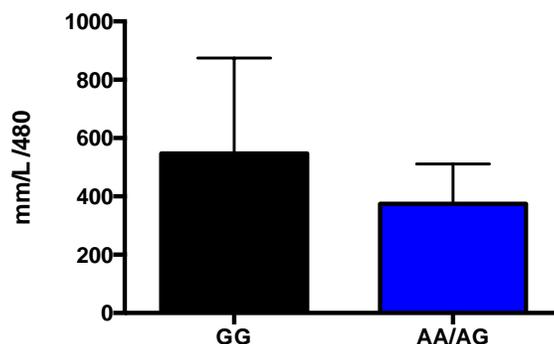


Figura7.-

A: Comportamiento de los valores incrementales de triglicéridos durante la prueba de tolerancia oral a la grasa. (n=99) Negras GG=65. Azules= AG/AA= 37 Prueba por tiempo: Wilcoxon ($p= >.05$). **B:** Área bajo la curva incremental de triglicéridos. Valor de ($p= 0.005$) Wilcoxon. Prueba entre tiempos: Wilcoxon: 180 ($p=0.13$), 240 ($p=0.01$), 300 ($p=0.004$), 360 ($p=0.005$), 480 ($p=0.049$).

12.5 Objetivo específico 5.-

Determinar los factores asociados a la respuesta postprandial incremental y cuantificar su impacto.

| Tabla 7.- Modelo multivariable | | | | | |
|--|--------|-------|------------|----------------------------|-----------------------------|
| Variable de desenlace: Área incremental bajo la curva de Triglicéridos (n=102) | | | | | |
| | B | t | Valor de p | Intervalo de confianza 95% | Coefficientes semiparciales |
| Constante | -573 | -1.38 | 0.169 | (-1395 – 248) | |
| Triglicéridos en ayuno | .790 | 3.54 | 0.001 | (-.348– 1.23) | .316 |
| Genotipo | -183 | -2.71 | 0.008 | (-316.8 – -49.29) | -.242 |
| Índice cintura-cadera | 1049.1 | 2.21 | 0.029 | (108.4 - 1989) | .197 |
| R 0.503 R cuadrado 0.253 R ajustada .229 Valor de F 10.614 Valor de p .001 | | | | | |

El análisis multivariable de regresión lineal, muestra que las variables, que tuvieron mayor impacto sobre el área bajo la curva incremental de triglicéridos son los niveles de triglicéridos en ayuno, $\beta = .790$ ($p=0.001$), el genotipo $\beta = -0.183$ ($p=0.008$), y el índice cintura-cadera $\beta = 1049.1$ ($p=0.029$), estas variables explican el 25% de la variabilidad del área incremental bajo la curva de triglicéridos ($p=0.01$).

12.6 Objetivo secundario 1.-

Determinar las diferencias en los subrogados de sensibilidad a la insulina entre ambos grupos después de una curva de tolerancia oral a la glucosa.

La tabla 7 muestra que los portadores tuvieron menor área bajo la curva incremental y total de insulina ($p = 0.001$), En cuanto a otros subrogados, los portadores tienden a tener niveles superiores de área bajo la curva de glucosa, y menores de índice de OGIS, lo que se traduce en mayor sensibilidad a la insulina, sin embargo estos valores no alcanzan significancia estadística ($p > 0.05$)

| Tabla 8 Subrogados de sensibilidad a la insulina (n=91) | | | |
|--|-------------------------------|------------------------------|------------|
| | Alelo silvestre (GG) 70 | Alelo Menor (AG) 21 | Valor de p |
| Glucosa | | | |
| iABC- (mmol/l)/min | 215 ± 145 | 261 ± 165 | 0.19 |
| ABC- (mmol/l)/min | 834 ± 175 | 898 ± 194 | 0.14 |
| Insulina | | | |
| iABC- (μl)/min | 5071 (3763- 7453) | 7966(5867 - 11195) | 0.001 |
| ABC- (μl)/min | 7627(5815 - 10824) | 12023 (8600 -16660) | 0.001 |
| Índice de OGIS | 419.3 + 71.8 | 399 + 72.1 | 0.23 |

ABC Área Bajo la Curva iABC Área bajo la curva incremental. T de student para variables paramétricas. U de Mann Withney para variables no paramétricas.

12.7 Objetivo secundario 2.-

Determinar los factores asociados a los marcadores de sensibilidad a la insulina y cuantificar su impacto.

Los factores asociados a la respuesta posprandial de insulina que tuvieron mayor predicción sobre el área bajo la curva total de insulina fueron el Índice de Masa corporal (IMC) ($p=0.001$), el genotipo ($p=0.015$) y el componente principal de ancestría 2 ($p=0.033$), en conjunto estas variables explican el 33% de la variabilidad del área bajo la curva de insulina ($p = 0.001$) (**Tabla 9**).

| Tabla 9 Modelo multivariable | | | | | |
|---|------------------|-----------------|------------------|----------------------------|-----------------------------|
| Variable de desenlace: Área bajo total la curva de insulina | | | | | |
| | B | t | Valor de p | Intervalo de confianza 95% | Coefficientes semiparciales |
| Constante | -6669.4 | -2.08 | 0.040 | (-13039- -299) | |
| IMC | 585.07 | 4.95 | 0.001 | (350 - 819) | .427 |
| PC2 | -16163 | -2.16 | 0.033 | (-30965 - 1361) | -.187 |
| Genotipo | 2610 | 2.47 | 0.015 | (512.5 - 4708) | .213 |
| R 0.575 | R cuadrado 0.330 | R ajustada .308 | Valor de F 14.79 | Valor de p .001 | |

ANÁLISIS SECUNDARIO

Los siguientes resultados representan una muestra sin pareamiento de 153 pacientes. El rango mínimo y máximo de edad es de 20 a 65 años. Hay mayor participación por parte de las mujeres en ambos grupos. El índice de masa corporal (IMC) es ligeramente superior en los grupos con el alelo común. La mayor parte de los participantes no tuvieron alteraciones en el metabolismo de la glucosa. Es importante señalar que la mayoría de los pacientes presenta sobrepeso u obesidad.

| Tabla 10 Características generales de la población (n=153) | | | | |
|--|-----------------------------|-----------------------|---------------------|------------|
| | Alelo silvestre (GG) 115 | Alelo (AG) 32 | Alelo (AA) 7 | Valor de p |
| Género | | | | |
| Hombre (%) | 40 (35.1%) | 10 (31.3%) | 5 (71.4%) | 0.94 |
| Mujeres (%) | 74 (64.9 %) | 22 (68.8%) | 2 (28.6%) | |
| Edad (años) | 47 (37.5-56) | 50 (38.5-55.7) | 47 (37-59) | 0.80 |
| IMC (kg/m ²) | 26.9 ± 3.9 | 28.3 ± 3.6 | 28.0 ± 6.6 | 0.22 |
| PC1 | -.0025 ± .065 | -.0092 ± .076 | -.0180 ± .072 | 0.54 |
| PC2 | .0088 (-.036 - .042) | -.0121 (-.930 - .148) | .044 (-.025 - .064) | 0.03 |
| PAD (mmHg) | 75 (70-80) | 75 (70-80) | 70 (65-73) | 0.25 |
| PAS (mm/Hg) | 120 (110-124) | 115 (110-130) | 110 (105-120) | 0.43 |
| Status glucémico | | | | |
| Nomoglucémico | 97 (85.1%) | 26 (81.3%) | 7 (100%) | 0.57 |
| Intolerante a la glucosa | 17 (14.9%) | 10 (18.8%) | | |
| Obesidad | | | | |
| Normopeso | 40 (35.1%) | 6 (18.8%) | 4 (57.1%) | |
| Sobrepeso | 50 (43.9%) | 18 (56.3%) | | 0.03 |
| Obesidad I | 21 (18.4%) | 6 (18.8%) | 2 (28.6%) | |
| Obesidad II | 3 (2.6%) | 2 (6.3%) | 1 (14.3%) | |

IMC: Índice de Masa Corporal PAD: Presión arterial Sistólica PAS: Presión arterial Sistólica PC1: Componente principal 1 PC2: Componente principal 2 *Valor de p: chi 2++ Valor de p: Kruskal Wallis +Valor de p: ANOVA

En cuando a las características bioquímicas basales, se resalta la diferencia en la concentración de triglicéridos en ayuno entre los tres grupos, mostrando una tendencia a mayores concentraciones por parte de los portadores. Sin embargo no muestra un gradiente en relación al alelo de menor frecuencia.

| Tabla 11 Características bioquímicas basales de la población (n=154) | | | | |
|--|-----------------------------|-------------------|-----------------|------------|
| | Alelo silvestre (GG) 115 | Alelo (AG) 32 | Alelo (AA) 7 | Valor de p |
| Triglicéridos (mg/dL) | 179.5 (125-245) | 188 (139-277) | 161 (94-178) | 0.19 |
| Normal | 46 (40.4%) | 10 (31.3%) | 3(42.9%) | 0.66 |
| Hipertrigliceridemia | 68 (59.6%) | 22 (68.8%) | 4 (57.1%) | |
| Colesterol total (mg/dL) | 210 ± 37.7 | 209.9 ± 44.9 | 207 ± 37.3 | 0.98 |
| Normal | 67 (58.8%) | 17 (53.1%) | 4 (57.1%) | 0.90 |
| Hipercolesterolemia | 47 (41.2%) | 15 (46.9%) | 3 (42.9%) | |
| HDL-C (mg/dl) | 44 (38-53) | 45 (38.2-51) | 44 (40-66) | 0.99 |
| LDL-C (mg/dl) | 122 ± 30.4 | 117.6 ± 34.2 | 132.6 ± 27.2 | 0.50 |
| Apo-B | 103.2 (85.9-123) | 99.6 (80.1-118.4) | 105 (88.7-127) | 0.79 |
| Glucosa (mg/dl) | 97 (91-108) | 100 (94-110) | 97(87-107) | 0.34 |
| Insulina (µl) | 8.6 (6-12) | 9 (6.8-13.9) | 4.8 (3.5-11.9) | 0.11 |

HDL-C Colesterol de alta densidad **LDL-C** Colesterol de baja densidad calculado con la fórmula de Friedwald en niveles <300mg/dL *Variables cualitativas: Chi2 Variables no paramétricas: Kruskal Wallis Variables paramétricas: ANOVA de un factor Chi2 para variables cualitativas

La tabla 12 muestra las concentraciones de triglicéridos posterior a la carga de grasa. Se observa una tendencia a menor respuesta posprandial en las concentraciones incrementales de triglicéridos, lo que se hace significativo una vez que es ajustado por las concentraciones en ayuno. ($p=0.01$)

Tabla 12 Comportamiento del perfil metabólico después de la carga oral de grasa (n=153)

| | Alelo silvestre (GG) 114 | Alelo (AG) 32 | Alelo (AA) 7 | Valor de p |
|----------------------|-----------------------------|--------------------|----------------------|-----------------------|
| Triglicéridos | | | | |
| iABC (mmol/L/min) | 458 (231- 694) | 377 (278- 534) | 158 (88-489) | 0.08 0.01** |
| ABC (mmol/L) /min | 1568 (961 - 2344) | 1401 (1069 - 2377) | 1007 (795 – 1449) | 0.43 |
| Colesterol | | | | |
| iABC- (mmol/l) /min | -120(-203 – -31) | -133(-215 – -66) | -40 (-194 – -66) | 0.36 |
| ABC- (mmol/l) /min | 2493 ± 437 | 2427 ± 519 | 2518 ± 459 | 0.96 |
| HDL-C | | | | |
| iABC- (mmol/l) /min | -38.7 (-63.6 – -15.3) | -47.3 (-67 – -25) | -7.7 (-36.4 – -20.9) | 0.04 |
| ABC- (mmol/l) /min | 507 (444-597) | 498 (428-610) | 529 (510-754) | 0.55 |
| Glucosa | | | | |
| iABC(mmol/l) /min | -101.2 ± 220.3 | -142.6 ± 232.9 | -86.19 ± 197.8 | 0.67 |
| ABC (mmol/l) /min | 2522 (2364-2748) | 2560 (2401-2695) | 2560 (2108-2623) | 0.43 |
| Insulina | | | | |
| iABC- (µl)/min | 4924 (3041-8165) | 5419 (2496-8720) | 3105 (1797-8934) | 0.70 |
| ABC- (µl)/min | 9171(6249-13701) | 10017(6990-14252) | 5055(4101-16662) | 0.30 |

ABC Área Bajo la Curva **iABC** Área bajo la curva incremental **HDL-C** Colesterol de alta densidad
 Variables no paramétricas: Kruskal Wallis Variables paramétricas: ANOVA de un factor ** Valor de p ANCOVA usando valores de triglicéridos en ayuno como covariable

El análisis multivariable (**Tabla 13**) muestra que las variables que tuvieron mayor impacto sobre la respuesta postprandial de triglicéridos en concentraciones incrementales son: Concentración de triglicéridos en ayuno, genotipo, componente principal de ancestría 2 y edad ($p < 0.05$). Los cuales explican el 17% de la variabilidad del área incremental.

Tabla 13 Modelo multivariable
 Variable de desenlace: Área incremental bajo la curva de Triglicéridos (N=153)

| | B | t | Valor de p | Intervalo de confianza 95% | Coefficientes semiparciales |
|--|--------|-------|--------------|----------------------------|-----------------------------|
| Constante | 7588 | .863 | 0.39 | (-9793 - 24969) | |
| Triglicéridos basales | 70.5 | 3.61 | 0.001 | (31.9 -109.1) | .270 |
| PC2 | 47342 | 1.47 | 0.141 | (-15894- 110579) | .111 |
| Edad | 481.1 | 2.65 | 0.009 | (122.3 – 839.9) | .198 |
| Genotipo | -10507 | -2.08 | 0.039 | (-20459 – -555) | -.156 |
| R 0.417 R cuadrado 0.173 R ajustada .151 Valor de F 7.767 Valor de p .001 | | | | | |

13.- CONCLUSIÓN

La variante rs139961185 del gen *SIK3* tiene influencia sobre la respuesta postprandial de triglicéridos, los portadores presentan una menor área bajo la curva incremental de triglicéridos después de una carga oral de grasa comparado con los no portadores ($p= 0.005$), el aclaramiento, y la depuración es mayor en los portadores en comparación con los no portadores, lo que es clínica y estadísticamente significativo ($p=.001$).

14.- DISCUSIÓN

Nuestros resultados muestran la influencia de la variante exclusiva de mexicanos rs139961185 del gen *SIK3* sobre el metabolismo de lípidos y homeostasis de la glucosa. Los portadores tienen menores concentraciones de triglicéridos postprandiales 374 (159-511) vs 521 (209-738) ($p=0.005$) y un aclaramiento más pronunciado. ($p<.005$). Estos resultados contrastan con lo encontrado por Ko y cols⁵³. quienes asociaron la variante a mayores niveles de triglicéridos en ayuno y postprandiales; sin embargo el estudio previo no consideró variables de confusión como género, edad, estatus glucémico, índice de masa corporal y ancestría, variables importantes de confusión que pueden dar lugar a falsos positivos.

Los mecanismos por medio de los cuales explican este decremento son controversiales siendo variante intrónica abre la posibilidad de que sean distintos mecanismos que expliquen el fenotipo. Los portadores de la variante tienen un comportamiento similar al del modelo murino knock out, es posible que la variante esté relacionada a una pérdida de la función. Choi y cols⁷², mediante un modelo animal (*Drosophila*) mutado en LKB1 interesantemente mostró un decremento en el almacenaje de lípidos y un incremento de la expresión de brummer, (homólogo de la lipasa adiposa de triglicéridos en humanos) a través de la activación de la histona HDAC4, la cual está modulada por condiciones dietéticas; en ayuno prolongado, la hormona adipocinética (AKH), homóloga de la vía del glucagón, inhibe la actividad cinasa de LKB1, disminuyendo la fosforilación de *SIK3* y consecuentemente induce la actividad lipolítica de HDAC4, lo que provoca un mayor aclaramiento de triglicéridos.

Esto concuerda con lo encontrado por Wang, y cols⁷³. quienes reportaron que la pérdida de *SIK2* en *Drosophila* (mediante la interrupción de *SIK3*), resultaba en la defosforilación de HDAC4 y la subsecuente activación de FOXO, esta activación induce vías metabólicas lipolíticas. Estos datos sugieren que la desinactivación de la 2da clase de HDAC seguida de la activación de FOXO puede ser una causa de los fenotipos de *SIK3* -/- y de lo encontrado en los sujetos portadores del polimorfismo.

Para poder comprobar el mecanismo de acción, por medio del cual la variante confiere resistencia a una dieta alta en grasa, se garantiza la necesidad de análisis de expresión en *LKB1*, *SIK3*, y *HDAC*'s.

La baja expresión de genes relacionados con el gasto energético como *PPARGC1A* y *UCP1* en tejido adiposo entre silvestres y knock out, supone que el fenotipo de lipodistrofia puede estar causado más por anomalías en expresiones hepáticas que en tejido adiposo, sugiriendo una mayor actividad de *SIK3* en la grasa corporal, por lo que es un regulador clave para LKB1 Uebi⁶², por su parte, propone que la desregularización del metabolismo de ácidos

biliares puede ser una de las causas del fenotipo de lipodistrofia en el ratón knock out. Una de las debilidades del estudio es no poder comprobar si los sujetos portadores presentan el fenotipo de lipodistrofia, ya que se cuenta solo con el 25% de los datos.

La variante en estudio tiene influencia sobre la respuesta después de una carga de glucosa, lo que concuerda con el fenotipo del modelo *SIK3*^{-/-}, los portadores presentaron mayor sensibilidad a la insulina, el mecanismo que pudiera explicar este proceso es incierto. Uebi⁶² mostró que los hígados de los ratones *SIK3*^{-/-} tuvieron AMPK activa y un mejoramiento de gluconeogénesis, sugiriendo que la pérdida de LKB1 causa la deficiencia de *SIK3* y subsecuentemente resistencia a AMPK. Itho Y y cols.⁶³, propusieron el papel de *SIK3* como supresor predominante en la expresión génica de la gluconeogénesis en los hepatocitos, por su parte Wang et al⁷⁴., mediante un análisis de haplotipos reveló que los genes *SIK3*, *Apoa1*, y *ApoC3* son candidatos para un QTL en cromosoma 9 llamado Bglu17 (24.6 cM, logaritmo de odds ratio (LOD) 5.4), relacionado a la regulación de niveles de glucosa en ayuno, contribuyendo también a la variación de niveles lípidos en plasma.

Nuestro estudio encontró una fuerte e independiente asociación entre la obesidad abdominal, medida como índice cintura-cadera y una mayor respuesta postprandial, este resultado es consistente con lo encontrado por Almeda y cols⁷⁵. en pacientes con hiperlipidemia familiar combinada en población mexicana. El mecanismo puede estar modulado por acumulación de grasa en hígado lo que representa un aumento en la producción de partículas VLDL⁷⁶. Otro potencial mecanismo que explica el fenómeno es que la grasa intrabdominal se caracteriza por tener una menor capacidad para inhibir la lipólisis; como resultado la concentración sanguínea de ácidos grasos es mayor en obesidad abdominal.

Algunos estudios han confirmado la relación entre los niveles de triglicéridos en ayuno y la respuesta postprandial^{77 78}, lo que concuerda con nuestros resultados, la medición de triglicéridos en ayuno puede ser considerado como la medición de partículas VLDL almacenadas, cuanto mayor sea el nivel de ayuno, mayor es el almacén de VLDL's en el intestino, mayor es la dificultad de los quilomicrones para competir con las VLDL's en su eliminación y mayor la respuesta postprandial, aún a pesar de la afinidad de la lipasa lipoproteica por los quilomicrones⁷⁷. Una limitante del estudio es no contar con mediciones de apolipoproteínas procedentes del metabolismo exógeno y endógeno (apob48 y apob100 respectivamente), que permitan elucidar si la respuesta postprandial se encuentra modulada por un mayor almacenamiento de partículas VLDL's o una mayor producción de quilomicrones.

El estudio de los determinantes genéticos de la lipemia postprandial es hasta ahora un fenómeno poco estudiado en población mexicana, hasta nuestro conocimiento, no se ha

podido establecer una relación causal o de asociación entre alguna variante genética y la respuesta postprandial; *SIK3* es la primera variante que se ha encontrado como moduladora de la lipemia postprandial en mexicanos, por lo que cobra particular interés el mecanismo por medio del cual la variante confiere una resistencia a una dieta alta en una población con alta prevalencia de enfermedades metabólicas.

El estudio de variantes genéticas asociadas a fenotipos de alto riesgo cardiovascular en población mexicana ha sido una estrategia importante y exitosa para generar conocimiento en un importante problema de salud pública; sin embargo se ha visto obstaculizado por diversos factores entre ellos la sub representación de los grupos hispanos en los estudios de asociación genética poblacional, lo que ha condicionado encontrar variantes como *SIK3* relacionadas a triglicéridos.

Existen distintos retos a los que se enfrenta el estudio de asociación entre grupos étnicos y desordenes metabólicos: la compleja subestructura poblacional mestiza, hace necesario considerar individuos bien caracterizados a través de marcadores de ancestría que permitan estimar el grado de diferencia poblacional, cuantificación de los componentes de ancestría en el presente estudio, demostró ser una variable de influencia sobre la variabilidad en la respuesta postprandial, por lo que su posterior control entre los grupos permitió establecer una asociación mas real.

Otro reto a considerar en el estudio de asociación genética es el control de las variables de confusión, algunas condiciones relacionadas con hipertrigliceridemia (diabetes, obesidad) son también comunes en la población mexicana, por lo que se encontró de particular importancia elegir individuos sin etiologías primarias, en donde los factores ambientales y de ancestría pudiesen ser controlados a través del pareamiento.

Este hallazgo permite confirmar la contribución genética a la variabilidad de rasgos fenotípicos de influencia metabólica, el estudio de variantes genéticas en poblaciones se confirma como una estrategia exitosa para ayuda a entender los componentes relacionados a la modulación de mecanismos relacionados a enfermedades de alta prevalencia en la población mexicana. El estudio de las poblaciones en sus particularidades, en este caso genéticas, garantiza un mejor acercamiento para considerar evaluaciones, diagnósticos y tratamientos mejor dirigidos en poblaciones vulnerable.

15.- CRONOGRAMA

| ACTIVIDADES | AÑO | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 2014 | | | | | 2015 | | | | | | | | | | | | 2016 | | | | | | |
| | AGO | SEP | OCT | NOV | DIC | ENE | FEB | MAR | ABR | MAY | JUN | JUL | AGO | SEP | OCT | NOV | DIC | ENE | FEB | MAR | ABR | MAY | JUN | JUL |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 |
| Revisión Bibliográfica | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Diseño del Protocolo de Investigación | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Estandarización en Instrumentos de Medición | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Aprobación del comité de ética | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Genotipificación de sujetos con la variante de riesgo y la silvestre del rs139961185 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Captación de sujetos | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Construcción de base de datos | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Procesamiento y análisis estadístico | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Elaboración de informe técnico final / tesis | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Divulgación de resultados | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

16.- REFERENCIAS

1. Aguilar-Salinas CA, et al, Genetic and environmental determinants of the susceptibility of Amerindian derived populations for having hypertriglyceridemia, *Metabolism* (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2014.03.012>
2. Toth , et al. Prevalence of lipid abnormalities in the United States: the National Health and Nutrition Examination Survey 2003–2006. *J Clin Lipidol* 2012;6:325–30
3. Vinueza R, et al. Dyslipidemia in seven Latin American cities: CARMELA study. *Prev Med* 2010;50:106–11.
4. Aguilar-Salinas, CA, et al, Prevalence of dislipidemias in the Mexican National Health and Nutrition Survey 2006. *Salud Pública de México*, 52(Supl. 1), S44-S53.
5. Aguilar-Salinas CA, et al. *Dislipidemias de lo clínico a lo molecular*. Interistemas Editores, 2008.
6. Organización Mundial de la Salud. Centro de prensa. 2015
7. Katznel LI et al. Chapter 110. Dyslipoproteinemia. In Halter J Bet al. *Hazzard's geriatric medicine and gerontology*, 6e. Retrieved December 14, 2014 from <http://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=371&Sectionid=41587731>.
8. Ginsberg HN. Is hypertriglyceridemia a risk factor for atherosclerotic vascular disease? A simple question with a complicated answer. *Ann. Intern. Med.* 1997; 126(11): 912–914
9. Austin MA, et al. Hypertriglyceridemia as a cardiovascular risk factor. *Am.J. Cardiol.* 1998; 81(4A):7B–12B
10. Miller M. Is hypertriglyceridaemia an independent risk factor for coronary heart disease? *Eur. Heart J.* 1998; 19(suppl H): H18–H22
11. Le NA, et al. The role of hypertriglyceridemia in atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* 2007, 9(2):110-115
12. Hyson D, et, al Postprandial lipemia and cardiovascular disease. *Curr. Atheroscler. Rep.* 2003; 5(6):437–444
13. Jackson KG et, al. Postprandial lipemia and cardiovascular disease risk: interrelationships between dietary, physiological and genetic determinant. *Atherosclerosis.* 2012; 220(1):22-33
14. Hyson D, et, al. Postprandial lipemia and cardiovascular disease. *Curr. Atheroscler. Rep.* 2003; 5(6):437–444
15. Borén J, et, al. Taskinen MR. Postprandial hypertriglyceridemia as a coronary risk factor. *Clin Chim Acta.* 2014 Apr 20; 431: 131-42
16. Kolovou GD, et al. Assessment and clinical relevance of non-fasting and postprandial triglycerides: an expert panel statement. *Curr Vasc Pharmacol* 2011; 9:258–70.
17. Kiens B, et al. Effects of insulin and exercise on muscle lipoprotein lipase activity in man and its relation to insulin action. *J. Clin. Invest.* 1989; 84:1124–1129. [PubMed: 2677048]
18. Cohn JS, McNamara JR, Cohn SD, et al. Postprandial plasma lipoprotein changes in human subjects of different ages. *J Lipid Res* 1988; 29:469-79
19. Puga GM, Meyer C, Everman S, et al. Postprandial lipemia in the elderly involves increased incorporation of ingested fat in plasma free fatty acids and small (Sf 20-400) triglyceride-rich lipoproteins. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2011; 301:E356-

20. Lobstein T, Baur L, Uauy R. Obesity in children and young people: a crisis in public health. *Obes Rev* 2004;5(Suppl 1):4-104
21. Su JW, Ugo Nzekwu MM, Ball GD, et al. Postprandial lipemia as an early predictor of cardiovascular complications in childhood obesity. *J Clin Lipidol* 2009;3:78-84
22. Couillard C, Bergeron N, Prud'homme D, et al. Gender difference in postprandial lipemia: importance of visceral adipose tissue accumulation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:2448-55
23. van Beek AP, de Ruijter-Heijstek FC, Erkelens DW, et al. Menopause is associated with reduced protection from postprandial lipemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:2737-41
24. Lopez-Miranda J, Williams C, Lairon D. Dietary, physiological, genetic and pathological influences on postprandial lipid metabolism. *Br J Nutr* 2007;98:458-73
25. Peddie MC, Rehrer NJ, Perry TL. Physical activity and postprandial lipidemia: are energy expenditure and lipoprotein lipase activity the real modulators of the positive effect? *Prog Lipid Res* 2012;51:11-22
26. Mero N, Syvanne M, Eliasson B, et al. Postprandial elevation of ApoB-48-containing triglyceride-rich particles and retinyl esters in normolipemic males who smoke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:2096-102
27. Schneider J, Tesdorpf M, Kaffarnik H, et al. Alteration of plasma lipids and intermediates of lipid metabolism in healthy fasting volunteers by ethanol and fructose. *Res Exp Med (Berl)* 1976;167:159-70
28. Hubert HB, Feinleib M, McNamara PM, et al. Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation* 1983;67:968-77
29. Guerci B, Verges B, Durlach V, et al. Relationship between altered postprandial lipemia and insulin resistance in normolipidemic and normoglycose tolerant obese patients. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000;24:468-78
30. Lewis GF, O'Meara NM, Soltys PA, et al. Postprandial lipoprotein metabolism in normal and obese subjects: comparison after the vitamin A fat-loading test. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:1041-50
31. Rivelles AA, De Natale C, Di Marino L, et al. Exogenous and endogenous postprandial lipid abnormalities in type 2 diabetic patients with optimal blood glucose control and optimal fasting triglyceride levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:21539
32. Rosenson RS, Davidson MH, Hirsh BJ, Kathiresan S, Gaudet D. Genetics and causality of triglyceride-rich lipoproteins in atherosclerotic cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2014;64(23):2525-40.
33. C.T. Johansen, R.A. Hegele, Genetic bases of hypertriglyceridemic phenotype *Curr. Opin. Lipidol.* 22 (2011) 247-253.
34. Global Lipids Genetics Consortium, Willer CJ, Schmidt EM, et al. Discovery and refinement of loci associated with lipid levels. *Nat Genet* 2013; 45:1274-83
35. Pérez-Martínez et al. Update on genetics of postprandial lipemia. *Atherosclerosis Supplements* 11 (2010) 39-43
36. Moreno JA, López-Miranda J, The influence of the apolipoprotein E gene promoter (-219G/ T) polymorphism on postprandial lipoprotein metabolism in young normolipemic males. *J Lipid Res.* 2003 Nov; 44(11):2059-2064
37. Pérez-Martínez P, Pérez-Jiménez Postprandial lipemia is modified by the presence of the APOB-516C/T polymorphism in a healthy Caucasian population. *Lipids.* 2007; 42:143-150

38. Olano-Martin E, Abraham EC. Influence of apoA-V gene variants on postprandial triglyceride metabolism: impact of gender. *J Lipid Res.* 2008; 49(5):945-53
39. Jiménez-Gómez Y, Pérez-Jiménez F, López-Miranda. The -250G/A polymorphism in the hepatic lipase gene promoter influences the postprandial lipemic response in healthy men. *J Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2008; 18(3):173-181
40. Talmud PJ, Smart M; EARSII Consortium; ANGPTL4 E40K and T266M: effects on plasma triglyceride and HDL levels, postprandial responses, and CHD risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008; 28(12):2319-25
41. Delgado J., Pérez P., Pérez F., et al. ABCA1 gene variants regulate postprandial lipid metabolism in healthy men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010 May ; 30(5): 1051–1057
42. Wojczynski M. et al. Genome-wide association study of triglyceride response to a high-fat meal among participants of the NHLBI Genetics of Lipid Lowering Drugs and Diet Network (GOLDN). *Metabolism.* 2015 Oct;64(10):1359-71. doi: 10.1016/j.metabol.2015.07.001
43. Rosenberg, N. A. et al. Genome-wide association studies in diverse populations. *Nat. Rev. Genet.* 11, 356–366 (2010).
44. Flores M, Macias N, Rivera M, et al. Dietary patterns in Mexican adults are associated with risk of being overweight or obese. *J Nutr* 2010;140:1869–73.
45. Aguilar-Salinas CA. Las enfermedades crónicas no transmisibles: el principal problema de salud en México. *Salud Publica Mex* 2013;55(Suppl. 2):S347–50.
46. Kooner J, Chambers J, Aguilar-Salinas CA, et al. Genome-wide scan identifies variation in MLXIPL associated with plasma triglycerides. *Nat Genet* 2008;40:14951.
47. Weissglas-Volkov D, Aguilar-Salinas CA, Nikkola E, et al. Genome-wide association study in Mexicans identifies a new locus for triglycerides and refines European lipid loci. *J Med Genet* 2013; 50:298–308
48. Huertas-Vazquez A, Plaisier C, Weissglas-Volkov D, et al. TCF7L2 is associated with high serum triglycerides and differentially expressed in adipose tissue in families with familial combined hyperlipidemia. *Diabetologia* 2008;51:62–9.
49. Price, A. L., Zaitlen, N. A., Reich, D. & Patterson, N. New approaches to population stratification in genome-wide association studies. *Nat. Rev. Genet.* 11, 459–463 (2010).
50. Seldin, M. F., Pasaniuc, B. & Price, A. L. New approaches to disease mapping in admixed populations. *Nat. Rev. Genet.* 12, 523–528 (2011).
51. Baran, Y. et al. Fast and accurate inference of local ancestry in Latino populations. *Bioinformatics.* 28, 1359–1367 (2012).
52. Pasaniuc, B. et al. Analysis of Latino populations from GALA and MEC studies reveals genomic loci with biased local ancestry estimation. *Bioinformatics* 29, 1407–1415 (2013).
53. Ko A; Rita M. Cantor; Daphna Weissglas-Volkov; Elina Nikkola; Carlos A. Aguilar-Salinas, Paivi Pajukanta et al, Amerindian-specific regions under positive selection harbour new lipid variants in Latinos, *Nature Comms* 2014 5:3983 | DOI: 10.1038/ncomms4983 | www.nature.com/naturecommunications
54. R. Dentin, Y. Liu, S.H. Koo, S. Hedrick, T. Vargas, J. Heredia, J. Yates 3rd, M. Montminy, *Nature* 449 (7160) (2007) 366–369
55. Berggreen C. Hennrikson E., Camp-Elevation mediated by B-adrenergic stimulation inhibits salt inducible kinase (SIK)3 activity in adipocytes. *Cellular signaling* 24 (2012) 1863-1871
56. Wang B, Moya N, Niessen S, H. Hoover, et al. *Cell* 145 (4) (2011) 596–606

57. M. Bettencourt-Dias, R. Giet, R. Sinka, A. Mazumdar, W.G. Lock, F. Balloux, P.J. Zafiroopoulos, S. Yamaguchi, S. Winter, R.W. Carthew, M. Cooper, D. Jones, L. Frenz, D.M. Glover, *Nature* 432 (7020) (2004) 980–987
58. S. Charoenfuprasert, Y.Y. Yang, Y.C. Lee, K.C. Chao, P.Y. Chu, C.R. Lai, K.F. Hsu, K.C. Chang, Y.C. Chen, L.T. Chen, J.Y. Chang, S.J. Leu, N.Y. Shih, *Oncogene* 30 (33) (2011) 3570–3584.
59. Chen H, Huang S, Han X, Zhang J, Shan C, Tsang YH, Ma HT, Poon RY. Salt-inducible kinase 3 is a novel mitotic regulator and a target for enhancing antimitotic therapeutic-mediated cell death. *Cell Death Dis.* 2014 Apr 17;5:e1177
60. S. Sasagawa, H. Takemori, T. Uebi, D. Ikegami, K. Hiramatsu, S. Ikegawa, H. Yoshikawa, N. Tsumaki, *Development* 139 (6) (2012) 1153–1163.
61. Yong Kim S, Jeong S, Chah KH, Jung E, Baek KH, Kim ST, Shim JH, Chun E, Lee KY. Salt-inducible kinases 1 and 3 negatively regulate Toll-like receptor 4-mediated signal *Mol Endocrinol.* 2013; 27(11):1958-1968. doi: 10.1210/me.2013-1240
62. Uebi T, Itoh Y, Hatano O, Kumagai A, Sanosaka Matsuda J, Takemori H. et al Involvement of SIK3 in glucose and lipid homeostasis in mice. *PLoS One.* 2012;7(5):e37803
63. Itoh Y et, al. Salt-inducible Kinase 3 Signaling Is Important for the Gluconeogenic Programs in Mouse Hepatocytes. *J Biol Chem.* 2015 Jul 17;290(29):17879-93. doi: 10.1074/jbc.M115.640821. Epub 2015 Jun 5.
64. Patterson N, Price AL, Reich D (2006) Population structure and eigenanalysis. *PLoS Genet* 2(12): e190. doi:10.1371/journal.pgen.0020190
65. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS: Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972, 18(6):499–502.
66. Austin P. An Introduction to Propensity Score Methods for Reducing the Effects of Confounding in Observational Studies. *Multivariate Behavioral Research*, 46:399–424, 2011
67. Randolph, Justus J., Falbe, Kristina, Manuel, Austin Kureethara, & Balloun, Joseph L. (2014). A Step-by-Step Guide to Propensity Score Matching in R. *Practical Assessment, Research & Evaluation*, 19(18). Available online: <http://pareonline.net/getvn.asp?v=19&n=18>
68. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC: Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985 28(7):412–419.
69. Matsuda M, DeFronzo RA: Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes Care* 1999, 22(9):1462–1470.
70. Maki KC, Kelley KM, Lawless AL, Hubacher RL, Schild AL, Dicklin MR, Rains TM: Validation of insulin sensitivity and secretion indices derived from the liquid meal tolerance test. *Diabetes Technol Ther* 2011, 13(6):661–666.
71. Mari A. A Model-Based Method for Assessing Insulin Sensitivity from the Oral Glucose Tolerance Test. *Diabetes Care* 24:539-548, 2001
72. Choi S, Lim D-S, Chung J (2015) Feeding and Fasting Signals Converge on the LKB1-SIK3 Pathway to Regulate Lipid Metabolism in *Drosophila*. *PLoS Genet* 11(5): e1005263. doi:10.1371/journal.pgen.1005263
73. Wang B, Moya N, Niessen S, Hoover H, Mihaylova MM, et al. (2011) A hormone-dependent module regulating energy balance. *Cell* 145: 596–606.
74. Wang Q. et al. Genetic linkage of hyperglycemia and dyslipidemia in an intercross

- between BALB/cJ and SM/J Apoe-deficient mouse strains. *BMC Genet.* 2015; 16: 133.
75. Almeda-Valdes et al. Factors associated with postprandial lipemia and apolipoprotein A-V levels in individuals with familial combined hyperlipidemia *BMC Endocrine Disorders* 2014, 14:90 <http://www.biomedcentral.com/1472-6823/14/90>
76. Castro Cabezas M: Postprandial lipaemia in familial combined hyperlipidaemia. *Biochem Soc Trans* 2003, 31(Pt 5):1090–1093.
77. Hwu C., et al. Fasting triglyceride is a major determinant of postprandial triglyceride response in postmenopausal women. *Menopause: The Journal of The North American Menopause Society.* Vol. 15, No. 1, pp. 150/156 DOI: 10.1097/gme.0b013e3180057785
78. Vansant G. Determinants of postprandial lipemia in obese women. *International Journal of Obesity* (1999) 23, Suppl 1, 14±21
- 79.

ANEXOS

Anexo 1 Carta de consentimiento informado

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN “SALVADOR ZUBIRÁN”

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL PROYECTO:

Efecto de una variante del gen SIK3 sobre la concentración posprandial de triglicéridos, glucosa e insulina, después de una dieta alta en grasa en Mexicanos

Investigador principal: Dr. Carlos Aguilar Salinas.

Dirección del investigador: Vasco de Quiroga num. 15 CP 14000

Teléfono de contacto del investigador: 54870900 ext. 2405, celular 0445535010502

Nombre del patrocinador del estudio: No contará con patrocinio.

Versión del consentimiento informado y fecha de su preparación: Versión 1, 8 julio 2014

INTRODUCCIÓN:

Por favor, tome el tiempo que sea necesario para leer este documento, pregunte al investigador sobre cualquier duda que tenga.

Para decidir si participa o no en este estudio, usted debe tener el conocimiento suficiente acerca de los riesgos y beneficios que esto implica, con el fin de tomar una decisión informada. Este documento le dará información detallada acerca del estudio de investigación, la cual podrá comentar con su médico tratante o con algún miembro del equipo de investigadores. Al terminar de leer este documento se le pedirá que forme parte del proyecto y de ser así, bajo ninguna presión o intimidación, se le invitará a firmar este consentimiento informado.

INVITACION A PARTICIPAR Y DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

Estimado Sr.(a) _____

Acerca del estudio.

-El Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición le invitan a participar en este estudio de investigación que tiene como objetivo:

Conocer el efecto de una variante del gen SIK3 sobre la concentración de triglicéridos y otros lípidos sanguíneos, después de un desayuno estandarizado. El gen SIK3 participa en la regulación de diversos procesos metabólicos. Sin embargo, se desconoce cómo regula la concentración de triglicéridos. La variante en estudio fue identificada como un factor de riesgo para tener valores anormalmente altos en Mexicanos.

Si usted no padece diabetes, adicionalmente se le hará una curva de tolerancia a la glucosa, como complemento del estudio metabólico al que lo someteremos.

Las concentraciones de triglicéridos en la sangre, dependen de muchos factores, como dieta, ejercicio, obesidad y alteraciones de algunos genes. Se han encontrado algunas alteraciones en algunos genes específicos en mexicanos, que nos convierten en personas más susceptibles de padecer hipertrigliceridemia (triglicéridos altos). Por lo tanto es de nuestro interés, evaluar de forma más detallada el impacto que estas variaciones genéticas pudiera tener en individuos sanos, o con algunas condiciones metabólicas como dislipidemias (colesterol y/o triglicéridos alterados) o diabetes. La realización este tipo de investigaciones, puede conducir eventualmente a tener las herramientas para dar indicaciones individualizadas y ser capaces de contar con tratamientos más enfocados a tratar las causas específicas de la hipertrigliceridemia.

PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

-Se le pedirá que asista al Departamento de Endocrinología y Metabolismo para someterse a un estudio llamado curva de tolerancia a la glucosa. Este durará 3 horas

consiste en ofrecerle 75 gramos de azúcar en forma de jarabe, que usted ingerirá y posterior a esto se medirán sus concentraciones de glucosa e insulina durante 3 horas (cada 30 minutos la primera hora y posteriormente cada hora). La prueba se realizará si usted no cuenta con diagnóstico previo de diabetes.

-En una segunda visita se hará un estudio llamado "Carga de alimento mixto". Consiste en un desayuno conformado por una hamburguesa, 250 mL de leche entera y 70gr de papas a la francesa. Usted ingerirá este desayuno y después de 3 horas le tomaremos una muestra de sangre cada hora hasta una vez transcurridas 8 horas. Se harán 6 tomas de muestra de sangre de 25 mL cada toma. Para evitar las molestias que significaría cada punción venosa, canalizaremos una vena de su mano para que usted pueda estar más cómodo durante las 8 horas que dura el estudio.

-Durante el tiempo que dura el estudio, uno de los investigadores participantes aplicará un cuestionario y además lo examinará.

-Al final del estudio se le proporcionará el resultado por escrito de los exámenes de sangre basales (antes de tomar el desayuno). Se le darán indicaciones y recomendaciones en función del resultado de dicho estudio.

RESPONSABILIDADES

Las responsabilidades de los participantes incluyen:

-Reportar cambios en el estado de salud,

-Informar cambios en el tratamiento o cualquier otra acción que modifique los resultados del estudio

-Proporcionar información completa y verídica, cumplir con las citas programadas

RIESGOS E INCONVENIENTES

-Este estudio no implica riesgo alguno para su salud

-No se harán modificaciones a su tratamiento. De detectarse alguna anomalía resultante de su participación en el estudio, se le sugerirán acciones terapéuticas. Los cambios pueden ser consultados con su médico tratante.

-Si sus niveles de triglicéridos son muy altos previo al estudio (mayor de 1000 mg/dL), el estudio no será llevado a cabo.

-El Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud señala que la obtención de muestras biológicas representa un riesgo mínimo dentro de la investigación. Los riesgos de la toma de muestra sanguínea son: posibilidad de sangrado ligero o moretón en el sitio de la punción, mareo o sensación de desmayo. El personal que extraerá la muestra sanguínea está entrenado para ello, lo que minimizará los riesgos de complicaciones.

BENEFICIOS POTENCIALES

Este estudio no está diseñado para beneficiarle. Sin embargo, será informado de los resultados de los exámenes de laboratorio que le hagamos. Se le darán indicaciones y recomendaciones en función de los resultados.

CONSIDERACIONES ECONÓMICAS

No se cobrará ninguna tarifa por participar en el estudio

No se hará pago por su participación en este estudio.

COMPENSACION.

Si sufre lesiones como resultado de su participación en este estudio, nosotros le proporcionaremos el tratamiento inmediato y lo referiremos, en caso de ameritarlo, al especialista médico que requiera.

El Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán no brinda ningún tipo adicional de compensación para cubrir daños.

ALTERNATIVAS A SU PARTICIPACIÓN:

Su participación es voluntaria y usted puede elegir no participar en el estudio.

POSIBLES PRODUCTOS COMERCIALES DERIVABLES DEL ESTUDIO:

Los materiales serán propiedad del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ).

ACCIONES A SEGUIR DESPUÉS DEL TÉRMINO DEL ESTUDIO:

Usted puede solicitar resultados adicionales de sus exámenes clínicos y de las conclusiones del estudio a los Drs., Carlos A Aguilar Salinas y Liliana Muñoz Hernández del INCMNSZ al teléfono 54870900 ext 2405. La investigación es un proceso largo y complejo. El obtener los resultados finales del proyecto puede tomar varios meses.

PARTICIPACIÓN Y RETIRO DEL ESTUDIO:

Su participación es VOLUNTARIA. Si usted decide no participar, no se afectará su relación con el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán (INCMNSZ) o su derecho para recibir atención médica o cualquier servicio al que tenga derecho. Si decide participar, tiene la libertad para retirar su consentimiento e interrumpir su participación en cualquier momento.

El investigador puede excluirlo del estudio si no cumple con las visitas programadas dentro del estudio.

CONFIDENCIALIDAD Y MANEJO DE SU INFORMACIÓN

Su nombre no será usado en ninguno de los estudios. Las muestras biológicas obtenidas no contendrán ninguna información personal y se codificará con un número de serie para evitar cualquier posibilidad de identificación. Por disposición legal las muestras biológicas, incluyendo la sangre, son catalogadas como residuos peligrosos biológico-infecciosos y por esta razón durante el curso de la investigación su muestra no podrá serle devuelta. Es posible que sus muestras biológicas así como su información médica y/o genética puedan ser usadas para otros proyectos de investigación análogos relacionados con la enfermedad en estudio. No podrán ser usados para estudios de investigación que no estén relacionados con condiciones distintas a las estudiadas en este proyecto. Sus muestras podrán ser almacenadas por los investigadores por un tiempo indeterminado.

Los códigos que identifican su muestra estarán solo disponibles a los investigadores titulares, quienes están obligados, por ley, a no divulgar su identidad. Existe la posibilidad de que su privacidad sea afectada como resultado de su participación en el estudio. Su confidencialidad será protegida como lo marca la ley.

Ninguna información sobre su persona será compartida con otros sin su autorización, excepto:

- Si es necesario para proteger sus derechos y bienestar (por ejemplo, si ha sufrido una lesión y requiere tratamiento de emergencia); o
- Es solicitado por la ley.

Si usted decide retirarse del estudio, podrá solicitar el retiro y destrucción de su material biológico y de su información. Todas las hojas de recolección de datos serán guardadas con las mismas medidas de confidencialidad, y solo los investigadores titulares tendrán acceso a los datos que tienen su nombre.

La Comisión de Ética en Investigación del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición aprobó la realización de este estudio. Dicho comité es quien revisa, aprueba y supervisa los estudios de investigación en humanos en el Instituto. En el futuro, si identificamos información que consideremos importante para su salud, consultaremos con dicha Comisión de ética que supervisa el estudio para decidir la mejor forma de darle esta información a usted y a su médico. Además, le solicitamos que nos autorice recontactarlo, en caso de ser necesario, para solicitarle información que podría ser relevante para el desarrollo de este proyecto.

Los datos científicos obtenidos como parte de este estudio podrían ser utilizados en

publicaciones o presentaciones médicas.

Si usted lo solicita su médico de cabecera será informado sobre su participación en el estudio.

IDENTIFICACIÓN DE LOS INVESTIGADORES:

En caso de que usted tenga dudas posteriores en relación al estudio, por favor póngase en contacto con los Drs. Olimpia Arellano, Carlos A Aguilar Salinas y Dra. Liliana Muñoz Hernandez en el INCMNSZ al teléfono 54870900 ext 2405.

Si usted tiene preguntas acerca de sus derechos como participante en el estudio, puede hablar con el coordinador del Comité de Ética en Investigación del INCMNSZ, Dr. Arturo Galindo Fraga. Telefono: 54870900 ext 2318 o 2321

DECLARACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

He leído con cuidado este consentimiento informado, he hecho todas las preguntas que he tenido y todas me han sido respondidas satisfactoriamente. Para poder participar en el estudio, estoy de acuerdo con todos los siguientes puntos:

-Los objetivos generales, particulares del estudio y los posibles daños e inconvenientes me han sido explicados a mi entera satisfacción.

-Estoy de acuerdo en donar de forma voluntaria mis muestras de sangre para ser utilizadas en éste estudio.

-Estoy de acuerdo, en caso de ser necesario, que se me contacte en el futuro si el proyecto requiere coleccionar información adicional o si encuentran información relevante para mi salud.

Mi firma también indica que he recibido un duplicado de este consentimiento informado.

Por favor responda las siguientes preguntas:

| | SÍ (marque por favor) | NO (marque por favor) |
|--|--|--|
| a. ¿Ha leído y entendido la forma de consentimiento informado, en su lengua materna? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| b. ¿Ha tenido la oportunidad de hacer preguntas y de discutir este estudio? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| c. ¿Ha recibido usted respuestas satisfactorias a todas sus preguntas? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

- d. ¿Ha recibido suficiente información acerca del estudio y ha tenido el tiempo suficiente para tomar la decisión?
- e. ¿Entiende usted que su participación es voluntaria y que es libre de suspender su participación en este estudio en cualquier momento sin tener que justificar su decisión y sin que esto afecte su atención médica o sin la pérdida de los beneficios a los que de otra forma tenga derecho?
- f. ¿Ha discutido usted otras opciones de tratamiento con el médico participante en el estudio y entiende usted que otras opciones de tratamiento están a su disposición?
- g. ¿Entiende que no está renunciando a ninguno de sus derechos legales a los que es acreedor de otra forma como sujeto en un estudio de investigación?
- h. ¿Entiende que el médico participante en el estudio puede retirarlo del mismo sin su consentimiento, ya sea debido a que Usted no cumplió con los requerimientos del estudio?
- i. Entiende que usted recibirá un original firmado y fechado de esta Forma de Consentimiento, para sus registros personales?

Declaración

del
Yo,

sujeto:

_____ declaro que es mi decisión participar en el estudio. Mi participación es voluntaria. He sido informado que puedo negarme a participar o terminar mi participación en cualquier momento del estudio sin que sufra penalidad alguna o pérdida de beneficios. Si suspendo mi participación, recibiré el tratamiento médico habitual al que tengo derecho en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) y no sufriré perjuicio en mi atención médica o en futuros estudios de investigación. Yo puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos o beneficios potenciales derivados de mi participación en el estudio. Puedo obtener los resultados de mis exámenes clínicos si los solicito. Si usted tiene preguntas sobre el estudio, puede ponerse en contacto con los Drs. Olimpia Arellano, Carlos A Aguilar Salinas y Dra. Liliana Muñoz Hernandez. Si usted tiene preguntas acerca de sus derechos como participante en el estudio, puede hablar con el coordinador del Comité de Ética en Investigación del INCMNSZ (Dr. Arturo Galindo Fraga. Telefono: 54870900 ext 2318 o 2321). Debo informar a los investigadores de cualquier cambio en mi estado de salud (por ejemplo, uso de nuevos medicamentos, cambios en el consumo de tabaco) o en la ciudad donde resido, tan pronto como sea posible. He leído y entendido toda la información que me han dado sobre mi participación en el estudio. He tenido la oportunidad para discutirlo y hacer preguntas. Todas las preguntas han sido respondidas a mi satisfacción. He entendido que recibiré una copia firmada de este consentimiento informado.

Nombre del Participante

Firma del Participante
Fecha

Coloque su huella digital si no sabe escribir

Nombre del representante legal

Firma del representante legal
Fecha

Nombre del Investigador
Investigador

Firma del
Fecha que explicó el documento

Nombre del Testigo 1

Firma del Testigo 1
Fecha

Relación con el
participante: _____

Dirección: _____

Nombre del Testigo 2

Firma del Testigo 2

Fecha

Dirección: _____

Relación que guarda con el participante: _____

Lugar y Fecha: _____

(El presente documento es original y consta de 7 páginas)

Anexo 2 Hoja de recolección de datos

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán
Departamento de Endocrinología y Metabolismo

Proyecto: "EFECTO DE UNA VARIANTE DEL GEN **SIK3** SOBRE LA CONCENTRACION POSPRANDIAL DE TRIGLICÉRIDOS, GLUCOSA E INSULINA DESPUÉS DE UNA DIETA ALTA EN GRASA EN MEXICANOS"

| | | | |
|---------------------|--------------------|--------------|------|
| Fecha | | Registro | |
| FOLIO ID | | FOLIO | |
| Nombre | | | |
| SEXO | (0) M | (1) H | Edad |
| Fecha de nacimiento | ___/___/___/ D/M/A | | |
| Lugar de Nacimiento | | | |
| Genotipo | (1) Caso | (2) Control | |
| Ocupación | | | |
| Escolaridad | | Estado Civil | |
| Domicilio | | | |
| Tel. Casa | | Celular | |
| Trabajo | | Email | |
| Contacto | | Tel. | |

| |
|---|
| CRITERIOS DE INCLUSIÓN |
| Sujetos mayores de 18años y <65años con la variante AA+GG del rs13996185 Sujetos >18 años y <65años con la variante GG del rs13996185 Abuelos y padres mexicanos** |
| CRITERIOS DE EXCLUSIÓN ** |
| Infecciones agudas Uso de fármacos que modifiquen el perfil de lípidos Hipertrigliceridemia extrema (>500mg/dL en ayuno) Embarazo Alcoholismo Uso de estrógenos Diabetes tipo 2 en descontrol (HbA1c >8%) |

ANTECEDENTES HEREDOFAMILIARES

| HC | DM | HAS | ECV | EDAD | OB | DISLIP/ TIPO | VIVO | CAUSA MUERTE |
|----------------|----|-----|-----|------|----|-----------------|------|-----------------|
| PADRE: | | | | | | | | |
| Abuela Paterna | | | | | | | | |
| Abuelo Paterno | | | | | | | | |
| MADRE | | | | | | | | |
| Abuela Materna | | | | | | | | |
| Abuelo Materno | | | | | | | | |
| Hermanos (#) | | | | | | | | |

ANTECEDENTES PERSONALES PATOLOGICOS

| | | |
|---|-------------------|--------------------------------|
| DIABETES MELLITUS | ¿Padece Diabetes? | (0) NO (1) SI (2) NO SABE |
| Glucemia en ayuno promedio último año _____ mg/Dl | | |
| HbA1c promedio último año _____ % | | |
| Fecha Diagnóstico _____ / _____ M/A | | Edad al Diagnóstico _____ años |
| Método de Diagnóstico _____ | | Años evolución _____ |
| (1) Glucosa en ayuno (2) Curva de Tolerancia a la glucosa (3) HbA1c | | Tratamiento |

| | | |
|-------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| HIPERTENSIÓN ARTERIAL | ¿Padece Hipertensión Arterial? | (0) NO (1) SI (2) NO SABE |
| Fecha Diagnóstico _____ / _____ M/A | | Edad al Diagnóstico _____ años |
| Tratamiento | | |

| | | |
|---|------------------------|-----------------|
| OBESIDAD | ¿Tiene usted Obesidad? | (0) NO (1) SI |
| EDAD DE INICIO | | Peso Reciente |
| Peso mínimo | | Peso máximo |
| Fecha de peso máximo | | Edad |
| ¿Ha perdido peso en los últimos 6 meses? | SI / NO | Kg peso perdido |
| ¿Ha realizado alguna acción para perder peso? | SI / NO | |
| ¿Cuál? (1) Dieta (2) Ejercicio (3) Dieta y Ejercicio (4) Otro | | |
| En el último año, ¿Cuántas veces ha intentado perder peso? | | |
| ¿Se encuentra bajo algún tratamiento para bajar de peso? | (1) SI (2) NO | |
| ¿Cuál? | | |

| | | |
|---------------------------|----------------|----------|
| CARDIOVASCULARES | SI (1) /NO (0) | FECHA DX |
| (1) Historia de trombosis | | |

| | | |
|---------------------------------------|-----------------|--------------------|
| (2) Angina/Infarto agudo al miocardio | | |
| (3) EVC | | |
| (4) Insuficiencia arterial periférica | | |
| (5) Arritmia | | |
| OTRAS ENFERMEDADES | FECHA DX | TRATAMIENTO |
| | | |
| CIRUGÍAS | FECHA CX | |
| | | |

| | | | |
|---|-----------------|--|-----------------|
| DISLIPIDEMIA | | | |
| ¿Tiene colesterol alto? | (1) SI / (0) NO | ¿Tiene triglicéridos altos? | (1) SI / (0) NO |
| Fecha de diagnóstico: _____/_____/_____/ D/M/A | | Fecha de diagnóstico: _____/_____/_____/ D/M/A | |
| Edad de diagnóstico _____ años | | Edad de diagnóstico _____ años | |
| ¿Actualmente recibe tratamiento para colesterol? | (1) SI / (0) NO | ¿Actualmente recibe tratamiento para TG? | (1) SI / (2) NO |
| ¿Cuál? Tomas, dosis, tiempo de tomarlo | | ¿Cuál? Tomas, dosis, tiempo de tomarlo | |
| ¿Alguna vez ha recibido tratamiento hipolipemiente? | | (1) SI (0) NO | |
| ¿Cuál? | | ¿Hace cuánto tiempo lo suspendió? | |
| ¿Por cuánto tiempo lo suspendió? | | | |

| | | | | | | |
|---|------------|------------------|---|---------------------|--------------------|--|
| ASPECTOS GINECOLÓGICOS | | | Menarca | _____ años | | |
| Menopausia | _____ años | G: _____ | P: _____ | C: _____ | A: _____ | |
| Frecuencia y duración de los ciclos: _____ x _____ días | | | FUM: _____/_____/____ D/M/A | | | |
| Alteraciones en el Ciclo Menstrual (1) Retrasos o ciclos largos (3) Sangrado excesivo (2) Ciclos cortos (4) Amenorrea | | | | | | |
| ¿Utiliza algún método anticonceptivo? (1) SI / (0) NO | | | ¿Cuál? | | | |
| ¿Utiliza o utilizó algún método de sustitución hormonal? | | (1) SI (0) NO | (1) Estrógenos | (2) Progesterona | (3) Combinación | |
| ¿Desde cuándo? | | | | | | |
| ¿Hace cuánto tiempo lo suspendió? | | | ¿Por cuánto tiempo lo utilizó o lo está utilizando? | | | |
| | | | | | | |

| | |
|---|--------------------|
| CONSUMO DE TABACO | |
| ¿Actualmente fuma? () (1) SI (2) NO (3) NUNCA | Años fumando _____ |
| ¿Cuántos cigarros fuma/fumaba y con qué frecuencia? (1) Diario | |

| | |
|---------------|-------------------|
| (2) Semanal | Frecuencia: _____ |
| (3) Mensual | Cantidad: _____ |
| (4) Ocasional | |

| | |
|--|--|
| CONSUMO DE ALCOHOL | |
| ¿Actualmente toma alcohol? () | (1) SI (2) NO (3) NUNCA |
| ¿Cuántas copas toma (tomaba) con qué frecuencia? | |
| (1) Diario | |
| (2) Semanal | Frecuencia: _____ Años tomando _____ |
| (3) Mensual | Cantidad: _____ |
| (4) Ocasional | Tipo: _____ (1) Cerveza (2) Vino (3) Licores |

| |
|--|
| Mencione los medicamentos, suplementos, multivitamínicos que consume actualmente |
|--|

| | |
|-----------------------------|---|
| ACTIVIDAD FISICA () | |
| (1) LIGERA O SEDENTARIA | Cocinar, trabajo de oficina, ventas (sentado), mostrador, trabajo general de casa, manejar. |
| (2) MODERADA | Trabajar de pie llevando cosas, mesero, viajar en camión a pie, cargar pilas ligeras, caminar variando el peso. |
| (3) ACTIVA | Repartidos, lavar pisos o ropa con máquinas, ventas a pie. |
| (4) VIGOROSA | Trabajo en el campo, carga de bultos pesados, lavar ropa o pisos a mano, trabajar en construcción. |

| | | |
|---------------------------------------|---|---|
| EJERCICIO | ¿Realiza algún tipo de ejercicio? (1) SI _____ (0) NO _____ | |
| ¿Con que frecuencia? _____ | ¿Durante cuánto tiempo? _____ | |
| (1) Menos de 1 vez por semana | (1) Menos de 30 min | |
| (2) 1-2 veces por semana | (2) De 30min a 60min | |
| (3) 3-4 veces por semana | (3) Mas de 60min | |
| (4) 5-7 veces por semana | | |
| ¿Qué tipo de actividad realiza? _____ | | |
| Tipo de ejercicio () | (1) Moderado | Caminar 4km/hr Bicicleta (15 km/hr) Baile de salón Ejercicios aeróbicos acuáticos |
| | (2) Vigorosa | Trotar o correr Natación Baile aeróbico Bicicleta (>15 km/hr) Brincar la cuerda |

| | | | |
|---------------------------|--------------|---------------------|---------------------------------------|
| EXPLORACION FISICA | | | |
| Acantosis | (1) SI _____ | (0) NO _____ | |
| Xantomas | NO _____ | (1) Tendinoso _____ | (2) Tuberoso _____ (3) Eruptivo _____ |

VALORACIÓN NUTRIOLÓGICA / ANAMNESIS

| Hora | Tiempo | Gpo | Ración | Descripción |
|-------|----------|-----|--------|-------------|
| _____ | Desayuno | L | ___ | |
| | | C | ___ | |
| | | P | ___ | |
| | | F | ___ | |
| | | V1 | ___ | |
| | | V2 | ___ | |
| | | G | ___ | |
| _____ | Col 1 | ___ | ___ | |
| _____ | Comida | L | ___ | |
| | | C | ___ | |
| | | P | ___ | |
| | | F | ___ | |
| | | V1 | ___ | |
| | | V2 | ___ | |
| | | G | ___ | |
| _____ | Col 2 | ___ | ___ | |
| _____ | Cena | L | ___ | |
| | | C | ___ | |
| | | P | ___ | |
| | | F | ___ | |
| | | V1 | ___ | |
| | | V2 | ___ | |
| | | G | ___ | |

| DIA ANT | Kilocalorías | grs | % |
|-----------------|--------------|-----|---|
| Energía | | | |
| Proteína | | | |
| Lípidos totales | | | |
| Saturados | | | |
| Polinsaturados | | | |
| Monoinsaturados | | | |
| HC | | | |
| HC Simples | | | |

Agua Natural _____

HC'S _____

Fibra: _____

Patrón _____

| Prom 3 días | KCAL | grs | % |
|-----------------|------|-----|---|
| Energía | | | |
| Proteína | | | |
| Lípidos totales | | | |

| | | | |
|-----------------|--|--|--|
| Saturados | | | |
| Polinsaturados | | | |
| Monoinsaturados | | | |
| HC | | | |
| HC Simples | | | |

| | | | | | | | |
|---------------------------------------|--|-----------|--|------------------------|--|------------|--|
| ANTROPOMETRÍA/IMPEDANCIA (BIA) | | | | FOLIO BIA | | PAS | |
| Peso: | | LBM (Kg) | | TBW | | PAD | |
| Talla: | | SLM (kg) | | PBF (%) | | FC | |
| IMC: | | SLM (%) | | VFA (cm ²) | | Complexión | |
| C. Cintura | | C. Cadera | | ICC | | Muñeca | |

| LABORATORIOS VISITA 1 | | Curva de Tolerancia Oral a la Glucosa 180 | | | | Fecha | ___/___/___/ D/M/A | |
|-----------------------|---------|---|----|----|-----|-------|--------------------|--|
| | GLUCOSA | INS | TG | CT | HDL | LDL | NO-HDL | |
| Basal 0' | | | | | | | | |
| 30' | | | | | | | | |
| 60' | | | | | | | | |
| 90' | | | | | | | | |
| 120' | | | | | | | | |
| 180' | | | | | | | | |

| | | | | | | | |
|-----------|--|-------|--|--------|--|----------|--|
| Gluc. Cap | | HbA1c | | HOMA-B | | OGIS 180 | |
|-----------|--|-------|--|--------|--|----------|--|

| LABORATORIOS VISITA 2 | | | Curva de Lípidos | | | | | | | Fecha | ___/___/___/ D/M/A | | | | |
|-----------------------|-----|-----|------------------|----|-----|-----|----|-----|-----|-------|--------------------|------|------|------|--|
| | GLU | INS | TG | CT | HDL | LDL | AU | ALT | AST | GGT | ApoA | ApoB | URIC | Crea | |
| Basal 0' | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3hrs | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4hrs | | | | | | | | | | | | | | | |
| 5hrs | | | | | | | | | | | | | | | |
| 6hrs | | | | | | | | | | | | | | | |
| 8hrs | | | | | | | | | | | | | | | |

| | |
|--------------|--|
| LEPTINA | |
| ADIPONECTINA | |

| CONSENTIMIENTO INFORMADO |
|---|
| <p>El paciente fue informado sobre los beneficios y los riesgos de su participación dentro de este protocolo y ha aceptado ser parte de éste de manera libre y sin presiones ni estímulos económicos.</p> <p>El paciente firmó carta de consentimiento informado: SI _____ NO _____ (anexar en el cuestionario)</p> <p>ENTREVISTADOR: _____</p> |

Anexo 3

Componentes de la prueba de tolerancia oral a la grasa

| Información nutricional de la prueba de tolerancia oral a la grasa | | | | | | |
|--|----------------|----------------|----------------|-------------|---------------------|------------|
| Alimento | Cantidad (grs) | Energía (Kcal) | Proteína (grs) | Grasa (grs) | Carbohidratos (grs) | Sodio (mg) |
| Hamburguesa cuarto de libra con queso McDonald's® | 202 | 525 | 30 | 28 | 37 | 1052 |
| Papas fritas McDonald's® | 70 | 197.5 | 2.8 | 10.5 | 24.0 | 211.9 |
| Leche entera Alpura® | 250 | 142 | 7.8 | 7 | 12 | 125 |
| Mayonesa McComick® | 5 | 34 | 0 | 4 | 0 | 27.8 |
| Totales | 527 | 899.5 | 40.6 | 49.5 | 73 | 1416.7 |



| Información de los componentes de grasa de la prueba de tolerancia oral a la grasa | | | | | | |
|--|-------------|----------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|------------------|
| Alimento | Grasa (grs) | Grasa saturada (grs) | Grasa polinsaturada (grs) | Grasa monoinsaturada (grs) | Ácidos grasos trans (grs) | Colesterol (mmg) |
| Hamburguesa cuarto de libra con queso McDonald's® | 28 | 6.85 | 0.48 | 7.19 | 1.24 | 66.69 |
| Papas fritas McDonald's® | 10.5 | 14.31 | 3.31 | 5.17 | 0.04 | - |
| Leche entera Alpura® | 7 | 4.6 | | | | |
| Mayonesa McComick® | 4 | 0.6 | 2.4 | 0.96 | 0 | 4 |
| Totales | 49.5 | 26.36 | | | | |

Abreviaciones: grs: Gramos Kcal: Kilocalorías mg: Miligramos

EVITE

- ✓ Carnes grasosas: chorizo, chicharrón, tocino, vísceras, embutidos, carnes grasosas, pollo con piel, salchichas, hígado, sesos, mollejas, costillas, menudo. Mariscos
- ✓ Productos lácteos enteros, queso crema (philadelphia), media crema, crema, yogurt entero, nata.
- ✓ Grasas: manteca, mantequilla y margarina, cualquier alimento frito, empanizado o capeado



En caso de hipertrigliceridemia, evitar además

Los jugos de frutas.

Dulces: helados, malteadas, chocomilk, refrescos, chocolates, mermelada, cajeta, azúcar.

Evita el consumo de fructosa (endulzante).

Cereales dulces: pasteles, tartas, país, pan dulce, galletas, donas, pasteles, palomitas con mantequilla y cereales dulces.

Establecer un plan para obtener cerca de 30-40 minutos de ejercicio diarios.



Recomendaciones
Nutricionales en
Dislipidemia

Recomendaciones Nutricionales en Dislipidemia

Tener niveles elevados de grasa en sangre puede llevar a complicaciones en el corazón, y en el caso de triglicéridos aumentar el riesgo de pancreatitis.

Llevar una alimentación balanceada le permitirá controlar sus niveles de colesterol y triglicéridos, previniendo estos riesgos llevando una vida más saludable

✓ Aumente el consumo de **frutas y verdura** (entera, en lugar de jugos) 3-4 veces al día

✓ Incluya verduras en cada comida.

✓ Prefiera los **cereales integrales**.

✓ Consuma **leguminosa** (frijoles, lentejas, garbanzos, habas, soja, tofu) acompañado de un cereal (tortilla, arroz)



✓ Los alimentos de origen animal (**pollo, pescado, res**), retire la piel y grasa.

✓ Prefiera los lácteos (leche o yogurt descremados (sin grasa o Light)).



✓ Puede utilizar **condimentos naturales** (albahaca, mejorana, pimienta, perejil, cebolla, ajo, laurel, jengibre, epazote, limón, mostaza) para sazonar, en lugar de sazonadores industrializados.

✓ Debemos aumentar el colesterol bueno en su organismo para esto debe elegir grasas saludables para el corazón, tales como las grasas vegetales (aceite de oliva, canola, soja).

✓ El aguacate, nueces, cacahuete tostados (naturales) o almendras son alimentos con grasas saludables pueden consumirlas con moderación.

Desayuno _____ hora

Colación m _____ hora

Comida _____ hora

Colación v _____ hora

Cena _____ hora

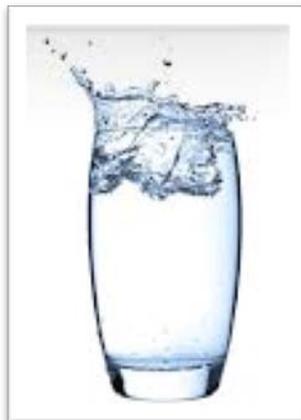


✓ Toma de 6-8 vasos de agua natural al día.

✓ Si toma agua fresca procure que sea de jamaica, tamarindo o limón natural y sin azúcar.

✓ Lea todas las etiquetas antes de comprar sus alimentos y EVITE comprar aquellos que contengan sal o sus derivados (cloruro de sodio) y conservadores (benzoato de sodio ó glutamato monosódico), colesterol y grasas saturadas o grasas trans.

- ✓ Evite el consumo de alcohol, especialmente si tiene niveles altos de triglicéridos y/o padece hígado graso. Si consume alcohol no exceda mas de UNA COPA. Una COPA equivale a 120ml de vino, 360ml de cerveza, y 45ml de bebidas destiladas (tequila, brandy, whisky)



- ✓ Lea las etiquetas nutrimentales de productos industrializados y consulte con su nutriólogo sobre productos que no están en su plan de alimentación ANTES de consumirlos.

- ✓ Si tomas agua fresca procura que sea de jamaica, tamarindo o limón natural y sin azúcar; prefiera consumir agua natural.

- ✓ Acumula 120 minutos de actividad física de 3-5 veces por semana, para esto puedes: Caminar, correr, subir escaleras, bailar, jugar con tus hijos, subir escaleras, nadar, jugar deportes, hacer aeróbicos.



Cada ración de 30 g contiene

| Calorias | Azúcares | Grasas | Grasas Saturadas | Sal |
|----------|----------|--------|------------------|--------|
| 121 kcal | 7 g | 2 g | 1 g | 0,25 g |
| 6% | 8% | 3% | 5% | 4% |

de la Cantidad Diaria Orientativa de un adulto**



Dieta Correcta

Departamento de Endocrinología y Metabolismo de Lípidos

Recomendaciones Generales

- El tener una alimentación saludable permite prevenir enfermedades como Obesidad, Hipertensión, Diabetes, entre otras.
 - Además una alimentación adecuada nos permite un mejor rendimiento en nuestras actividades diarias.
 - A continuación podrá revisar algunas recomendaciones que le permitirá llevar un estilo de vida más saludable
-
- ✓ Lavarse las manos antes de preparar cualquier alimento.
 - ✓ Lavar y desinfectar las frutas y verduras.
 - ✓ Prefiera alimentos naturales en lugar de industrializados.
 - ✓ Realice 3 comidas al día y 2 refrigerios al día con horarios fijos. Evite ayunos prolongados.
 - ✓ Prefiera las verduras crudas y frutas con cáscara. Consuma diariamente 3 piezas de cada una.
 - ✓ Prefiera leche descremada y derivados como yogur natural o light, panela, requesón, jocoque, queso cottage, de 1-2 raciones por día.
 - ✓ Consuma alimentos de origen animal con poca grasa como

pescado, pechuga y pierna de pollo sin piel, bistec de res sin gorditos, lomo y pierna de cerdo.

- ✓ Evite cocinar con manteca, mantequilla ó margarina; mejor use aceites vegetales como el aceite de maíz, oliva, girasol, canola, soya. (Solo para guisar no freír).
- ✓ Utilice la menor cantidad de grasa para cocinar, prefiera alimentos asados, cocidos, al vapor, a la plancha y evitar alimentos fritos, empanizados o capeados.

- ✓ Incluya verduras en cada comida, esto mejorará el aspecto, sabor y contenido vitamínico además de mejorar el funcionamiento intestinal
- ✓ Los siguientes alimentos se consideran de consumo “libre”: agua natural, café, té, agua mineral, agua de jamaica, limón o tamarindo sin azúcar, así como algunos condimentos (ajo, hierbas de olor, vinagre)

