



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Estudio de la relación existente entre las características clínicas del síndrome metabólico y la Diabetes Mellitus tipo 2 con el polimorfismo puntual T16189C del ADNmt mediante el uso de técnicas moleculares.

TRABAJO DE TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADA EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA
PRESENTA:
MARISSA JAQUELINE CAREAGA CASTILLA**

**ASESOR: Dra. Virginia Sánchez Monroy
COASESOR: M. en C. Maritere Domínguez Rojas**

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO



DEPARTAMENTO DE

ATN: LA. LAURA MARGARITA COREAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Estudio de la relación existente entre las características clínicas del síndrome metabólico y la Diabetes Mellitus tipo 2 con el polimorfismo puntual T16189C del ADNmt mediante el uso de técnicas moleculares.

Que presenta la pasante: Marissa Jaqueline Careaga Castilla
Con número de cuenta: 413001452 para obtener el Título de la carrera: Licenciatura en Bioquímica Diagnóstica

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 11 de Mayo de 2017.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	<u>Dra. Ma. Esther Revuelta Miranda</u>	
VOCAL	<u>Q.F.B. Rosalba Bonilla Sánchez</u>	
SECRETARIO	<u>M. en C. Mariterez Domínguez Rojas</u>	
1er. SUPLENTE	<u>Q.F.B. Alejandro Gutiérrez García</u>	
2do. SUPLENTE	<u>L.B.D. Larisa Andrea González Salcedo</u>	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse al día y hora del Examen Profesional (art. 127)

LMCF/cga*

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Biología Molecular de la Escuela Militar de Graduados de Sanidad con la asesoría de la Dra. Virginia Sánchez Monroy.

DEDICATORIAS

A Araceli, Alberto y Paola por ser los pilares de mi vida. Sin su apoyo, esfuerzo, confianza y motivación esto no habría sido posible.

A mis asesoras por su paciencia y soporte.

A Graciela por creer en que tengo la capacidad de lograr lo que me proponga.

A mis amigos por su compañía, consejos y palabras de aliento.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	8
ÍNDICE DE FIGURAS	11
ÍNDICE DE GRÁFICAS	12
ÍNDICE DE TABLAS	13
RESUMEN	14
1. GENOMA HUMANO	15
1.1 NÚCLEO	15
1.1.1 Generalidades	15
1.1.2 Material genético, estructura y propiedades	15
1.1.3 Alteraciones	17
1.1.3.1 Mutación	18
1.1.3.2 Tipos	18
1.1.3.3 Causas	20
1.1.3.4 Consecuencias	20
1.2 MITOCONDRIA	21
1.2.1 Generalidades	21
1.2.2 Material genético, estructura y propiedades	21
1.2.3 Alteraciones	23
1.2.3.1 Polimorfismo T16189C	24
2. SÍNDROME METABÓLICO	26
2.1 EPIDEMIOLOGÍA	26
2.2 ETIOLOGÍA	27
2.3 FACTORES DE RIESGO	27
2.3.1 Edad y raza	27
2.3.2 Obesidad abdominal	27
2.3.3 Hipertensión	27
2.3.4 Resistencia periférica a la insulina	27
2.3.5 Estilo de vida	27
2.4 FISIOPATOLOGÍA	27
2.4.1 Resistencia periférica a la insulina	28
2.4.2 Obesidad y distribución de grasa corporal anormal	28
2.4.3 Dislipidemia	28

2.4.4 Estado proinflamatorio y protrombótico	29
2.4.5 Hipertensión arterial	29
2.5 CRITERIOS DE DIAGNÓSTICO	29
3. DIABETES MELLITUS TIPO 2	32
3.1 EPIDEMIOLOGÍA.....	32
3.2 ETIOLOGÍA	33
3.3 FACTORES DE RIESGO.....	33
3.4 FISIOPATOLOGÍA.....	33
3.4.1 Alteración de la tolerancia a la glucosa (ATG).....	33
3.4.2 Alteración de la glucosa en ayunas (AGA).....	33
3.5 CRITERIOS DE DIAGNÓSTICO	34
4. JUSTIFICACIÓN.....	36
5. OBJETIVOS	37
5.1 OBJETIVO GENERAL	37
5.2 OBJETIVOS PARTICULARES	37
6. HIPÓTESIS.....	38
7. METODOLOGÍA.....	39
7.1 DIAGRAMA DE FLUJO EXPERIMENTAL.....	39
7.2 MATERIAL Y MÉTODOS	40
7.2.1 Población de estudio.....	40
7.2.2 Determinación de la integridad de las muestras de ADN empleadas	40
7.2.3 Amplificación de la región HV-I del ADNmt por PCR.....	40
7.2.4 Electroforesis de la región HV-I del ADNmt	41
7.2.5 Secuenciación de fragmentos correspondientes a la región HV-I del ADNmt	41
7.2.5.1 Purificación de productos obtenidos por PCR.....	41
7.2.5.2 PCR de secuencia	42
7.2.5.3 Purificación de productos de PCR de secuencia con columnas	43
7.2.5.4 Secuenciación.....	43
7.2.6 Análisis bioinformático.....	43
7.2.7 Análisis estadístico.....	43
8. RESULTADOS.....	44
8.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	44

8.2 DETERMINACIÓN DE LA INTEGRIDAD DE LAS MUESTRAS DE ADNmt EMPLEADAS	47
8.3 AMPLIFICACIÓN DE LA REGIÓN HV-I DEL ADNmt POR PCR Y ELECTROFORESIS	48
8.4 SECUENCIACIÓN DE PRODUCTOS CORRESPONDIENTES A LA REGIÓN HV-I DEL ADNmt	49
8.4.1 Secuencia normal	49
8.4.2 Secuencia mutada	49
8.5 ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO Y ESTADÍSTICO	50
9. DISCUSIÓN	53
10. CONCLUSIÓN	57
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58

ABREVIATURAS

α	alfa
β	beta
γ	gamma
cm	centímetros
kg/m ²	kilogramo por metro cuadrado
µg/min	microgramos por minuto
µl	microlitros
µm	micrómetros
mg/dl	miligramos por decilitro
mg/g	miligramos por gramo
ml	mililitros
mmHg	milímetros de mercurio
mM	milimolar
msec	milisegundos
mV	milivolts
min.	minutos
ng/µl	nanogramos por microlitro
nm	nanómetros
<i>p</i>	probabilidad
pb	pares de bases
s.	segundos
U/µl	unidades por microlitro
A	adenina
ADA	American Diabetes Association
ADN	ácido desoxirribonucleico
ADN 7S	ácido desoxirribonucleico mitocondrial adicional 7S
ADNmt	ácido desoxirribonucleico mitocondrial
ADP	adenosín difosfato
AGA	alteración de la glucosa en ayunas
AGL	ácidos grasos libres
AHA	American Heart Association
apoB	apolipoproteína b
ARN	ácido ribonucleico
ARNm	ácido ribonucleico mensajero
ARNr	ácido ribonucleico ribosomal
ARNt	ácido ribonucleico de transferencia

ARNt^{Ile}	ácido ribonucleico de transferencia de isoleucina
ARNt^{Leu}	ácido ribonucleico de transferencia de leucina
ATG	alteración de la tolerancia a la glucosa
ATP	adenosín trifosfato
C	citosina
Ca²⁺	ión calcio
CARMELA	Cardiovascular Risk Factor Multiple Evaluation in Latin America
CETP	proteína de transferencia de ésteres de colesterol
CI	intervalo de confianza
COX	citocromo oxidasa
CPEO	oftalmoplejía externa crónica progresiva
CRP	proteína C reactiva
DC50	proteína DC50
ddNTP	didesoxinucleótidos
D-loop	bucle de desplazamiento
DM	diabetes mellitus
DM1	diabetes mellitus tipo 1
DM2	diabetes mellitus tipo 2
dNTP	desoxirribonucleótidos trifosfato
EAC	enfermedad de las arterias coronarias
ECNT	enfermedad crónica no transmisible
ECV	enfermedad cardiovascular
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
FID	Federación Internacional de Diabetes
G	guanina
GLP-1	péptido similar al glucagón tipo 1
GLUT4	proteína transportadora de GLUT tipo 4
H	cadena pesada
HbA1C	prueba de hemoglobina glicosilada
HDL	lipoproteínas de alta densidad
HDL-C	colesterol en lipoproteínas de alta densidad
HV-I	región hipervariable I
HV-II	región hipervariable II
IL-6	interleucina 6
IMC	índice de masa corporal
IRS-1	sustrato 1 del receptor de insulina
K_{ATP}	canales de potasio dependientes de ATP

Kb	kilobases
L	cadena ligera
LDL	lipoproteínas de baja densidad
LHON	neuropatía óptica hereditaria de Leber
MAPK	vía de las proteínas cinasas activadas por mitógenos
MELAS	encefalopatía mitocondrial, acidosis láctica y episodios de apoplejía
MtSSB	proteína de unión a ADN mitocondrial de una hebra
NADH	dinucleótido de nicotinamida y adenina
NCBI	Centro Nacional para la Información Biotecnológica
NCEP/ATP III	National Cholesterol Education Program and Adult Treatment Panel III
NHLBI	National Heart, Lung and Blood Institute
OH	grupo hidroxilo
OMS	Organización Mundial de la Salud
OR	razón de probabilidades
OXPHOS	fosforilación oxidativa
PAI-1	inhibidor del plasminógeno 1
PAD	presión arterial diastólica
PAS	presión arterial sistólica
PCR	reacción en cadena de la polimerasa
PI3K	fosfoinositol 3 cinasa
PM	peso molecular
PO₄	grupo fosfato
PPARδ	receptor activado por proliferadores de peroxisomas delta
PTGO	prueba de tolerancia a la glucosa oral
rpm	revoluciones por minuto
ROS	especies reactivas de oxígeno
RPI	resistencia periférica a la insulina
SAP	fosfatasa alcalina de camarón
SD	desviación estándar
SM	síndrome metabólico
SNP	polimorfismo de un solo nucleótido
T	timina
TAE	buffer Tris-Acetato-EDTA
TG	triglicéridos
TNF-α	factor de necrosis tumoral alfa
U	uracilo
VLDL	lipoproteínas de muy baja densidad

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Estructura química del ADN	16
Figura 2.	Metodología de trabajo para el estudio realizado	39
Figura 3.	Electroforesis en gel de agarosa al 1.5 % con muestras de material genético correspondientes a la población de estudio	48
Figura 4.	Electroforesis en gel de agarosa al 2 % con productos correspondientes a la región HV-I del ADNmt de la población de estudio	48
Figura 5.	Electroferogramas representativos de la secuencia normal del ADNmt	49
Figura 6.	Electroferogramas representativos de la secuencia alterada del ADNmt	49
Figura 7.	Alineamientos obtenidos con el programa BIOEDIT	50

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1.	Parámetros antropométricos de la población de estudio.	45
Gráfica 2.	Parámetros clínicos de la población de estudio.	45
Gráfica 3.	Determinación de la presencia y ausencia del SM en la población de estudio con los criterios de diagnóstico de la OMS, el NCEP/ATP III y la FID.	46
Gráfica 4.	Parámetros antropométricos de la población bajo diagnóstico de SM de acuerdo con los criterios del NCEP/ATP III.	47
Gráfica 5.	Parámetros clínicos de la población bajo diagnóstico de SM de acuerdo con los criterios del NCEP/ATP III.	47
Gráfica 6.	Parámetros antropométricos de la población de estudio con base en el polimorfismo puntual T16189C del ADNmt.	52
Gráfica 7.	Parámetros clínicos de la población de estudio con base en el polimorfismo puntual T16189C del ADNmt.	52

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Mutaciones que afectan la secuencia de nucleótidos del ADN	19
Tabla 2.	Criterios de diagnóstico existentes para el SM según el NCEP/ATP III	30
Tabla 3.	Criterios de diagnóstico existentes para el SM según la OMS	30
Tabla 4.	Criterios de diagnóstico existentes para el SM según la FID	31
Tabla 5.	Criterios de diagnóstico existentes para la DM2 según la OMS	35
Tabla 6.	Criterios de diagnóstico existentes para la DM2 según la ADA	35
Tabla 7.	Oligonucleótidos específicos para la región HV-I del ADNmt	40
Tabla 8.	Mezcla de reacción para la amplificación de la región HV-I del ADNmt	40
Tabla 9.	Condiciones de termociclado para amplificación de la región HV-I del ADNmt	41
Tabla 10.	Mezcla de reacción para la purificación de productos obtenidos por PCR	41
Tabla 11.	Condiciones de termociclado para la purificación de productos obtenidos por PCR	42
Tabla 12.	Mezcla de reacción para la PCR de secuencia	42
Tabla 13.	Condiciones de termociclado para la PCR de secuencia	42
Tabla 14.	Descripción general de la población de estudio	44
Tabla 15.	Descripción general de los parámetros antropométricos y clínicos de la población bajo diagnóstico de SM de acuerdo con los criterios del NCEP/ATP III	46
Tabla 16.	Determinación de la significancia estadística de la relación entre la DM2 y el polimorfismo puntual T16189C del ADNmt	50
Tabla 17.	Determinación de la significancia estadística de la relación entre el SM y el polimorfismo puntual T16189C del ADNmt	51
Tabla 18.	Descripción general de la población de estudio con base en el polimorfismo puntual T16189C del ADNmt	51

RESUMEN

En el mundo cada cuatro segundos ocurre un infarto agudo al miocardio y cada cinco segundos un evento vascular cerebral. En México, dentro de la población adulta que se encuentra entre los 20 y 69 años de edad existen más de 17 millones de hipertensos, más de 14 millones de dislipidémicos, más de 6 millones de diabéticos y más de 35 millones de adultos con sobrepeso u obesidad (García, 2008).

Hasta el año 2014, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó que de manera global 422 millones de adultos mayores de 18 años vivían con diabetes mellitus (DM). A la vez se sabe que las probabilidades de que un individuo desarrolle esta u otras patologías como hipertensión, enfermedades cardiovasculares, infartos y ciertos tipos de cáncer se encuentran aumentadas por el simple hecho de padecer obesidad (WHO, 2016).

Se conoce como síndrome metabólico (SM) a aquella agrupación de anormalidades clínicas que incluyen a la obesidad, dislipidemia, hiperglucemia e hipertensión (Aganovic, s/a) y que en conjunto incrementan el riesgo de los individuos a padecer patologías con panoramas patofisiológicos más severos como la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), cuyo impacto económico en el sistema nacional de salud asciende a los 317 millones de dólares (Cisneros, 2009). El concepto de este síndrome ha evolucionado con el tiempo y en la actualidad el interés de los grupos de investigación en materia de salud por explicar a fondo sus características se ha elevado (Rojas, 2010).

Gracias a los avances tecnológicos, hoy en día se tienen al alcance herramientas de diagnóstico molecular que permiten dilucidar si un individuo presenta o no cierta enfermedad. Tomando en consideración aquellos reportes que han asociado a la DM2 y el SM con la presencia del polimorfismo puntual T16189C en el material genético mitocondrial, se estableció como objetivo principal del presente estudio el determinar mediante el empleo de técnicas moleculares y la evaluación de parámetros antropométricos y clínicos indicativos de estas patologías si dicha asociación existe en la población mexicana con el fin de establecer un posible marcador biológico para el diagnóstico oportuno de las mismas.

El grupo de estudio fue descrito como una población con sobrepeso ($IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$). La determinación de la presencia del SM se ejecutó mediante el empleo de tres diferentes criterios de diagnóstico siendo apreciado un porcentaje de detección de la patología del 65 % al emplear las pautas establecidas por el NCEP/ATP III. Fue observada la homogeneidad en todos los parámetros antropométricos y clínicos de la población de estudio con excepción de la presión arterial sistólica, glucosa y HbA1C ($p = <0.001$) donde se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas asociadas a la división de la población en individuos con y sin DM2. Posteriormente se encontró una asociación estadísticamente significativa entre los individuos con la variante mitocondrial T16189C y algunos parámetros clínicos (Glucosa; $p = 0.026$, TG; $p = 0.007$, HDL-C; $p = <0.001$, HbA1C; $p = 0.012$). Finalmente, fue confirmada la asociación entre el polimorfismo T16189C y el SM, al considerar los criterios emitidos por el NCEP/ATP III, dentro de la población estudiada [OR = 5.09: 95 % CI, 1.398 – 18.542, $p = 0.0136$].

Los resultados presentados en este estudio representan el primer registro a nivel nacional que describe de manera exitosa la asociación entre el polimorfismo puntual T16189C localizado en la región HV-I del ADNmt y el SM, permitiendo su establecimiento como posible marcador biológico para el diagnóstico oportuno de la patología en la población mexicana. Dicho hallazgo abre paso a la realización de futuros estudios dentro del territorio nacional que permitan dilucidar a profundidad los mecanismos específicos por los cuales esta alteración del material mitocondrial da lugar al desarrollo y la manifestación de las principales anormalidades clínicas que conforman a este síndrome.

1. GENOMA HUMANO

El genoma es el conjunto de instrucciones genéticas en un organismo. El cuerpo humano se encuentra conformado por millones de células que albergan cientos de componentes encargados de llevar a cabo las funciones básicas que hacen a un individuo compatible con la vida. Es preciso mencionar que todas estas instrucciones se encuentran codificadas en el material genético.

1.1 NÚCLEO

1.1.1 Generalidades

El núcleo celular es un organelo encontrado exclusivamente en las células eucariotas. Se encuentra altamente especializado y funciona como un centro encargado del proceso y administración de la información dentro de la célula (Davidson, 2015). Es importante mencionar que contiene la gran mayoría de los genes celulares puesto que algunos de estos se localizan en organelos como las mitocondrias, en el caso de los mamíferos o los cloroplastos a nivel vegetal. De manera anatómica, el núcleo presenta un diámetro aproximado a los 5 μm y cuenta con una lámina que conserva su morfología. La envoltura de este organelo es capaz de separar su contenido del resto de los componentes encontrados en el citoplasma y se encuentra representada por un par de membranas compuestas por un elevado número de poros que las interconectan. A su vez, cada uno de estos poros está revestido por una estructura denominada complejo del poro nuclear cuya función consiste en regular tanto la entrada como la salida de diversas moléculas (Burke, 2014).

Este es un organelo de primordial importancia, considerado a través del tiempo como el lugar de almacenamiento del material de herencia de la célula también denominado ácido desoxirribonucleico (ADN) sin embargo, investigaciones actuales han revelado que diversas características del mismo lo identifican como un centro de actividad que integra algunas funciones celulares como la organización de la cromatina y el citoesqueleto, la regulación transcripcional y la señalización mecánica (Burke, 2014).

1.1.2 Material genético, estructura y propiedades

El ADN es la biomolécula que contiene la información necesaria para asegurar la vida gracias a la construcción de los componentes en un organismo vivo. La completa integridad de los mecanismos de replicación de esta biomolécula asegura la continuidad genética de una especie a otra debido a que la información acumulada en la misma se encuentra organizada en unidades denominadas cromosomas, estructuras constituidas de un complejo de proteínas y ADN al que se le denomina cromatina (Campbell, 2007). Cada cromosoma cuenta con la capacidad de transportar la información genética a través de los genes, es decir, las unidades hereditarias fundamentales encargadas de controlar y definir los caracteres representativos de cada individuo, es decir, su genotipo y fenotipo.

Se reporta que la era moderna de la biología molecular comenzó en el año de 1953 cuando se propuso que la molécula del ADN en su forma B, presentaba una estructura de doble hélice. Dicha afirmación se planteó con base en patrones de difracción de rayos X que revelaron que sus bases nitrogenadas, localizadas en su interior y apiladas una sobre otra formando planos paralelos, se encontraban separadas por un espacio regular de 0.34 nm a lo largo de la hélice. A su vez, se observó que la doble hélice daba un giro completo cada 3.4 nm, propiedad que indicaría que por cada giro se podrían encontrar alrededor de 10.1 pares de bases (pb). Por otra parte, se determinó que el exterior de la molécula de ADN, representada por esqueletos de moléculas azúcar-fosfato asociadas, presentaba espacios entre las cadenas entrelazadas formando dos hendiduras helicoidales de diferente ancho denominadas hendidura mayor y menor (Lodish, 2005).

Con el fin de comprender la composición y las numerosas variaciones estructurales existentes en la molécula del ADN es preciso hacer mención de sus componentes individuales, es decir, sus bases nitrogenadas, azúcares y grupos fosfato cuyas relaciones estructurales definen las diferencias existentes en la estructura helicoidal de la molécula.

Refiriéndonos a las bases nitrogenadas podemos mencionar a las purinas, representadas por la adenina y la guanina (A y G, respectivamente), las cuales se definen como bases heterocíclicas aromáticas con un anillo de tipo purina. Su síntesis celular *de novo* es obtenida como el resultado de múltiples reacciones bioquímicas, siendo la base construida sobre una molécula de ribosa fosforilada. Ambas bases presentan a la inosina como último intermediario en común, molécula que al presentar un grupo amino en el carbono 6 del anillo corresponde a la A mientras que al poseer un grupo amino en el carbono 2 y un grupo carbonilo en el carbono 6 del anillo representa a la G (Griffiths, 2000).

En segundo lugar tenemos a las pirimidinas, siendo estas la timina y la citosina (T y C, respectivamente). De igual forma, su síntesis *de novo* es llevada a cabo en el interior celular tras una serie de reacciones en secuencia. La T contiene un grupo metilo en el carbono 5 del anillo, esto aunado a la presencia de grupos carbonilo en las posiciones 2 y 4. Por su parte, la C posee un átomo de hidrógeno en la posición 5 al igual que un grupo amino en la posición 4. Ahora bien, el uracilo (U), similar a la T pero que carece del grupo metilo en la posición antes mencionada, es la quinta base nitrogenada sin embargo, ésta no se encuentra formando parte del ADN debido a que es un componente del ácido ribonucleico (ARN) en el cual reemplaza a la T (Griffiths, 2000).

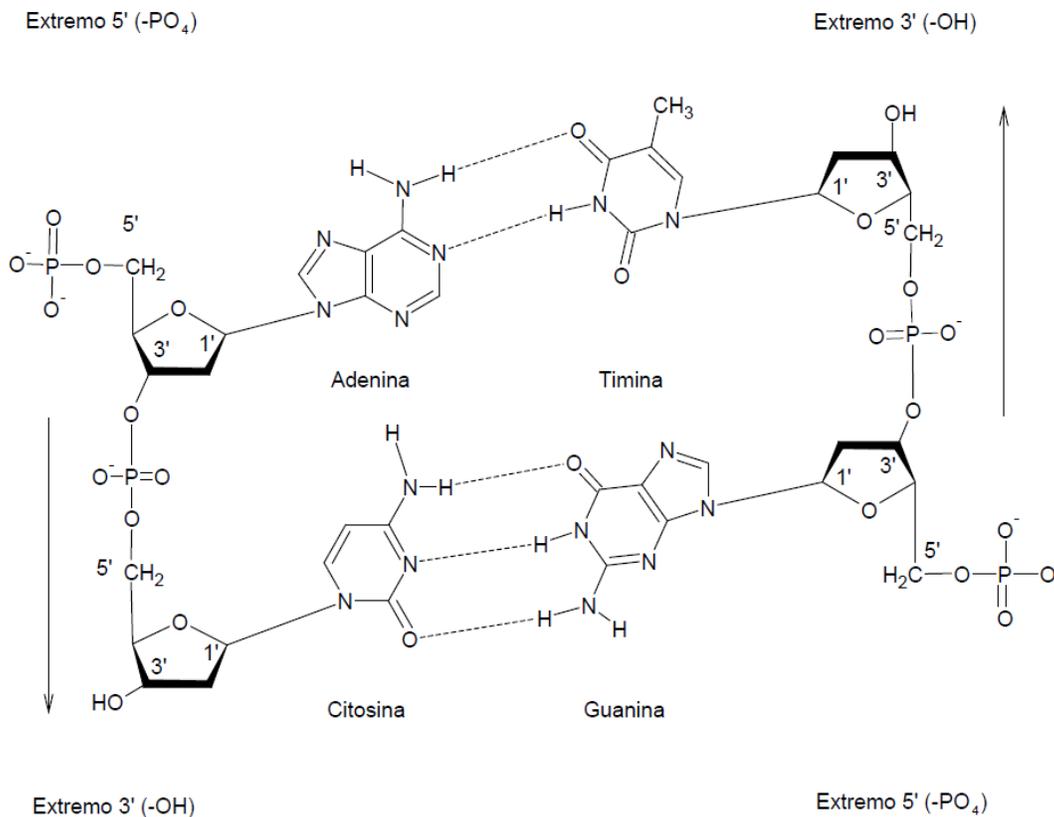


Figura 1. Estructura química del ADN (Figura de elaboración propia).

Otro de los componentes de vital importancia para el ADN se encuentra representado por su azúcar, mejor conocida como β -D-2-desoxirribosa que es un derivado de la β -D-ribosa en la cual el grupo hidroxilo localizado en la posición 2 se encuentra reemplazado por un átomo de hidrogeno (Sinden, 2012).

También es importante mencionar a los nucleósidos y nucleótidos. Los primeros hacen referencia a la unión de una base y un azúcar a través de un enlace de tipo glicosídico mientras que el término nucleótido describe al grupo conformado por la asociación de una base, un azúcar y un grupo fosfato siendo que cada nucleótido puede tener asociados hasta tres grupos fosfato designados como α , β y γ respectivamente. Dentro de la molécula de ADN los nucleótidos se encuentran unidos por un enlace 3'-5' fosfodiéster que encuentra su origen a partir de la síntesis de la molécula por la enzima ADN polimerasa. Es importante tomar en cuenta que como todo polinucleótido, el ADN posee dos extremos diferentes denominados 5' y 3' que tanto químicamente como biológicamente, presentan diferencias que brindan a la molécula su polaridad distintiva, existiendo de manera usual un grupo hidroxilo (-OH) en el extremo 3' y un grupo fosfato (-PO₄) en el extremo 5' (Sinden, 2012).

Ahora bien, el ADN no debe ser descrito únicamente en base a sus características estructurales sino también en función de sus propiedades biológicas fundamentales. La primera de estas corresponde a que la orientación de sus cadenas es antiparalela, es decir, que una de las cadenas se encuentra en dirección 5' \rightarrow 3' mientras la otra cadena posee una dirección opuesta, 3' \rightarrow 5'. Por otra parte, podemos mencionar que la asociación de las bases nitrogenadas en la molécula sigue un patrón definido ya que la A siempre se encuentra apareada con la T a través de dos enlaces débiles de tipo puente de hidrógeno mientras que la C está apareada a la G por tres enlaces tipo puente de hidrógeno, propiedad definida como complementariedad de pares de bases. Dicha propiedad resulta del tamaño, forma y composición química de cada base a lo cual deben sumarse las diversas interacciones hidrófobas y de van der Waals, fuerzas que en conjunto brindan al ADN una estabilidad única entre las bases adyacentes (Herráez, 2012).

Sabemos que el dogma central de la biología molecular es una característica universal de la vida como la conocemos, cuya visión clásica indica que la información genética codificada en el ADN es transcrita a unidades individuales transportables compuestas de ARN mensajero (ARNm) siendo que un conjunto de unidades de ARNm contienen el código de síntesis de una proteína específica a obtener tras un proceso de traducción. El motivo por el cual resulta importante recalcar dicho dogma reside en el proceso de replicación del ADN, considerado como el aspecto biológico de mayor importancia para la transmisión de la información genética de una generación a otra.

Este mecanismo se encuentra basado en que la molécula presenta un esquema semiconservativo, otra de las propiedades que definen al ADN, gracias al cual puede desenrollarse la doble hélice permitiendo que cada una de las cadenas funcionen como una plantilla para la síntesis de una nueva. En este sentido, podemos hacer alusión a que la replicación del material genético es de tipo bidireccional debido a que se lleva a cabo en ambas cadenas, con mecanismos ligeramente diferentes, que hacen de este un proceso semidiscontinuo el cual presenta como resultados la síntesis de dos nuevas hélices, cada una con una cadena de origen parental y una cadena nueva, capaces de albergar y transmitir el código genético de un individuo a su descendencia (Chagin, 2010).

1.1.3 Alteraciones

Fue en el siglo XIX cuando los biólogos celulares descubrieron que cada célula, tanto animal como vegetal, poseía un organelo central que albergaba la información genética de cada organismo en estructuras a las que denominaron cromosomas. Posteriormente llegaron a la conclusión de que cada cromosoma se encontraba a su vez compuesto por regiones de información que definían los rasgos visualmente apreciables en un organismo a los cuales llamaron genes.

La idea de que los genes podían verse alterados permitió a los científicos explicar la evolución. De esta manera, el botánico holandés Hugo DeVries estipuló una teoría que expresaba que, si un gen cambiaba o, mejor dicho, si este mutaba entonces podría generar una nueva especie de manera inmediata. Con el fin de corroborar esta teoría, el biólogo Thomas Hunt Morgan, de la Universidad de Columbia, realizó un experimento en su laboratorio el cual consistió en criar miles de moscas de fruta (*Drosophila melanogaster*) que posteriormente fueron expuestas a múltiples agentes mutagénicos como rayos X y sustancias de carácter tóxico. Tras la exposición de las moscas y su posterior evaluación, resultó posible distinguir organismos inalterados que mostraban ojos de color rojo como signo distintivo hasta que un día una mosca con ojos blancos emergió de su pupa. Ante dicho fenómeno, el biólogo indicó que uno de los genes en la mosca había sido alterado razón por la cual un nuevo color de ojos se había generado en la misma refutando así la teoría de DeVries.

Gracias a este y otros trabajos logró establecerse a la genética como una nueva ciencia a través de la cual se llegó al conocimiento de que las mutaciones pueden dar origen a diferentes versiones de un mismo gen (Understanding Evolution, s/a).

1.1.3.1 Mutación

Se denomina mutación al cambio en la secuencia de nucleótidos de una región específica del genoma la cual puede alterar la secuencia de aminoácidos en una proteína o bien cambiar las regiones no codificantes del ADN brindándole el potencial para cambiar la expresión de un gen en particular (Modificado de Brown, 2002).

1.1.3.2 Tipos

Existen muchas alteraciones tanto a nivel cromosómico como a nivel de la secuencia de ADN. Una diferencia genética fundamental entre los organismos es dependiente del juego de cromosomas que poseen sus células, es decir, si presentan sólo un juego (organismo haploide) o si cuentan con dos copias del mismo (organismo diploide). Es importante mencionar que a las diferentes formas de un gen se les conoce como alelos y debido a que los organismos diploides cuentan con una copia extra de cada gen pueden entonces poseer alelos idénticos, que los convierten en homocigotos para el gen o bien poseer alelos diferentes que en este caso los hacen heterocigotos para dicho gen. En sintonía con los términos antes mencionados pueden definirse dos clases de mutaciones, las recesivas y las dominantes. En las mutaciones recesivas se sabe que el organismo es homocigoto para el alelo mutado, de esta forma, al contar con un par de alelos mutados se da origen a un fenotipo mutante. De manera contraria, en las mutaciones dominantes el organismo es heterocigoto para el alelo mutado y por ello presenta la existencia de un alelo normal y uno mutado, que le confieren un fenotipo mutante (Lodish, 2000).

De igual forma, las mutaciones pueden ser categorizadas en dos clases de acuerdo con el papel que éstas toman en la funcionalidad del material genético. En primer lugar, tenemos aquellas que originan la pérdida de funcionalidad, con la capacidad de reducir o perder la proteína obtenida a partir de un gen específico. En segundo lugar, se tienen aquellas mutaciones que originan la ganancia de funcionalidad, con la capacidad de incrementar la actividad o la cantidad de proteína obtenida a partir de un gen originando ocasionalmente nuevas propiedades que producen la generación de un nuevo producto responsable de un efecto patológico (Mahdieh, 2013).

Para este apartado únicamente serán descritas las mutaciones que pueden ser encontradas en la secuencia de nucleótidos del ADN cuyas características se resumen en la siguiente tabla.

Tabla 1. Mutaciones que afectan la secuencia de nucleótidos del ADN (Mahdieh, 2013).

Mutación		Descripción
Puntual	Transición	Cambio de una purina por otra (A, G por G, A) o bien de una pirimidina por otra (C, T por T, C)
	Transversión	Cambio de una purina (A, G) por una pirimidina (C, T) o viceversa.
Con pérdida de sentido		Cambio de un nucleótido que da lugar a la codificación de un aminoácido diferente.
Sin sentido		Cambio de un nucleótido que da lugar a la codificación de un codón de paro
Sinónima		Cambio de un nucleótido que da lugar a la codificación de un aminoácido diferente, pero con propiedades similares.
Silenciosa		Cambio en la secuencia del codón alterándose el tercer nucleótido del mismo de tal manera que se codifica un mismo aminoácido.
Neutral		Cambio de un nucleótido que no afecta o beneficia al organismo y que generalmente tiene lugar en las regiones no codificantes del ADN.
Duplicación		Multiplicación de una región en la secuencia que puede dar origen al corrimiento del marco de lectura en la misma.
Delección		Eliminación de una región en la secuencia que pueden dar origen al corrimiento del marco de lectura en la misma
Inserción		Adición de uno o más nucleótidos a la secuencia que pueden dar origen al corrimiento del marco de lectura.

1.1.3.3 Causas

Las mutaciones pueden originarse por dos diferentes mecanismos. El primero de estos corresponde a la existencia de mutaciones por errores espontáneos principalmente suscitados en la replicación, recombinación y reparación del material genético. Estas ocurren por diferentes causas dentro de las cuales se incluye la evasión de las funciones de corrección ejecutadas por las polimerasas de ADN, encargadas de sintetizar nuevos polinucleótidos en la horquilla de replicación, también conocida como desajuste o "mismatch" debido a que el nucleótido encontrado en la nueva cadena sintetizada no se ajusta por complementariedad de bases a su nucleótido correspondiente en la plantilla original de ADN (Li, 2008).

El segundo tipo de mutaciones surge como consecuencia de una inducción cuando un agente mutagénico ha reaccionado con el ADN parental dando lugar a cambios estructurales que afectan la capacidad de apareamiento de los nucleótidos alterados. De manera regular, este tipo de mutaciones afectan únicamente a una de las cadenas del material genético por lo cual solo una de las nuevas moléculas de ADN obtenidas como resultado de la replicación lleva la mutación (Brown, 2002).

1.1.3.4 Consecuencias

Al tomar en cuenta las diversas consecuencias originadas a raíz de una mutación, debe considerarse su probable impacto ya que pueden afectar de manera directa la funcionalidad del genoma o bien alterar de manera indirecta el fenotipo de un organismo tras su aparición.

Hablando exclusivamente del genoma puede decirse que muchas de las mutaciones tienen lugar en secuencias de nucleótidos localizadas en regiones intergénicas del ADN o bien en componentes no codificantes de los genes por lo que no representan un daño a la funcionalidad del genoma a pesar de representar un porcentaje de mutación aproximado al 98.5 % del mismo. En contraste, las mutaciones encontradas en las regiones codificantes de los genes, representan un factor crítico en la alteración de la correcta funcionalidad del genoma (Craig, 2008).

En el caso de los efectos indirectos que las mutaciones representan para los organismos debe considerarse importante el impacto que simboliza la aparición de una mutación ya sea en células somáticas o de la línea germinal. Debido a que las células somáticas no tienen la capacidad de transferir su información de una generación a otra, una mutación a este nivel únicamente representa un daño al individuo que la posee. Resulta interesante saber que a pesar de que la mayoría de las mutaciones a nivel somático dan lugar a la muerte celular, un organismo cuenta con miles de copias idénticas de la célula destruida lo cual describe a esta pérdida como inmaterial, aunque no siempre es de esta manera. Al originarse un cambio de funcionalidad perjudicial para el organismo a nivel somático debido a la mutación, se puede lograr la inducción de un tumor u otra actividad cancerosa. Por otra parte, una mutación existente en la línea germinal resulta de mayor importancia ya que el material genético almacenado en estas células será transmitido a los miembros de la siguiente generación, razón por la cual la mutación se hará presente en cada uno de los individuos que hereden dicho material afectado (Craig, 2008).

Por último pero no menos importante, otra de las consecuencias que trae consigo la existencia de mutaciones es el desarrollo de enfermedades humanas. Resulta importante mencionar que el término de predisposición genética se refiere a que un individuo es susceptible a desarrollar cierta enfermedad; sin embargo, esto no se traduce a que el individuo que alberga esta tendencia genética se encuentre destinado a desarrollar la enfermedad si no que, el desarrollo actual del fenotipo de ciertas enfermedades depende en gran parte de factores epigenéticos como el ambiente y el estilo de vida (Craig, 2008).

1.2 MITOCONDRIA

1.2.1 Generalidades

La mitocondria juega un papel importante en la producción de energía requerida para cumplir con la totalidad de las funciones celulares. Una propiedad que distingue a este organelo de otros consiste en la presencia de material genético propio, denominado ADN mitocondrial (ADNmt) el cual cuenta con la capacidad de codificar moléculas de ARN tanto ribosomal como de transferencia (ARNr y ARNt, respectivamente) así como ciertas proteínas mitocondriales.

De manera breve debe conocerse que la mitocondria está compuesta por un sistema doble de membranas; es decir, una membrana interna y una externa separadas a su vez por un espacio intermembrana. De manera adicional posee una matriz mitocondrial que alberga el sistema genético de la mitocondria en conjunto con ciertas enzimas encargadas de ejecutar las funciones correspondientes al metabolismo oxidativo celular (Álvarez, 2008).

La mayoría de la energía derivada de este tipo de metabolismo es proveniente de la fosforilación oxidativa (OXPHOS, por sus siglas en inglés) la cual tiene lugar en la membrana interna de la mitocondria que simboliza el compartimento con mayor generación de energía en forma de adenosin trifosfato (del inglés, ATP). Dentro de la misma, se encuentra también un elevado porcentaje de proteínas involucradas tanto en la OXPHOS como en el transporte de metabolitos entre el citoplasma celular y la mitocondria. Esta membrana es prácticamente impermeable a la mayoría de los iones y otras moléculas de menor tamaño por lo cual, puede mantener un gradiente de concentración adecuado para desarrollar sus reacciones metabólicas sin algún tipo de interferencia. Por otra parte, la membrana externa de la mitocondria es altamente permeable debido a su elevado contenido de porinas que permiten la libre difusión de moléculas pequeñas mientras que el espacio intermembrana, presenta una composición sumamente similar a la del citoplasma celular (Kühlbrandt, 2015).

En conclusión, de acuerdo con la información antes descrita, se puede definir a la membrana interna como aquella barrera funcional encargada de mantener constantes las condiciones fisiológicas de la mitocondria para que ésta ejecute sus funciones de manera óptima.

1.2.2 Material genético, estructura y propiedades

El ADNmt, es aquella macromolécula de material genético perteneciente a la mitocondria, albergada en la matriz mitocondrial. Su secuencia completa y organización fue publicada por primera vez en 1981 por Anderson y colaboradores siendo ésta posteriormente revisada por Andrews y colaboradores en 1999 (Álvarez, 2008).

Su estructura es circular y se encuentra compuesta por un total de 16, 569 pb distribuidas en dos cadenas complementarias con proporciones G y C diferentes, factor que les confiere distintos pesos moleculares. Por su parte, la cadena pesada o H (del inglés heavy) es aquella cadena con un elevado contenido de bases púricas mientras que la cadena ligera o L (del inglés light), se compone de bases pirimídicas siendo la numeración de las bases que componen a este genoma (1 a 16,569) realizada sobre esta última cadena de acuerdo con convenios establecidos.

El ADNmt presenta 37 genes que codifican 13 diferentes ARNm correspondientes a las proteínas que conforman los complejos encargados de la ejecución de la OXPHOS es decir, 7 de las 48 subunidades deshidrogenasa del dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADH) pertenecientes al complejo I, 1 citocromo b del complejo III, 3 de las 13 subunidades de la citocromo oxidasa (COX) correspondiente al complejo IV y 2 ATPasas (6 y 8) que componen al complejo V (Álvarez, 2008), además de 2 ARNr (16S y 12S) y 22 ARNt necesarios para la traducción de proteínas codificadas por el mismo genoma.

Con base en esta última propiedad se tienen evidencias de que algunas secuencias codificantes del genoma mitocondrial, conocidas también como tripletes o codones, no siguen las reglas universales del código genético al momento de ser traducidas hacia proteínas (Chial, 2008) lo cual puede ser explicado de la siguiente manera. Existen 64 posibles codones en el código genético de los cuales 61 codifican los 20 aminoácidos esenciales incorporados en las proteínas. Además, se sabe que múltiples ARNt eucariontes son capaces de reconocer más de un simple codón en el

ARNm debido al fenómeno de tamborileo mejor conocido como fenómeno “wobble”. Dicho mecanismo permite un emparejamiento diferente entre el anticodón localizado en la tercera posición de una molécula de ARNt y su codón complementario en el ARNm, localizado en dicha posición. A pesar de que son requeridos al menos 30 ARNt para traducir el código genético de acuerdo con las reglas wobble, se sabe que el ADNmt codifica únicamente 22 ARNt los cuales resultan ser suficientes para llevar a cabo la traducción de los ARNm mitocondriales debido a la existencia de una forma de tamborileo en la que el U presente en el anticodón del ARNt puede emparejarse con cualquiera de las cuatro diferentes bases nitrogenadas al encontrarse estas en la tercera posición del codón del ARNm, brindando a los cuatro posibles codones diferentes la oportunidad de ser reconocidos por un solo ARNt (Cooper, 2000).

Es también importante mencionar que el genoma mitocondrial contiene solo una pequeña cantidad de regiones no codificantes representadas por un 3 % de la composición total del mismo, en contraste, el ADN nuclear presenta un porcentaje de regiones no codificantes igual al 93 %. Cabe precisar que al conjunto de ADNmt no codificante que se extiende desde la posición 16,024 hasta la 576 se le conoce como región control y en esta se encuentra un componente de vital importancia denominado bucle de desplazamiento o D-loop. Este último, representa el lugar en el cual se localizan los diferentes promotores de transcripción mitocondriales además de ser el sitio de mayor control para la expresión de este material genético ya que contiene las secuencias conservadas relacionadas con el inicio de la replicación de la cadena H. Es importante saber que el inicio de la replicación del ADNmt tiene lugar en esta región, y aunado a esto, el proceso tiene la capacidad de originar la formación de un bucle de desplazamiento conformado por una nueva cadena pesada de aproximadamente 700 pb denominada ADN 7S, que permanece unida al ADN molde desplazando la cadena H y formando una triple hélice (Álvarez, 2008). Ambas cadenas del ADNmt son completamente transcritas a partir de los promotores localizados en este bucle, de manera adicional, se sabe que esta región presenta dos regiones hipervariables denominadas HV-I y HV-II, por sus siglas en inglés (Doosti, 2011).

El ADNmt presenta un característico patrón de herencia ya que, en la mayoría de las células de los mamíferos el material mitocondrial se transfiere al nuevo organismo a través de las mitocondrias localizadas en los ovocitos de la madre siendo este patrón denominado herencia uniparental o de manera más específica, herencia materna. Hasta la fecha sigue en proceso la dilucidación de los mecanismos responsables de este singular patrón; sin embargo, existen dos diferentes modelos subyacentes a la herencia materna del ADNmt denominados: modelo de dilución simple y modelo de degradación activa. Se conoce con certeza que en los mamíferos, las mitocondrias de origen paterno son modificadas por ubiquitinación durante el transcurso de la espermatogénesis para su posterior destrucción en el ovocito a lo que probablemente se suman las vías proteosomal y lisosomal relacionadas de manera directa o indirecta en la degradación de las mitocondrias de origen paterno (Sato, 2013).

Ahora bien, mientras el ADN nuclear presenta únicamente una copia del mismo por cada célula, una sola mitocondria puede contener miles de copias de su propio genoma y es debido a que una célula presenta numerosas mitocondrias que se afirma que en el interior de una sola célula pueden existir múltiples copias de este genoma. Es interesante conocer que éste se encuentra empaquetado en una estructura nucleoide junto con un grupo de factores proteicos, que cuenta con una capacidad mínima para intercambiar ADNmt con otros nucleoides (Clay, 2016).

Otra de las propiedades del ADNmt es la ausencia de recombinación a diferencia de aquella existente en el ADN nuclear. Hasta la fecha, sólo ha sido reportado un caso de recombinación en un individuo con existencia de ADNmt tanto de origen materno como paterno donde únicamente un 0.7 % del material total se encontró recombinado en su tejido muscular. Este hecho permitió afirmar que la recombinación de material es posible debido a que la mitocondria posee una recombinasa funcional; sin embargo, continúan siendo cuestionadas las situaciones bajo las cuales la mitocondria es capaz de fusionar e intercambiar su contenido con otros componentes celulares. Adicionalmente, no debe olvidarse que la recombinación del ADNmt sigue definiéndose como un fenómeno sumamente extraño debido a la ausencia comprobada de material genético mitocondrial de origen paterno en la gran mayoría de la población hasta hoy analizada (Pakendorf, 2005).

1.2.3 Alteraciones

Las primeras mutaciones patogénicas del ADNmt fueron identificadas a finales de 1980 siendo sus delecciones a gran escala, involucradas con la remoción de los genes codificantes para proteínas y ARNt, encontradas en el tejido muscular esquelético de pacientes con oftalmoplejía externa crónico-progresiva (CPEO, por sus siglas en inglés) y con síndrome de Kearns Sayre. Por su parte, las mutaciones puntuales del ADNmt fueron encontradas en pacientes con el síndrome MELAS (encefalomiopatía mitocondrial, acidosis láctica y episodios de apoplejía) y con neuropatía óptica hereditaria de Leber (LHON, por sus siglas en inglés) (Bandelt, 2006).

Al igual que el ADN nuclear, el ADNmt puede verse afectado por mutaciones que frecuentemente perjudican a la mitocondria. Como se explicó de manera previa, el material genético mitocondrial presenta una herencia de tipo materna y múltiples mutaciones a nivel de la línea germinal de la madre han sido asociadas con diferentes tipos de enfermedades. Adicionalmente, se sabe que la acumulación progresiva de mutaciones en el ADNmt durante el transcurso de la vida de los individuos, contribuye al proceso de envejecimiento de los mismos (Cooper, 2000).

El ADNmt experimenta los procesos de mitosis y meiosis, lo cual significa que durante el proceso de división celular o bien durante el desarrollo y maduración de los ovocitos, la proporción del ADNmt se ve modificada en las células hijas obtenidas (Miller, 2000). Existen registros que indican que la elevada tasa de mutación existente en el ADNmt, 10 a 17 veces mayor a aquella observada en el ADN nuclear (Tuppen, 2010), es debida a la exposición crónica del material a especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) aunque también se ha estipulado que dicha tasa de mutación es tan alta debido a la existencia de un gen nuclear denominado polimerasa de ADN gamma (ADN Pol γ) que codifica la polimerasa de ADN responsable de la replicación del genoma mitocondrial. La proteína generada a partir de este gen se encuentra compuesta por dos dominios, uno catalítico con actividad polimerasa y otro de tipo exonucleasa, involucrado en el reconocimiento y remoción de desajustes existentes en los pares de bases del ADN. De acuerdo con un estudio realizado en el año 2005, se sabe que la mitocondria posee un desbalance de nucleótidos lo cual conlleva a una fidelidad menor por parte de la ADN Pol γ dando origen a una tasa mayor de mutación en el ADNmt (Chial, 2008).

Ahora bien, cuando una nueva mutación del material se origina en una célula, una mezcla de ADNmt normal y mutado se genera, a lo cual se le denomina estado de heteroplasmia. A medida que el material genético se replica y se segrega, tanto el material normal como el mutado se distribuyen de manera aleatoria a las nuevas células. En consecuencia, la proporción de esta mezcla de ADNmt puede derivar hacia un tipo de homoplasmia mutante, es decir, que todas las copias del material genético mitocondrial existentes correspondan al tipo mutante (Li, 2012).

A pesar de que algunas mutaciones homoplásmicas se encuentran relacionadas con el desarrollo de enfermedades, la gran mayoría de las transiciones patogénicas son heteroplásmicas; sin embargo, antes de que los síntomas clínicos o el mal funcionamiento de un tejido específico aparezcan, debe contarse con un número importante de copias mutadas del ADNmt, fenómeno conocido como efecto umbral. Ésta proporción crítica es diferente de tejido a tejido por lo cual, la manera y el grado en el cual se ven afectados es sumamente variado. Debido a que las moléculas normales y mutadas coexisten de manera aleatoria en las diferentes células del organismo, la proporción mutante del ADNmt en las células hijas puede variar por ello, el fenotipo de las mismas cambia dando origen al fenómeno conocido como segregación mitótica (Mancuso, 2007).

La gran complejidad de la genética mitocondrial explica en parte la elevada variedad de síntomas y signos que acompañan a las enfermedades relacionadas al ADNmt. La expresión clínica de las mutaciones existentes depende del grado de heteroplasmia, la distribución de las mismas en los tejidos y la vulnerabilidad de los mismos hacia el desarrollo de una mutación específica. El hecho de que existan diferencias en las cargas mutacionales que sobrepasen el umbral patogénico en algunos tejidos pero no en otros, es una propiedad altamente relacionada con los diferentes grados de severidad, rangos de edad registrados para la aparición de la enfermedad y los múltiples fenotipos existentes para la misma (Mancuso, 2007).

1.2.3.1 Polimorfismo T16189C

Se conoce como polimorfismo de un solo nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés) al más común tipo de variación genética encontrada en la población y como su nombre lo indica, un SNP hace referencia al cambio de un simple nucleótido en la secuencia de ADN.

Los SNPs ocurren de manera normal en el material genético de una persona siendo encontrado aproximadamente 1 por cada 300 nucleótidos, lo cual indicaría la presencia de al menos 10 millones de SNPs en el genoma humano. La mayoría de estas variaciones pueden actuar como marcadores biológicos pues su existencia en genes determinados o bien cerca de regiones regulatorias específicas se encuentra íntimamente relacionada con funcionamientos genéticos incorrectos que desencadenan la aparición de determinadas alteraciones a la salud dentro de una población (Genetics Home Reference, 2016). Hasta la fecha, mediante el hallazgo y estudio de múltiples SNPs los investigadores han podido predecir la respuesta de los individuos hacia diferentes fármacos, estudiar su susceptibilidad hacia ciertos factores ambientales e incluso conocer el riesgo que corren los mismos a desarrollar enfermedades de elevado interés global como la DM, Alzheimer, Parkinson, ciertos desórdenes bipolares e infartos cardíacos así como algunos tipos de cáncer (Liao, 2008).

Existe un peculiar polimorfismo encontrado en el ADNmt que ha sido numerosamente relacionado con desórdenes de carácter multifactorial en la especie humana. Su denominación describe la sustitución existente de una T por una C en la posición 16189 de la región control del ADNmt (T16189C). De acuerdo con la literatura, esta sustitución da origen a un fragmento ininterrumpido de policitosinas en la región control de este material genético, cuya longitud puede resultar heteroplasmática dentro de un mismo individuo debido a que los fragmentos con un contenido numeroso de citosinas son altamente susceptibles a errores en los mecanismos de replicación (Mueller, 2011).

Se piensa que la región control del ADNmt juega un papel importante en su replicación. En este sentido, se ha dicho que el polimorfismo T16189C interfiere con el adecuado proceso de replicación del material genético mitocondrial originando la alteración y decremento del número de copias del mismo, ocasionando disfunciones mitocondriales. Existen estudios que señalan que dicha variante se encuentra altamente acompañada por otro polimorfismo localizado en la posición 16192, caracterizado por la sustitución de una C por una T (C16192T) que genera la interrupción del fragmento de policitosinas antes mencionado. Ciertas investigaciones realizadas demostraron que aquellos individuos sin la asociación de ambos polimorfismos presentaban un menor número de copias de ADNmt en comparación con los individuos que exhibían ambos polimorfismos. Con base en estas afirmaciones logró respaldarse la relación existente entre la variante T16189C y algunas alteraciones en la replicación del material mitocondrial debido a su cercanía con la secuencia de terminación asociada al D-loop de la región control (Ebner, 2011).

Algunos registros, reportan la relación de éste polimorfismo con algunos tipos de cáncer avanzado como el de mama o bien el melanoma. Como se dijo antes, una de las principales problemáticas que provoca ésta variante es la reducida replicación del ADNmt, factor que tiene como consecuencias directas: alteraciones en la cadena de transporte de electrones, disminuciones en la proporción normal de ADP-ATP y una elevada generación de ROS (Tipirisetti, 2014). De acuerdo con algunas evidencias, existe una clara asociación entre la carcinogénesis y la elevada concentración de ROS ya que esta alteración consecuente a la mutación del material mitocondrial, conlleva a un círculo vicioso de estrés oxidativo que puede verse involucrado con la formación y progresión de tumores (Ebner, 2011).

Adicionalmente, se ha hecho referencia a la relación existente entre la variante T16189C y los pacientes con enfermedad de las arterias coronarias (EAC) así como aquellos con DM2 siendo importante mencionar que el polimorfismo mitocondrial mayormente considerado como factor de riesgo para la DM es aquel que afecta el gen del ARNt^{Leu}, denominado A3234G (Mueller, 2011).

Por otra parte, se han evaluado dos diferentes proteínas. La primera de éstas corresponde a la denominada proteína DC50, altamente presente en las mitocondrias de tejidos como el músculo esquelético y el hígado cuya función se encuentra involucrada con la regulación del metabolismo

energético y lipídico. La segunda de estas, conocida como proteína de unión al ADNmt de una hebra (MtSSB), se encuentra involucrada con la estabilización de los bucles de desplazamiento y el mantenimiento del material mitocondrial. Se conoce que la proteína MtSSB se une a las variantes mitocondriales 16189T y 16189C con diferente afinidad de esta forma, al relacionar este hecho con la función desarrollada por parte de esta proteína se llegó a la conclusión de que la unión dispareja de MtSSB a la variante 16189C puede estar asociada con una reducción del contenido de ADNmt, patrón evidente en la DM2 (Park, 2008).

Otro dato importante es aquel que señala la relación de la variante mitocondrial T16189C con el SM, cuya importancia epidemiológica se encuentra en auge alrededor del mundo. Hasta el año 2005, los registros de prevalencia de dicha variante señalaban a la población asiática como la más afectada tras el hallazgo de la mutación en un 43.1 %, 28.8 % y 34.4 % de poblaciones conformadas por chinos, coreanos y japoneses, respectivamente; valores que contrastan de manera significativa con el 9.9 % hallado en caucásicos anglosajones o el 12 % obtenido en la población hindú. Es importante saber que la relación existente entre la variante T16189C y el esparcimiento de éste desorden se encuentra influenciada por características poblacionales como la edad, el estilo de vida, la falta de ejercicio y los malos hábitos alimenticios aunque resulta interesante saber que en individuos caucásicos, la variante mitocondrial mayormente asociada al SM es conocida como T4291 la cual se localiza en el ARNt^{lle}, siendo especialmente relacionada con factores clínicos como la hipertensión arterial, hipercolesterolemia e hipomagnesemia (Palmieri, 2011).

Como se mencionó previamente, el polimorfismo T16189C se encuentra relacionado con características asociadas al SM como los niveles elevados de glucosa e insulina en ayunas, hiperglicemia general e hipertrigliceridemia, así como la resistencia a la insulina; patrón clasificado como el defecto metabólico fundamental de éste síndrome (Weng, 2005). En estudios adicionales, se recalcó la importancia de la mitocondria en la secreción de insulina puesto que la generación de ATP en este organelo incrementa la relación ADP-ATP que conlleva al cierre de los canales de potasio dependientes de ATP (K_{ATP}) dando paso a la despolarización de la membrana celular que en consecuencia, abre los canales de calcio (Ca^{2+}) y permite la conjunta exocitosis y secreción de la insulina (Mueller, 2011). Aunado a esto, la obesidad es un factor de riesgo para la resistencia a la insulina, ya que existen pruebas de que las células β pancreáticas secretan más insulina cuando tratan de compensar dicha resistencia. Por lo tanto, ésta disfunción representa la principal razón del desarrollo de un estado pre diabético que en última instancia, da paso al desarrollo de DM (Ye, 2013).

Hasta nuestros días, se ha detectado que a medida que incrementa la presencia de los factores individuales que componen al SM en un mismo individuo, la ocurrencia de la variante T16189C es mayor. Esto indica que el poseer dicho polimorfismo podría generar cierta susceptibilidad a desarrollar el síndrome debido al probable desarrollo del fenotipo hiperglicemia-hipertrigliceridemia mencionado con anterioridad. También debe mencionarse que no puede considerarse a esta variante como un factor exclusivo para determinar el probable desencadenamiento de los factores que conforman al SM puesto que este desorden es de tipo multifactorial. Uno de sus orígenes se encuentra relacionado con el envejecimiento y diferentes estudios afirman que la disfunción mitocondrial es debida a que éste último da paso al consecuente desarrollo de los componentes individuales del SM (Ye, 2013).

2. SÍNDROME METABÓLICO

El conjunto de anomalías fisiológicas y metabólicas características de un síndrome representado por hipertensión, obesidad, hiperglucemia e hiperuricemia fue descrito por primera vez en 1923 por Eskil Kylin. Posteriormente, en 1947 Marsella Jean Vague destacó la importancia e influencia de la distribución de grasa abdominal en el origen de anomalías de carácter metabólico. Sin embargo, un real interés por la asociación de estas diferentes anomalías tuvo lugar en 1988 cuando Gerald Reaven describió como síndrome X a la asociación de la resistencia a la captación de glucosa estimulada por insulina, hiperinsulinemia, hiperglucemia, elevada concentración de triglicéridos en las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), disminución del colesterol en las lipoproteínas de alta densidad (HDL-C) e hipertensión (Qiao, 2007).

En años posteriores, Ele Ferrannini y su equipo de trabajo siguieron esta idea y coincidieron en afirmar que dicha patología era causada por la insensibilidad a la insulina, decidiendo modificar el nombre de la misma a síndrome de resistencia a la insulina. Finalmente, en el año 1988 el grupo de trabajo enfocado en la diabetes de la OMS elaboró una lista de criterios de diagnóstico clínico, modificada un año más tarde, denominando a este desorden como síndrome metabólico (SM) (Orho, 2006).

Como se ha mencionado, el SM se encuentra compuesto por un conjunto de factores de riesgo cardiometabólicos que permiten identificar clínicamente a aquellas personas que se encuentran en peligro elevado de desarrollar enfermedad cardiovascular (ECV) y DM2 a largo plazo. De esta manera al ser realizado su diagnóstico de manera oportuna, se les brinda la oportunidad de establecer un estilo de vida preventivo (Chew, 2006).

2.1 EPIDEMIOLOGÍA

En la actualidad se considera a la obesidad como el principal detonante y factor responsable del conglomerado de factores aterogénicos, protrombóticos, proinflamatorios y metabólicos involucrados en el desarrollo de los componentes individuales del SM como la resistencia periférica a la insulina, la hipertensión y la dislipidemia (Marc, 2006).

En México, la prevalencia de sobrepeso y obesidad en adultos se incrementó de un 62 a un 70 % durante el lapso de tiempo comprendido entre los años 2001 a 2006. En el último siglo, la sociedad mexicana ha aumentado la densidad energética de su dieta en casi 24 % (26 % más carbohidratos y 36 % más grasas). Adicionalmente, la sociedad ha reducido el tiempo destinado a actividad física obteniendo como principal consecuencia el desarrollo de obesidad, a la cual se le atribuyen más de 50 mil muertes al año dentro del territorio nacional (Wacher-Rodarte, 2009).

Resulta significativo saber que la incidencia de aparición del SM aumenta de manera directamente proporcional al incremento de peso y por ende se presenta con mayor frecuencia en individuos con obesidad (Eckel, 2005). Dentro de nuestro país, más de 17 millones de adultos presentan SM encontrándose igualmente distribuidos en poblaciones rurales y urbanas. Aunado a esto, en 2011 Márquez y colaboradores reportaron que en Latinoamérica la prevalencia del SM iba del 18.8 % al 43.3 % siendo que en México existe un porcentaje de individuos afectados mayor al de países vecinos como El Salvador (28.8 %), Costa Rica (29.2 %) y Brasil (25.4 %) (Márquez, 2011). Por otra parte, en comparación con la población caucásica, la mexicana presenta una prevalencia del SM un 14 % mayor (Aguilar, 2003).

De acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) publicada en el año 2012, la prevalencia del SM fue del 45 %. Dicha cifra demuestra un evidente incremento en la aparición del mismo desde las primeras encuestas de nutrición realizadas, que registraron la existencia del síndrome en un 26.6 % (1992-93), 34 % (2000) y 36.8 % (2006) de la población mexicana evaluada. En cuanto a la relación existente entre la aparición de dicha patología y el género, el estudio CARMELA (del inglés, Cardiovascular Risk Factor Multiple Evaluation in Latin America), permitió demostrar que la trayectoria desde el desarrollo de obesidad, su posterior evolución a SM y la final exhibición de DM afecta de manera diferencial a las mujeres (Schargrofsky, 2008). Cabe mencionar que estudios alternos han clasificado a los niños y mujeres adultas como los principales grupos poblacionales de riesgo para la obesidad y el SM (García, 2008).

2.2 ETIOLOGÍA

Esta no es del todo conocida, pero se asocia a factores genéticos, ambientales y metabólicos (Salas, 2014) que en conjunto dan paso a la presencia simultánea de anormalidades en el metabolismo normal de lípidos, carbohidratos así como la presión arterial y la adiposidad visceral abdominal (Civeira, 2013).

2.3 FACTORES DE RIESGO

El SM se describe como una patología engañosa debido a que puede presentarse de diferentes maneras de acuerdo con los diferentes componentes que lo constituyen. Tomando como referencia los datos registrados en la literatura, es posible mencionar que el SM presenta los siguientes factores de riesgo distintivos (Marc, 2006).

2.3.1 Edad y raza

Afecta aproximadamente al 40 % de las personas con 60 años y a menos del 10 % de los jóvenes ligeramente mayores a los 20 años. Se sabe que representa un mayor riesgo para hispanos y asiáticos.

2.3.2 Obesidad abdominal

Forma de obesidad mayormente relacionada con el SM y se evidencia de manera clínica como una elevada circunferencia de la cintura o bien un índice de masa corporal (IMC) mayor a 25 kg/m². Adicionalmente, se tienen registros de que la ganancia progresiva de peso genera un riesgo mayor de padecer SM ya que tan sólo el 5 % de las personas con peso normal lo presentan. En contraste, un 22 % de individuos con sobrepeso y un 60% de individuos obesos lo padecen.

2.3.3 Hipertensión

Factor ampliamente relacionado con factores como la obesidad y la resistencia a la insulina. Cabe mencionar que a pesar de encontrarse presente en los pacientes diagnosticados, algunos investigadores señalan a la hipertensión como una propiedad de origen multifactorial que no puede ser atribuida única y exclusivamente al SM.

2.3.4 Resistencia periférica a la insulina

La resistencia periférica a la insulina (RPI), con o sin tolerancia a la glucosa, es una propiedad que se presenta en la mayoría de los pacientes diagnosticados con SM y se asocia ampliamente con otros factores de riesgo metabólicos. Principalmente tiene como consecuencia un estado de hiperinsulinemia capaz de incrementar la secreción de VLDL, a partir del hígado, originando cuadros de hipertensión.

2.3.5 Estilo de vida

El sedentarismo tiene efectos directos en la presión sanguínea, los niveles de colesterol y la sensibilidad a la insulina. Asimismo, se ven involucrados factores alternos como dietas con alto contenido de carbohidratos, alcoholismo y tabaquismo.

2.4 FISIOPATOLOGÍA

Las causas subyacentes al SM son de carácter genético, metabólico y ambiental. Existe una alteración considerable en la función del tejido adiposo acompañada de la secreción de hormonas y citocinas de función variable que en última instancia, dan paso a la acumulación patológica de grasa en los tejidos; especialmente el tejido muscular cardíaco también denominado miocardio.

Existen diversas presentaciones clínicas como la hipertensión, dislipidemia, hígado graso no alcohólico, síndrome de ovario poliquístico, Alzheimer y cáncer (mama, próstata o páncreas) que comparten las características de este desorden metabólico y se sabe que el concepto unificador de todos los pacientes que padecen éstas diferentes formas clínicas reside en el alto riesgo de desarrollar DM2 y ECV (Handelsman, 2009). A continuación se describen las propiedades fisiopatológicas de mayor importancia en el SM.

2.4.1 Resistencia periférica a la insulina

Ésta representa la hipótesis mayormente aceptada para la descripción de la fisiopatología del SM. La RPI se define como el defecto en la acción de la insulina necesaria para mantener la verdadera glucemia. Dicho defecto conlleva al organismo a un estado de hiperinsulinemia agrupado con otras anomalías como la alteración de glucemia en ayunas, intolerancia a la glucosa al existir sobrecargas orales, hiperglucemia postprandial y aumento de la hemoglobina glucosilada (HbA1C) (Civeira, 2013). Es importante mencionar que la hiperinsulinemia es el defecto metabólico responsable de la hipertensión arterial, dislipidemia, disfunción endotelial y aterosclerosis así como, la obesidad y DM2 según la teoría metabólica (Carrillo, 2006).

De acuerdo con Civeira y colaboradores, el fenómeno patológico fundamental del SM reside en la acumulación de grasa visceral que da lugar a la segregación de adipocinas por parte del tejido adiposo como la leptina, resistina, visfatina, factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleucina 6 (IL-6) y angiotensina II, que en conjunto inducen la RPI promoviendo un estado proinflamatorio crónico.

Aunado a esto, se ha establecido que el cuadro clínico de la RPI depende de alteraciones en el receptor tirosina cinasa de la insulina además de otros defectos intracelulares (Carrillo, 2006). De acuerdo con Sridevi y colaboradores, el TNF- α funge como el agente responsable de la disminución en la actividad del receptor de insulina, la fosforilación del sustrato de dicho receptor (IRS-1) y la síntesis-translocación de la proteína transportadora de glucosa tipo 4 (GLUT4) (Deveraj, 2004).

Un factor de contribución adicional que resulta predominante para el desarrollo de la RPI se encuentra en la excesiva concentración de ácidos grasos libres (AGL) liberados a partir del tejido adiposo los cuales tienen la capacidad de reducir la sensibilidad de la insulina en el tejido muscular a través de la inhibición en la captación de glucosa. De esta forma, los elevados niveles de glucosa circulante dan origen a una amplia secreción de insulina pancreática manifestada como un notable cuadro de hiperinsulinemia. Adicionalmente, a nivel hepático el incremento de AGL eleva la producción de glucosa, triglicéridos (TG) y origina una mayor secreción de VLDL. Dichos factores reducen significativamente la transformación de glucosa a glucógeno y dan paso a la acumulación considerable de lípidos en forma de TG, que en grandes concentraciones, originan la síntesis hepática del inhibidor del plasminógeno 1 (PAI-1), el fibrinógeno y algunos factores de la inflamación (Qiao, 2007).

2.4.2 Obesidad y distribución de grasa corporal anormal

La epidemia de obesidad ha sido etiquetada como la principal responsable de la elevada prevalencia del SM, siendo interesante conocer que tan sólo en México más de 50 mil muertes fueron reportadas en el año 2009 a causa del sobrepeso y la obesidad.

Clínicamente se le relaciona con el aumento de peso e IMC, la elevación del perímetro de la cintura y del tejido adiposo localizado en el hígado y corazón, puesto que el exceso de grasa abdominal da lugar a un aumento en la liberación de AGL por parte de los adipocitos, condición que tiene consecuencias directas sobre el origen de la RPI.

Por otra parte, resulta sumamente sugestivo el saber que de manera genética la gran incidencia actual de obesidad se ha explicado por la teoría del "genotipo ahorrador" la cual determina que con el paso del tiempo algunos alelos que benefician la ganancia de peso y la acumulación de grasa, para proveer nutrientes en periodos de privación de comida, se han visto favorecidos. De esta manera, los individuos exhiben fenotipos característicos de la obesidad debido a que en la actualidad la gran mayoría de las poblaciones en riesgo no se encuentran en condiciones de despojo alimenticio y a la par carecen de estilos de vida físicamente activos (Marc, 2006).

2.4.3 Dislipidemia

Más allá de la obesidad y la RPI, cada factor de riesgo involucrado en el desarrollo del SM se encuentra sujeto a su propia regulación a través de factores adquiridos y de carácter genético. Dentro de las morbilidades relacionadas con el SM se encuentran las alteraciones lipídicas representadas por el aumento considerable en la concentración de TG (hipertrigliceridemia), el

descenso del HDL-C y el aumento de lipoproteínas de baja densidad (LDL) en forma de partículas pequeñas y densas así como el incremento en la actividad de enzimas como la proteína de transferencia de ésteres de colesterol (CETP) y la lipoproteinlipasa (Bremer, 2012).

Como se ha mencionado previamente, los individuos con SM presentan un alto flujo de AGL, una elevada síntesis de TG y un incrementado almacenamiento intrahepático de lípidos, siendo el exceso de TG liberado junto con apolipoproteínas B (apoB) a través de VLDL (Bremer, 2012) aquel factor que explica la hipertrigliceridemia característica del síndrome.

Ahora bien, el aumento de partículas VLDL ricas en TG tiene como consecuencia una mayor expresión de CETP, proteína con una conformación tridimensional tubular ligada a las lipoproteínas de alta densidad (HDL), que normalmente permite la transferencia de lípidos entre las HDL. Dicho de otra forma, las HDL ceden ésteres de colesterol a las lipoproteínas asociadas con apoB y viceversa. No obstante, cuando un individuo se encuentra afectado por el SM la función común de la CETP se ve alterada dando origen a la transferencia de lípidos entre las partículas VLDL y las HDL lo cual genera en consecuencia cantidades elevadas de TG en las HDL que son sustrato de la lipasa hepática y que al hidrolizar sus TG da lugar a la formación de partículas HDL pequeñas con poco colesterol, mecanismo que explica las bajas concentraciones de HDL-C en sujetos con SM e hipertrigliceridemia (Karalis, 2014).

2.4.4 Estado proinflamatorio y protrombótico

El estado proinflamatorio se reconoce de manera clínica como la elevación considerable de la producción de citocinas en células inmuno moduladoras y endoteliales. Una de estas citocinas es la IL-6 que estimula el aumento de los valores normales de proteína C reactiva (CRP) la cual induce la síntesis de otras citocinas, moléculas de adhesión celular y factores tisulares (Qiao, 2007). Otra de las citocinas de principal interés es el TNF- α que actúa tanto de manera indirecta, estimulando la producción de hormonas contra reguladoras, como directa alterando la translocación de GLUT4 con fosforilación de residuos de serina del receptor de insulina y estimulando la proteólisis de cinasas específicas perpetuando así la actividad proinflamatoria. A la vez, inhibe la activación y fosforilación de la fosfoinositol-3-cinasa (PI3K), paso esencial para la regulación de vías de señalización mediadas por insulina y la entrada celular de glucosa, con activación secundaria de la vía de las proteínas cinasas activadas por mitógenos (MAPK, por sus siglas en inglés), la activación endotelial, mitogénesis y proliferación celular (Carrillo, 2006).

De manera adicional, el estado protrombótico se caracteriza por la elevación plasmática característica del inhibidor del PAI-1 y del fibrinógeno. Este último, al actuar como un reactante de fase aguda, se incrementa en respuesta al estado elevado de citocinas por lo cual se dice que los estados protrombótico y proinflamatorio se encuentran metabólicamente interconectados.

2.4.5 Hipertensión arterial

Este factor se encuentra principalmente evidenciado en el aumento de los valores normales de la presión diastólica y se sabe que el 50 % de los pacientes con SM padecen de hipertensión arterial mientras que el 35 % de los pacientes hipertensos presenta SM por lo cual es preciso mencionar a los dos principales factores involucrados con esta anomalía. El primero de estos involucra el aumento de la frecuencia cardíaca reflejada por una mayor actividad simpática asociada a la obesidad, mayor rigidez arterial y un aumento de la presión sanguínea. El segundo de estos es representado por el aumento de las resistencias periféricas, caracterizado por un aumento importante de las ROS en músculo esquelético y tejidos cardiovasculares además de la activación del sistema renina angiotensina aldosterona que da lugar a la elevación de angiotensina II, inductor de RPI a través de las ROS producidas por diferentes tejidos (Civeira, 2013).

2.5 CRITERIOS DE DIAGNÓSTICO

El diagnóstico del SM se encuentra basado en el análisis integral del individuo que incluye parámetros bioquímicos, antropométricos y clínicos. Al menos tres diferentes conjuntos de criterios clínicos han sido publicados por diversos grupos de investigación pertenecientes a la OMS, la Federación Internacional para la Diabetes (FID) y el Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol y el Panel III de Tratamiento al Adulto (NCEP/ATP III por sus siglas en inglés). Cabe

mencionar que, de manera ajena al tipo de criterio seleccionado, han sido incluidos en todos y cada uno de ellos los parámetros centrales del síndrome, es decir, la obesidad central, hiperglicemia, dislipidemia y presión arterial elevada pero estos difieren a su vez en los puntos de corte existentes para los distintos criterios individuales así como en la inclusión de ciertos parámetros adicionales jerarquizados de maneras diversas (Chew, 2006)

Tabla 2. Criterios de diagnóstico existentes para el SM según el NCEP/ATP III (Grundy, 2004).

NCEP/ATP III			
Factor de riesgo		Identificación	
Tres o más de los siguientes criterios			
Circunferencia de la cintura*	Hombre	≥ 102 cm	≥ 94 cm**
	Mujer	≥ 88 cm	≥ 80 cm**
TG		≥ 150 mg/dl	O bajo tratamiento farmacológico para la hipertrigliceridemia
HDL-C	Hombre	< 40 mg/dl	O bajo tratamiento farmacológico para niveles bajos de HDL-C
	Mujer	< 50 mg/dl	
Presión sanguínea		≥ 130/85 mmHg	O bajo tratamiento farmacológico para la hipertensión
Glucosa en ayunas		≥ 110 mg/dl	O bajo tratamiento farmacológico para la hiperglucemia

*Valores población caucásica. **Valores poblaciones no asiáticas con alta predisposición a la RPI.

Tabla 3. Criterios de diagnóstico existentes para el SM según la OMS (Grundy, 2004).

OMS		
Factor de riesgo		Identificación
Hiperglucemia/resistencia a la insulina: diabetes, glucosa en ayuno alterada, tolerancia a la glucosa alterada o captación hacia el alza de glucosa con la técnica de la pinza hiperinsulinémica-euglucémica (< 25 % de la población) y dos o más de los siguientes criterios		
Presión sanguínea		≥ 140/90 mmHg
TG		≥ 150 mg/dl
HDL-C	Hombre	< 35 mg/dl
	Mujer	< 39 mg/dl
IMC		> 30 kg/m ²
ICC	Hombre	> 0.90
	Mujer	> 0.85
Tasa de excreción de albúmina en orina		> 20 µg/min
Relación albúmina-creatinina en orina		≥ 30 mg/g

ICC: Índice cintura/cadera.

Tabla 4. Criterios de diagnóstico existentes para el SM según la FID (FID, 2006).

FID			
Factor de riesgo		Identificación	
Obesidad central definida por valor de circunferencia de la cintura y dos o más de los siguientes criterios			
Circunferencia de la cintura*	Hombre	≥ 90 cm	
	Mujer	≥ 80 cm	
TG		≥ 150 mg/dl	O bajo tratamiento farmacológico existente para la hipertrigliceridemia
HDL-C	Hombre	< 40 mg/dl	O bajo tratamiento farmacológico para niveles bajos de HDL-C
	Mujer	< 50 mg/dl	
Glucosa en plasma en ayunas		≥ 100 mg/dl	O previo diagnóstico de DM2
Presión sanguínea		≥ 130/85 mmHg	O bajo tratamiento farmacológico para la hipertensión

*Valores América Central/Sur.

De acuerdo con Islas y colaboradores, la prevalencia del SM en 9 sedes de México de acuerdo con los criterios establecidos por el NCEP/ATP III fue de un 79.34 %, encontrándose un mayor porcentaje al norte del país. Por otra parte, al considerar los criterios de la FID esta prevalencia fue de un 65.75 % del cual un 21.1 % correspondía a la Ciudad de México (Andrade, s/a). Finalmente, de acuerdo con los resultados obtenidos en la ENSANUT 2006, las prevalencias de SM en adultos mexicanos registradas a través de los criterios emitidos por el ATP III, la AHA/NHLBI (del inglés American Heart Association-National Heart, Lung and Blood Institute) y la FID fueron del 36.8, 41.6 y 49.8 %, respectivamente (Rojas, 2010).

Al analizar la prevalencia del síndrome a través de las cifras presentadas, resulta claro el observar que la determinación de la misma varía de acuerdo con el criterio de diagnóstico empleado siendo que en México, algunas publicaciones han demostrado que las cifras de individuos afectados por el síndrome suelen verse disminuidas cuando se emplean los criterios de la OMS. Un ejemplo de esto son los resultados obtenidos por Aguilar-Salinas que manifestaron una existencia de individuos con SM, entre los 20 y los 69 años, igual al 13.6 % mediante el uso de los criterios de la OMS e igual al 26.6 % al emplear los criterios del NCEP/ATP III (Wacher-Rodarte, 2009).

De acuerdo con un punto de vista clínico, el criterio de la NCEP/ATP III es útil para detectar las etapas del SM con un elevado riesgo de desarrollar DM2, pero en caso de requerir una predicción más acertada, los criterios de la OMS son los mejores debido a su mayor impacto predictivo lo cual da como resultado un pequeño número de casos detectados como anormales siendo un hecho relevante que los individuos diagnosticados bajo el uso de este último criterio suelen presentar las formas más severas de la enfermedad (Aguilar, 2003).

3. DIABETES MELLITUS TIPO 2

La DM ha afectado a la población humana desde tiempos muy remotos. Existe evidencia bibliográfica que muestra a los griegos, romanos, persas, chinos, japoneses e hindúes como conocedores de la patología; sin embargo, todos estos fueron incapaces de determinar su causa (Temneanu, 2016). Ahora bien, en la actualidad se describe a la DM como un conjunto de desórdenes metabólicos caracterizados por un cuadro de hiperglucemia crónica con afectaciones en el metabolismo de macromoléculas como los carbohidratos, lípidos y proteínas (OMS, 1999).

Debe saberse que la enfermedad se encuentra clasificada de acuerdo con sus formas etiológicas en diabetes mellitus tipo 1 (DM1) que hace referencia a la destrucción de las células β pancreáticas, en cuyo caso la administración de insulina es requerida para la supervivencia del individuo afectado y por otra parte, la DM2 que se encuentra caracterizada por desórdenes en la acción y secreción de la hormona insulina. Cabe destacar que existe una tercera categoría de la enfermedad a la cual se refiere como “otros tipos específicos de diabetes” dentro de la que se incluyen causas identificadas de la patología como los son algunos defectos genéticos o bien ciertas enfermedades pancreáticas (OMS, 2003). Debido a que la DM2 resulta de principal interés para éste estudio, nos centraremos en profundizar sobre sus características en los próximos apartados.

3.1 EPIDEMIOLOGÍA

La diabetes es un importante problema de salud pública y una de las cuatro enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) considerada por los dirigentes mundiales como de carácter prioritario debido a que en las últimas décadas tanto el número de casos como la prevalencia de la misma se han incrementado de manera considerable (OMS^a, 2016). Desde el año 1980, la prevalencia mundial de diabetes normalizada por edades casi se ha duplicado ya que pasó de un 4.7 a un 8.5 % de la población adulta en el año 2014. Esto supone también un incremento en factores de riesgo para la enfermedad como el sobrepeso y la obesidad siendo dicho incremento mayormente registrado en los países con ingresos de bajos a medianos.

Debido a que se requieren pruebas de laboratorio sofisticadas para distinguir entre la DM1 y la DM2, no se dispone de estimaciones mundiales separadas sobre la prevalencia de cada tipo de diabetes; sin embargo, lo que sí es sabido es que la DM2 es la presentación de la enfermedad que afecta con mayor exclusividad a la población adulta aunque hoy en día, su prevalencia se encuentra también en aumento dentro de la población infantil (OMS^a, 2016).

Se estima que más de 415 millones de adultos alrededor del mundo padecen diabetes, cifra que se espera aumente a 642 millones alrededor del año 2040 (Levin, 2016). La mayor parte de las consecuencias de ésta se presentan a causa de las complicaciones microvasculares y macrovasculares que se desarrollan con el transcurso de la enfermedad, aunado a esto, la tasa de mortalidad ligada con la enfermedad coronaria es de 2 a 4 veces mayor en individuos afectados por diabetes. De igual manera, una persona enferma corre dos veces más riesgo de padecer un infarto en comparación con individuos clínicamente sanos (OMS, 2003). De acuerdo con cifras de la OMS, tan sólo en el año 2012 esta enfermedad provocó 1.5 millones de muertes mientras que 2.2 millones de muertes más fueron registradas como consecuencia de niveles de glucosa en sangre superiores a los deseables. En total, de éstas 3.7 millones de muertes, un 43 % ocurrieron en personas menores a 70 años siendo un porcentaje considerablemente mayor de decesos encontrado en países en vías de desarrollo.

En México, en el año 2016 el número de muertes por diabetes en la población de 30 a 69 años fue de 45,100 mientras que en individuos de 70 años o más se registraron un total de 41,900 defunciones. Dichas cifras permitieron llegar a la conclusión de que la prevalencia de la enfermedad es de un 10.4 %, adicionalmente los factores de riesgo conexos a la misma como el sobrepeso, la obesidad y la inactividad física correspondieron a un 63.4, 27.6 y 25.4 %, respectivamente (OMS^a, 2016).

3.2 ETIOLOGÍA

De manera exclusiva, la DM2 antes definida como diabetes no dependiente de insulina, es la forma más común de la enfermedad. Ésta se encuentra caracterizada por un conjunto de factores ambientales y genéticos, relacionados con el desencadenamiento de desórdenes en la secreción de la hormona insulina y la resistencia a la misma, siendo cualquiera de estos una característica predominante por lo cual, se le ha denominado como una enfermedad de carácter multifactorial

3.3 FACTORES DE RIESGO

Existen múltiples factores de riesgo asociados a la DM2 dentro de los cuales se incluyen: historia familiar de diabetes, sobrepeso, dietas no saludables, inactividad física, envejecimiento, hipertensión, etnia, alteración de la tolerancia a la glucosa, historia de diabetes gestacional o mala alimentación durante el embarazo (FID, 2015).

La patogénesis de la DM2 se ha relacionado con anomalías genéticas de moléculas involucradas en el sistema de regulación del metabolismo de la glucosa. Algunos estudios específicos han identificado anomalías genéticas en genes como el de la glucocinasa, genes de tipo mitocondrial o bien receptores para la insulina. Se sabe que en conjunto las anomalías reportadas hasta la fecha explican tan sólo el 30 % de los factores genéticos asociados al desarrollo de la enfermedad.

Por otro lado, factores ambientales como la obesidad visceral, debida al exceso de inactividad física por el desarrollo incrementado en la urbanización, se encuentra relacionada con la disminución de masa muscular teniendo como consecuencia la inducción en la resistencia a la insulina. De manera adicional, cambios en la dieta representados por mayores cargas calóricas contribuyen al desarrollo de la obesidad y el deterioro de la tolerancia a la glucosa (Kaku, 2010).

3.4 FISIOPATOLOGÍA

Es importante mencionar que la progresión de la tolerancia normal a la glucosa hacia la DM2 involucra al menos dos etapas intermediarias conocidas como prediabetes las cuales son representadas por la alteración de la tolerancia a la glucosa y la alteración de la glucemia en ayunas. A pesar de que ambas alteraciones describen estados de resistencia a la insulina, estas difieren en el sitio en el cual se presenta este problema.

3.4.1 Alteración de la tolerancia a la glucosa (ATG)

Un individuo con ATG aislada presenta sensibilidad hepática a la insulina normal o ligeramente disminuida además de resistencia muscular a la insulina de moderada a severa. Debido a esto, se muestran estados de hiperglucemia prolongada tras una carga de glucosa (Nathan, 2007).

3.4.2 Alteración de la glucosa en ayunas (AGA)

La fisiopatología de esta anomalía presenta ciertos puntos clave como la reducción de la sensibilidad a la insulina hepática, la disfunción o bien la reducción crónica del número de células β pancreáticas, así como la alteración en la secreción del péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1, por sus siglas en inglés) y una secreción elevada de glucagón (Carrera, 2013).

Un individuo con AGA aislada presenta resistencia hepática a la insulina y sensibilidad muscular a la insulina normal. La combinación de la resistencia hepática a la insulina y la secreción deficiente de la misma da lugar a una producción excesiva de glucosa en ayunas (Nathan, 2007). Como sabemos, el glucagón juega un papel importante en el mantenimiento de la homeostasis normal de glucosa mediante la estimulación de la glucogenólisis y la gluconeogénesis, siendo ambos procesos metabólicos desarrollados en el hígado y el riñón a través de los cuales se realiza la conversión de glucógeno y otros sustratos a glucosa libre durante el ayuno. Se estima que la liberación de glucosa renal equivale al 20 % de la liberación endógena total de glucosa y aproximadamente a un 40 % de todo el proceso de gluconeogénesis.

De esta manera, en presencia de una fuente exógena de glucosa, la hormona insulina cumple con la función de inhibir los mecanismos de glucogenólisis y gluconeogénesis. Sin embargo, en pacientes con DM2 la resistencia hepática a la insulina da origen a la incapacidad de mantener

concentraciones normales de insulina capaces de inhibir ambos procesos con lo cual, se incrementa la tasa de producción hepática basal de glucosa dando lugar a un estado de hiperglucemia en ayunas (Levin, 2016).

Bajo condiciones clínicamente normales, las concentraciones plasmáticas de glucosa se mantienen dentro de un rango sumamente estrecho gracias a la existencia de un mecanismo de retroalimentación, entre las células β pancreáticas y los tejidos sensibles a la insulina, que mantiene la homeostasis normal de la glucosa. Dentro de dicho mecanismo se suprime la producción de glucosa a nivel hepático en respuesta a la estimulación de las células β pancreáticas secretoras de insulina. De esta manera, se facilita el consumo de macromoléculas como la glucosa, aminoácidos y ácidos grasos a nivel de tejido adiposo y muscular. En contraste, al padecer DM2 este mecanismo se encuentra comprometido originando los dos principales defectos patológicos de la enfermedad: la alteración de la secreción de insulina a través de una disfunción de las células β pancreáticas y la modificación de la acción de esta hormona a través de la resistencia a la insulina (Ozougwu, 2013).

Al trabajar de manera adecuada el tejido adiposo representa uno de los elementos clave en el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa y los lípidos. Cuando este tejido presenta un estado de inflamación crónica, como el de los pacientes con obesidad, se desencadenan múltiples patologías dentro de las que se incluye la RPI. De manera proporcional a la ganancia de peso tiene lugar la acumulación de macrófagos dentro del tejido adiposo abriendo paso a la producción de moléculas proinflamatorias y AGL que ocasionan alteraciones en la sensibilidad a la insulina. En consecuencia, se ocasiona una reacción en cadena de activación e infiltración periférica de monocitos y macrófagos que en conjunto dan lugar a lipólisis, necrosis y desarrollo de resistencia sistémica a la insulina.

Las células β pancreáticas poseen un elevado potencial para mantener la homeostasis de la glucosa a través del incremento en la secreción de insulina durante ciertas etapas primarias de la resistencia a la misma. Sin embargo, es cuando se alcanza el punto en el que la célula es incapaz de sintetizar insulina que los cuadros de hiperglucemia se manifiestan dando paso a la producción de ROS que generan estrés oxidativo y ocasionan elevadas producciones de AGL. Todo esto se traduce en un cuadro de glucolipotoxicidad que interfiere con los mecanismos compensatorios de las células β pancreáticas empeorando su función y ocasionando, en última instancia, la apoptosis de las mismas (Carrera, 2013).

3.5 CRITERIOS DE DIAGNÓSTICO

Como se mencionó con anterioridad tanto la ATG como la AGA representan estados intermedios de regulación anormal de glucosa que existen entre la homeostasis normal de glucosa y la DM2. En el caso de la AGA, se presenta una concentración de glucosa en ayunas alterada (mayor o igual 100 mg/dl y menor a 126 mg/dl) mientras que la ATG se traduce en una elevada concentración de glucosa plasmática tras la realización de la prueba de tolerancia a la glucosa oral (PTGO) (mayor o igual a 140 mg/dl y menor a 200 mg/dl) aunada a una concentración de glucosa en ayuno menor a 126 mg/dl (Carrera, 2013).

Existen diversos criterios para diagnosticar la presencia de DM2; sin embargo, dentro de los más importantes podemos mencionar aquellos establecidos por la OMS y la Asociación Americana de Diabetes (ADA, por sus siglas en inglés).

Tabla 5. Criterios de diagnóstico existentes para la DM2 según la OMS (OMS, 2005).

Nombre de la prueba	Identificación
Pacientes sintomáticos	
Prueba de glucosa plasmática en ayunas	≥ 126 mg/dl
Prueba de tolerancia a la glucosa oral	≥ 200 mg/dl
Pacientes asintomáticos	
Tamizaje oportunista	Realizado en grupos de riesgo elevado: <ul style="list-style-type: none"> - mayores a 45 años de edad - IMC > 25 kg/m² - hipertensión arterial

Tabla 6. Criterios de diagnóstico existentes para la DM2 según la ADA (ADA, 2015).

Nombre de la prueba	Identificación
Prueba de glucosa plasmática en ayunas	≥ 126 mg/dl
Prueba de tolerancia a la glucosa oral	≥ 200 mg/dl
Prueba de hemoglobina glucosilada	≥ 6.5 %
Prueba aleatoria de glucosa plasmática	≥ 200 mg/dl

4. JUSTIFICACIÓN

Las ECNT, que engloban las enfermedades cardiovasculares, el cáncer, las enfermedades respiratorias crónicas y la diabetes, son un conjunto de padecimientos que contribuyen de manera importante a la elevación de las tasas de mortalidad de los países en vías de desarrollo. En la actualidad la atención mundial de grandes organizaciones se encuentra enfocada en la determinación del origen, desarrollo y tratamiento de estas patologías, con el fin de brindar al público en general información representativa acerca de las estrategias de prevención existentes para las mismas.

De acuerdo con los datos proporcionados por la OMS con respecto a la DM para el año 2016, en México se tienen prevalencias sumamente elevadas para algunos de los factores de riesgo relacionados con la misma como lo son: el sobrepeso (63.4 %), la inactividad física (25.4 %) y la obesidad (27.6 %) siendo que el 10.4 % de la población nacional total padece DM (OMS^a, 2016). Adicionalmente se sabe que la DM2, que representa aproximadamente el 90 % de todos los casos de diabetes de manera mundial, se ha convertido en una de las mayores causas para la presentación prematura de enfermedades y muerte (FID, 2006).

De manera previa a que la detección clínica del estado de hiperglucemia característico de la diabetes sea posible, alteraciones en los perfiles de glucemia y lipemia normales se presentan conformando al SM, entidad patológica que a su vez incrementa considerablemente el riesgo de desarrollar DM2 si no se trata a tiempo.

Tras la investigación en los recursos literarios disponibles, se tomaron en consideración dos puntos importantes para la realización del presente estudio. Primeramente, se ha detectado que tanto la ausencia de diagnósticos oportunos como la omisión de tratamientos adecuados para el SM y la DM2 representan los principales motivos por los cuales la prevalencia de estas enfermedades continúa en aumento y en segundo lugar, dentro del territorio nacional existe una notable escasez de estudios que reporten la importante relación entre la evaluación de parámetros antropométricos y clínicos característicos de pacientes afectados por estas patologías y el empleo de herramientas de detección actualizadas como el diagnóstico molecular.

Con el fin de presentar una solución para los problemas antes expuestos, se planteó como objetivo del presente estudio el determinar la asociación existente entre el SM y la DM2 con la existencia del polimorfismo puntual T16189C localizado en la región HV-I del ADNmt en la población mexicana. La presencia de esta variante mitocondrial ha sido previamente reportada en pacientes asiáticos y europeos con SM (Weng, 2005; Palmieri, 2011) así como en diferentes poblaciones asiáticas de pacientes con DM2 (Park, 2008; Liao, 2008) siendo que en México se ha reportado su asociación con elevados valores de TG en individuos diabéticos (López, 2014).

En México, la DM presenta los mayores porcentajes de mortalidad tan sólo por detrás de las enfermedades cardiovasculares. Debido a esto, se piensa que la posibilidad de establecer esta variante mitocondrial como un nuevo marcador biológico para el diagnóstico oportuno del SM y/o la DM2 simboliza un importante valor para la sociedad. A través de esta herramienta, se permitiría al sector salud el implementar medidas preventivas en aquellos pacientes afectados puesto que la evolución natural de ambas patologías puede verse modificada con acciones oportunas que cambien el curso clínico de las condiciones que determinan su incidencia.

Finalmente, tras la conclusión de este estudio resultaría factible tanto disminuir las elevadas tasas de mortalidad aunadas a estas enfermedades como reducir sus elevados costos de tratamiento ya que esta medida de diagnóstico oportuno permitiría fomentar una cultura enfocada en la realización de cambios sociales y económicos influyentes en un estilo de vida más sano.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la asociación existente entre el síndrome metabólico y la diabetes mellitus tipo 2 con la presencia del polimorfismo puntual T16189C localizado en la región hipervariable 1 del ADNmt mediante el empleo de técnicas moleculares y la evaluación de parámetros antropométricos y clínicos indicativos de dichas patologías con el fin de establecer un posible marcador biológico para el diagnóstico oportuno de las mismas en la población mexicana.

5.2 OBJETIVOS PARTICULARES

5.2.1 Llevar a cabo reacciones en cadena de la polimerasa para obtener productos de amplificación correspondientes a la HV-I del ADNmt.

5.2.2 Ejecutar el método de secuenciación de Sanger y efectuar la limpieza de los productos de reacción obtenidos mediante el empleo del sistema de columnas CENTRI-SEP.

5.2.3 Evaluar los electroferogramas obtenidos a partir de la reacción de secuencia para determinar la presencia del polimorfismo puntual T16189C.

5.2.4 Determinar las diferencias estadísticas existentes en los parámetros antropométricos y clínicos de la población de estudio.

5.2.5 Realizar métodos de análisis estadístico que valoren la relación del polimorfismo puntual T16189C con los diversos parámetros antropométricos y clínicos de los diferentes grupos de estudio en la población.

5.2.6 Delimitar mediante la medida estadística conocida como razón de probabilidades si el polimorfismo puntual T16189C se encuentra asociado con la DM2 y/o el SM.

6. HIPÓTESIS

Si en la población de estudio es posible encontrar la presencia del polimorfismo puntual T16189C en la región HV-I del ADNmt mediante el uso de técnicas moleculares, podrá entonces establecerse una relación entre dicho polimorfismo y los componentes antropométricos y clínicos característicos tanto del SM como de la DM2, siendo factible el establecer un posible marcador biológico de diagnóstico oportuno de las patologías en la población mexicana.

7. METODOLOGÍA

7.1 DIAGRAMA DE FLUJO EXPERIMENTAL

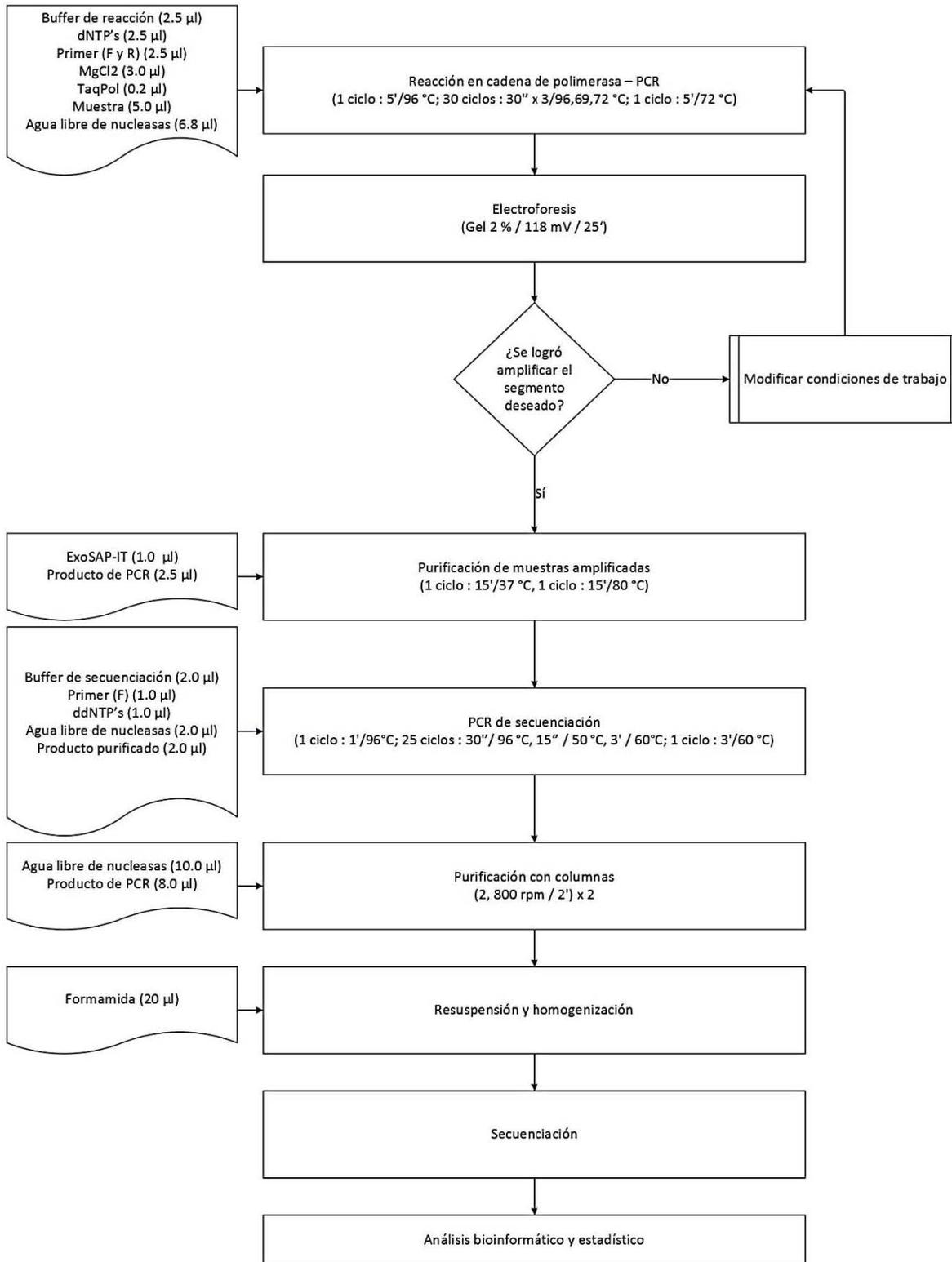


Figura 2. Metodología de trabajo para el estudio realizado (Figura de elaboración propia).

7.2 MATERIAL Y MÉTODOS

7.2.1 Población de estudio

En este trabajo experimental fueron empleadas diferentes muestras de ADNmt (n= 100), previamente extraídas y purificadas, las cuales pertenecieron a un grupo control de individuos sin diabetes (n=51) y un grupo problema de individuos diabéticos (n=49), cabe mencionar que tanto las muestras de ADNmt como la historia clínica de los pacientes fue proporcionada por un médico adscrito al Hospital Central Militar. Por otra parte, se determinó la presencia de SM mediante el uso de los criterios de diagnóstico establecidos por la OMS, el NCEP/ATP III y la FID.

7.2.2 Determinación de la integridad de las muestras de ADN empleadas

Para conocer las condiciones del material genético empleado en esta experimentación se realizó la cuantificación del material genético mediante el empleo del equipo NanoDrop 2000 (Thermo Scientific) con el cual se determinaron las concentraciones promedio de las muestras a emplear, así como la relación 260/280 de las mismas. De manera adicional, se desarrolló una corrida electroforética con algunas muestras de ADNmt la cual tuvo una duración de 25 minutos bajo una corriente de 118 mV en un gel de agarosa al 1.5 % empleando 1 µl del marcador de peso molecular 1 Kb Plus DNA Ladder (ThermoFisher Scientific®). Al término de la corrida se procedió a revelar los resultados de la electroforesis en un sistema de documentación de gel Quantum ST5 (Vilber Lourmat®) por un tiempo de exposición de 1.30 msec.

7.2.3 Amplificación de la región HV-I del ADNmt por PCR

Para llevar a cabo la amplificación del fragmento de interés localizado en la región HV-I del ADNmt fue empleada la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de punto final, haciendo uso de un par de oligonucleótidos específicos para esta región.

Tabla 7. Oligonucleótidos específicos para la región HV-I del ADNmt.

Oligonucleótido	Secuencia
Sentido	5'- CAC CAT TAG CAC CCA AAG CT - 3'
Antisentido	5'- GAG GAT GGT GGT CAA GGG AC - 3'

Posteriormente se colocaron en tubos de reacción para PCR los siguientes reactivos, respetando su orden de agregación con el fin de obtener un volumen final de 25 µl.

Tabla 8. Mezcla de reacción para la amplificación de la región HV-I del ADNmt.

Reactivo	Concentración del stock	Volumen	Concentración final
Buffer de reacción	10 x	2.5 µl	1 x
Mezcla de dNTP's	2 mM	2.5 µl	0.2 mM
Oligonucleótido sentido	10 µM	2.5 µl	1 µM
Oligonucleótido antisentido	10 µM	2.5 µl	1 µM
MgCl ₂	50 mM	3.0 µl	6 mM
Taq DNA polimerasa Platinum	5 U/µl	0.2 µl	0.04 U/µl
Muestra	-	5.0 µl	-
Agua libre de nucleasas	-	6.8 µl	-

A continuación, se mezclaron perfectamente cada uno de los tubos preparados con ayuda de un vórtex y se colocaron en un termociclador GeneAmp PCR System 9700, programando un gradiente de temperaturas como se muestra a continuación.

Tabla 9. Condiciones de termociclado para amplificación de la región HV-I del ADNmt.

Número de ciclos	Tiempo	Temperatura
1	5 min.	96 °C
30	30 s.	96 °C
	30 s.	69 °C
	30 s.	72 °C
1	5 min.	72 °C

7.2.4 Electroforesis de la región HV-I del ADNmt

Fue preparada una solución de agarosa al 2 % disolviendo por ebullición la agarosa en 20 ml de buffer Tris-Acetato-EDTA (TAE) al 0.5 X y se le adicionó 1 µl de bromuro de etidio. Se vertió la solución en un molde de acrílico y posteriormente se esperó la polimerización del gel a temperatura ambiente, transcurrido el tiempo necesario se adicionó a la cámara de electroforesis buffer TAE al 0.5 X siendo preparada cada muestra mediante la mezcla de 1µl del producto de amplificación de PCR con 3 µl de azul de bromofenol, realizando una correcta homogenización y depósito en cada carril del gel, adicionalmente se emplearon 0.5 µl del marcador de peso molecular 1 Kb Plus DNA Ladder (ThermoFisher Scientific®). Se aplicó un flujo eléctrico de 118 mV durante 25 minutos y finalizado este periodo se procedió a revelar el gel de corrida en el equipo de documentación de gel, mencionado previamente, siendo observado y registrado el corrimiento de los fragmentos de ADNmt amplificados.

7.2.5 Secuenciación de fragmentos correspondientes a la región HV-I del ADNmt

7.2.5.1 Purificación de productos obtenidos por PCR

Para continuar con la metodología se realizó la limpieza de los productos de PCR mediante el empleo del sistema ExoSAP-IT (ThermoFisher Scientific®) cuyos reactivos son la mezcla de una exonucleasa I y la fosfatasa alcalina de camarón (SAP, por sus siglas en inglés) formuladas de manera especial en un buffer que permite la remoción del exceso de oligonucleótidos y desoxirribonucleótidos trifosfato (dNTP's) remanentes al finalizar una reacción de PCR. Mientras la exonucleasa I remueve los oligonucleótidos residuales de una cadena y otros restos de ADN monocatenario, la enzima SAP remueve los remanentes de dNTP's de la mezcla de PCR que podrían generar interferencias en reacciones subsecuentes. Con el fin de ejecutar dicha reacción, fueron colocados en tubos de reacción para PCR los siguientes reactivos siempre tomando en cuenta el orden indicado.

Tabla 10. Mezcla de reacción para la purificación de productos obtenidos por PCR.

Reactivo	Volumen
ExoSAP-IT	1 µl
Producto de PCR	2.5 µl

Acto seguido, se mezclaron perfectamente los tubos de reacción con el uso de un vórtex y se colocaron las muestras preparadas en un termociclador con la siguiente programación.

Tabla 11. Condiciones de termociclado para la purificación de productos obtenidos por PCR.

Número de ciclos	Tiempo	Temperatura
1	15 min.	37 °C
1	15 min.	80 °C
Estabilización		4 °C

7.2.5.2 PCR de secuencia

El método de secuenciación desarrollado sigue los principios establecidos por Sanger en 1975, el cual consiste en la incorporación de didesoxinucleótidos (ddNTP's), marcados fluorescentemente, a una cadena de ADN durante el proceso de replicación de la misma empleando kits de secuenciación que contienen los reactivos necesarios para desarrollar la reacción. En este caso, fue empleado el kit de secuenciación BigDye® Terminator v3.1 Cycle siendo colocados en tubos de reacción para PCR los siguientes reactivos, obteniendo un volumen final de 8 µl.

Tabla 12. Mezcla de reacción para la PCR de secuencia

Reactivo	Volumen
Agua libre de nucleasas	2 µl
Oligonucleótido sentido [10 µM]	1 µl
Mezcla de ddNTP's	1 µl
Buffer de secuenciación	2 µl
Producto de purificación	2 µl

Fueron mezclados perfectamente los tubos de reacción con el uso de un vórtex y se prosiguió con la ejecución del tratamiento que se presenta a continuación.

Tabla 13. Condiciones de termociclado para la PCR de secuencia.

Número de ciclos	Tiempo	Temperatura
1	1 min.	96 °C
25	30 s.	96 °C
	15 s.	50 °C
	3 min.	60 °C
1	3 min.	60 °C
Estabilización		4 °C

7.2.5.3 Purificación de productos de PCR de secuencia con columnas

Con el fin de lograr una purificación rápida y eficiente de los productos de ADNmt obtenidos fue empleado el sistema de columnas CENTRI-SEP (Princeton Separations®). En primer lugar, se llevó a cabo la hidratación de las columnas agregando 1 ml de agua libre de nucleasas a cada una de éstas, dejándolas en reposo hasta su total hidratación (30 minutos aproximadamente). Posteriormente las columnas se llevaron a centrifugación (2,800 rpm/ 2 minutos) con el fin de eliminar el exceso de agua en las mismas y en seguida se prosiguió con la resuspensión del producto obtenido mediante la mezcla de 8 µl del producto de PCR de secuenciación en 10 µl de agua libre de nucleasas siendo dicha solución transferida a la columna. Se sometieron las columnas a una segunda centrifugación (2,800 rpm/ 2 minutos) añadiendo un tubo de recolección a cada una con el fin de llevar el producto purificado a los mismos. Una vez finalizada la centrifugación se procedió con el secado de cada muestra purificada mediante el empleo de una centrifugación al vacío. Finalmente fueron añadidos 20 µl de formamida en cada tubo de recolección para terminar con la resuspensión del producto.

7.2.5.4 Secuenciación

Para llevar a cabo el paso final de la secuenciación se recurrió al Laboratorio Divisional de Biología Molecular localizado en la Universidad Autónoma Metropolitana Campus Iztapalapa donde fueron procesados los productos antes mencionados con el fin de obtener los electroferogramas correspondientes a cada secuencia purificada.

7.2.6 Análisis bioinformático

A partir de los electroferogramas obtenidos se realizó un análisis con el empleo del programa bioinformático BIOEDIT. Para realizar dicho análisis fue empleada como referencia la secuencia registrada en la base de datos GenBank correspondiente al genoma completo del ADNmt humano (NCBI: NC_012920.1) con la cual se llevaron a cabo los alineamientos de las 100 secuencias obtenidas registrando la presencia o ausencia del polimorfismo T16189C en las mismas.

7.2.7 Análisis estadístico

Mediante el empleo del software GraphPad Prism Gold 5.0 y SigmaStat 3.5, se realizaron pruebas t de Student no pareadas para los parámetros antropométricos (edad, peso, IMC, circunferencia de cintura, presión arterial sistólica [PAS] y diastólica [PAD]) y clínicos (glucosa, TG, HDL-C y HbA1C) de la población de estudio.

Posteriormente, con la finalidad de evaluar la relación entre la presencia del polimorfismo puntual T16189C del ADNmt y la alteración de parámetros clínicos y antropométricos, se realizaron pruebas t de Student no pareadas en la población de estudio, al ser sus individuos clasificados en dos diferentes grupos, es decir, ausencia y presencia del polimorfismo T16189C.

En ambos casos, fueron determinados valores promedio para cada uno de los parámetros clínicos y antropométricos (media \pm SD).

Finalmente, para establecer la probabilidad estadística relativa entre la presentación de la DM2 y el SM (diagnosticado a partir de los criterios emitidos por la OMS, el NCEP/ATP III y la FID) en presencia del polimorfismo puntual T16189C, se empleó la medida de asociación denominada razón de probabilidades (OR por sus siglas en inglés).

En todas las evaluaciones, un valor de $p < 0.05$ fue considerado estadísticamente significativo.

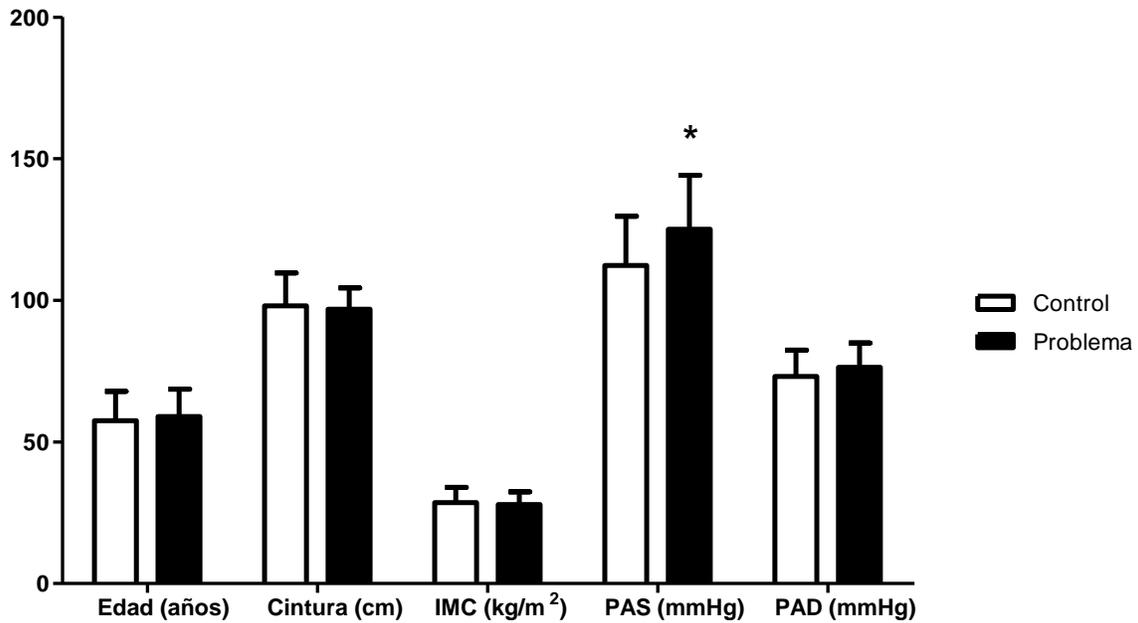
8. RESULTADOS

8.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO

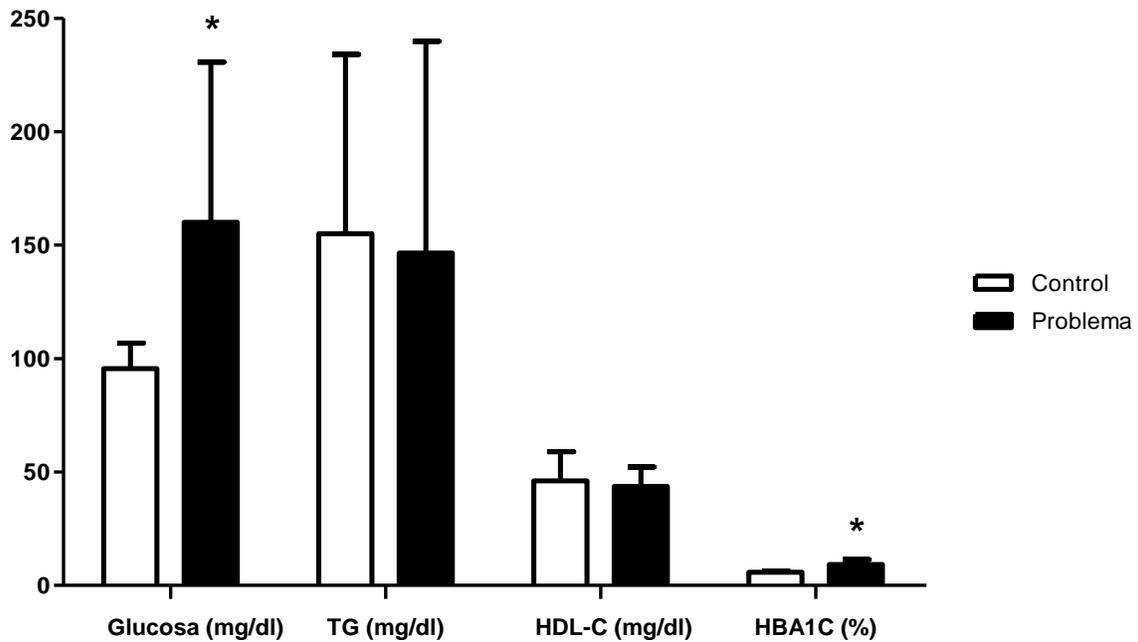
Un total de 51 individuos sin diabetes (control) y 49 individuos diabéticos (problema) formaron parte del estudio realizado. La evaluación de las características de cada grupo a través de sus historias clínicas permitió reconocer una población con sobrepeso ($IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$). De igual manera, fue observada la homogeneidad estadística en todos los parámetros antropométricos y clínicos de la población de estudio, con excepción de la PAS ($p = <0.001$), glucosa ($p = <0.001$) y HbA1C ($p = <0.001$) donde se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas asociadas a la división de la población en individuos con y sin DM2 (Tabla 14; Gráficas 1 – 2).

Tabla 14. Descripción general de la población de estudio.

Parámetro	Población general		
	Control	Problema	<i>P</i>
n	51	49	
M/F	11/40 (0.275)	11/38 (0.289)	
Edad (años)	57.47 ± 10.35	58.94 ± 9.70	0.466
ICC	0.91 ± 0.09	0.91 ± 0.06	0.912
Cintura	98.09 ± 11.58	96.92 ± 7.44	0.551
IMC (kg/m^2)	28.55 ± 5.44	27.90 ± 4.46	0.512
Presión arterial sistólica (mmHg)	112.29 ± 17.44	125.10 ± 19.05	< 0.001
Presión arterial diastólica (mmHg)	73.18 ± 9.25	76.33 ± 8.60	0.081
Glucosa (mg/dl)	95.51 ± 11.28	160.10 ± 70.54	< 0.001
TG (mg/dl)	155.00 ± 79.00	146.47 ± 93.36	0.622
HDL-C (mg/dl)	46.05 ± 12.88	43.66 ± 8.57	0.280
HbA1C (%)	5.84 ± 0.42	9.19 ± 2.28	< 0.001

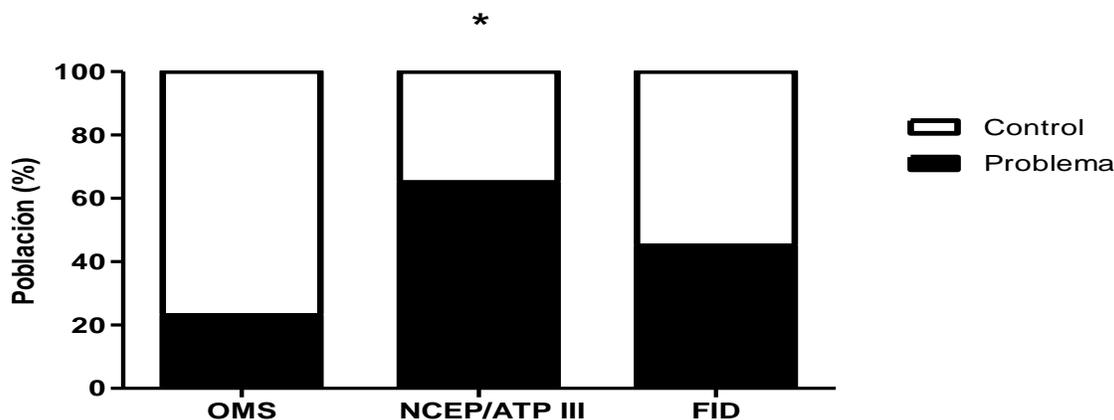


Gráfica 1. Parámetros antropométricos de la población de estudio. (*) Corresponde a un valor de $p < 0.05$.



Gráfica 2. Parámetros clínicos de la población de estudio. (*) Corresponde a un valor de $p < 0.05$.

Tras el empleo de los tres diferentes criterios de diagnóstico para el SM emitidos por la OMS (con SM $n = 23$, sin SM $n = 77$), el NCEP/ATP III (con SM $n = 65$, sin SM $n = 35$) y la FID (con SM $n = 45$, sin SM $n = 55$) pudo ser detectado que el mayor porcentaje de detección de la patología se presentó al manejar las pautas establecidas por el NCEP/ATP III (Gráfica 3).

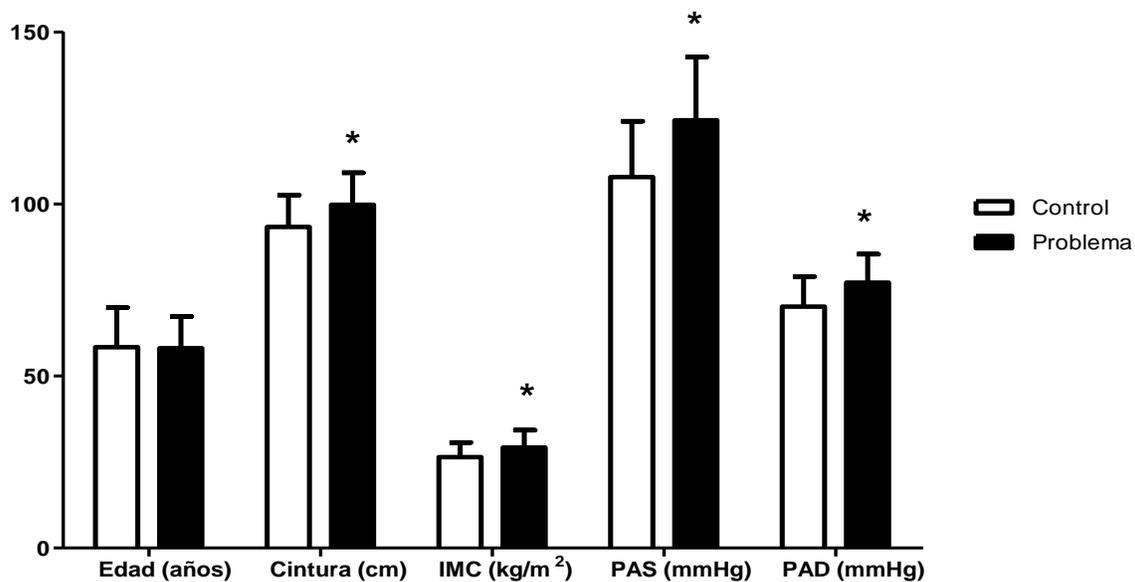


Gráfica 3. Determinación de la presencia y ausencia del SM en la población de estudio con los criterios de diagnóstico de la OMS, el NCEP/ATP III y la FID. (*) Corresponde a un valor de $p < 0.05$.

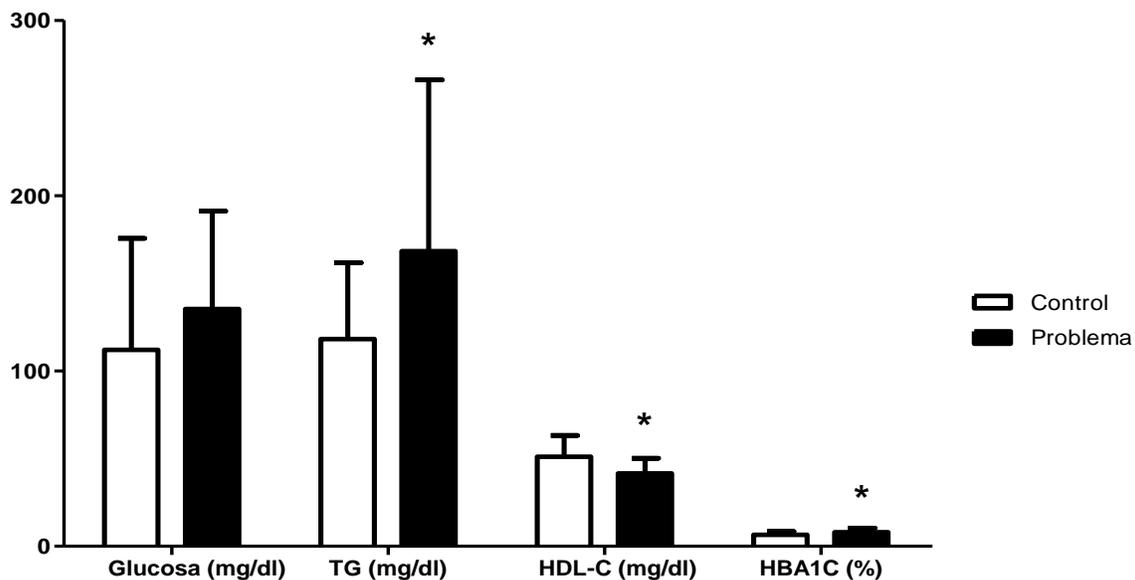
De igual manera, fue observada la homogeneidad estadística en todos los parámetros antropométricos y clínicos de la población de estudio, con excepción de la PAS ($p = <0.001$), glucosa ($p = <0.001$) y HbA1C ($p = <0.001$) donde se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas asociadas a la división de la población en individuos con y sin DM2 (Tabla 15; Gráficas 4 - 5)

Tabla 15. Descripción general de los parámetros antropométricos y clínicos de la población bajo diagnóstico de SM de acuerdo con los criterios del NCEP/ATP III.

Parámetro	Población bajo diagnóstico de SM (NCEP/ATP III)		
	Control	Problema	P
n	35	65	
M/F	8/27 (0.296)	14/51 (0.275)	
Edad (años)	58.40 ± 11.44	58.08 ± 9.24	0.879
ICC	0.92 ± 0.10	0.91 ± 0.06	0.669
Cintura (cm)	93.31 ± 9.22	99.78 ± 9.32	0.001
IMC (kg/m ²)	26.41 ± 4.27	29.21 ± 5.07	0.006
Presión arterial sistólica (mmHg)	107.83 ± 16.19	124.35 ± 18.37	< 0.001
Presión arterial diastólica (mmHg)	70.20 ± 8.69	77.15 ± 8.29	< 0.001
Glucosa (mg/dl)	112.06 ± 63.53	135.29 ± 55.90	0.062
TG (mg/dl)	118.23 ± 43.56	168.37 ± 97.67	0.005
HDL-C (mg/dl)	51.12 ± 12.12	41.52 ± 8.72	< 0.001
HBA1C (%)	6.55 ± 1.90	7.98 ± 2.40	0.003



Gráfica 4. Parámetros antropométricos de la población bajo diagnóstico de SM de acuerdo con los criterios del NCEP/ATP III. (*) Corresponde a un valor de $p < 0.05$.



Gráfica 5. Parámetros clínicos de la población bajo diagnóstico de SM de acuerdo con los criterios del NCEP/ATP III. (*) Corresponde a un valor de $p < 0.05$.

8.2 DETERMINACIÓN DE LA INTEGRIDAD DE LAS MUESTRAS DE ADNmt EMPLEADAS

Se realizó la cuantificación de las muestras de ADNmt de la población de estudio obteniendo concentraciones entre los 23 y 90 ng/μl con valores de relación 260/280 entre 1.7 y 1.9. Tras la realización de la corrida electroforética en gel de agarosa al 1.5 % se obtuvo una fotografía que confirmó la elevada pureza e integridad de las muestras (Figura 3).

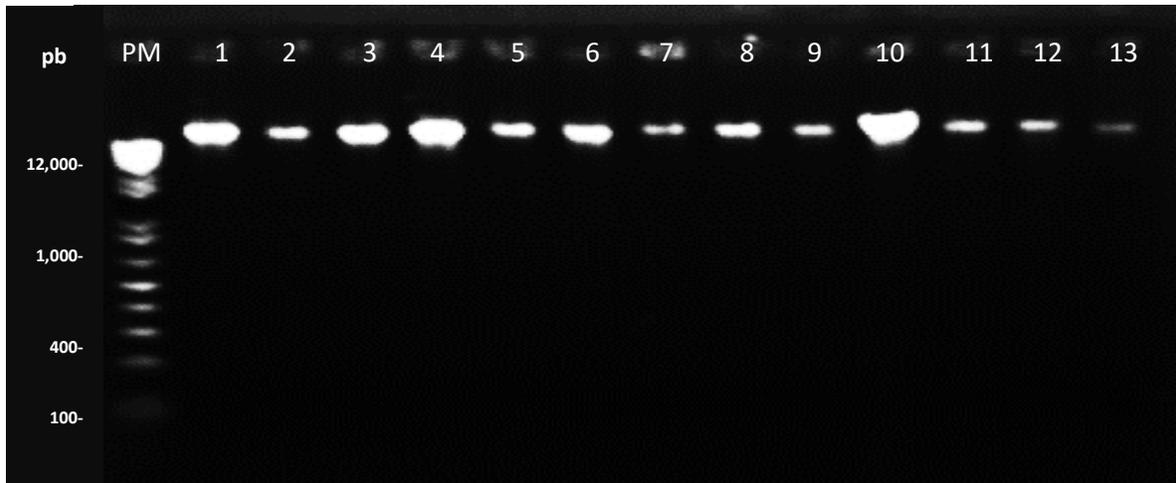


Figura 3. Electroforesis en gel de agarosa al 1.5 % con muestras de material genético correspondientes a la población de estudio. PM: marcador de peso molecular 1 Kb Plus DNA Ladder. 1 - 13: carriles con muestras de material genético mayores a 12,000 pb.

8.3 AMPLIFICACIÓN DE LA REGIÓN HV-I DEL ADNmt POR PCR Y ELECTROFORESIS

Al finalizar la reacción de PCR, mediante la ejecución de una corrida electroforética en gel de agarosa al 2 % se determinó la presencia de productos de reacción específicos para la HV-I del ADNmt de aproximadamente 400 pb.

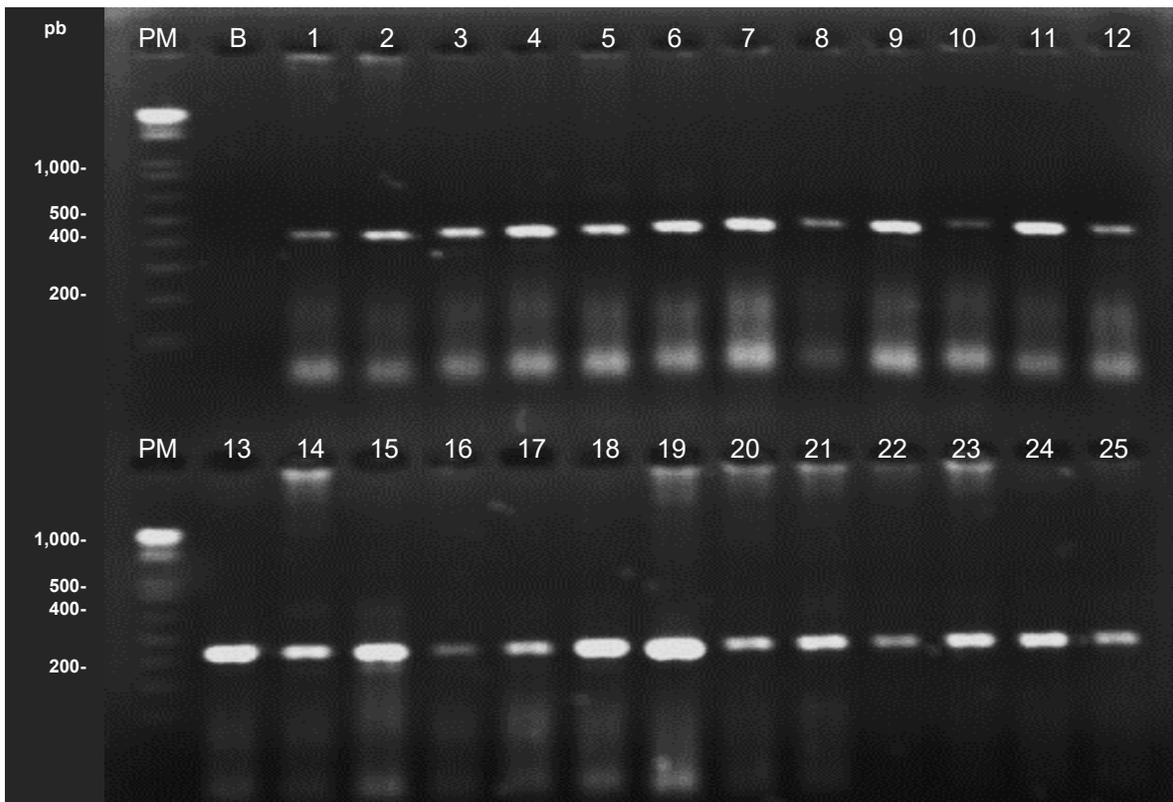


Figura 4. Electroforesis en gel de agarosa al 2 % con productos correspondientes a la región HV-I del ADNmt de la población de estudio. PM: marcador de peso molecular 1 Kb Plus DNA Ladder. B: control negativo. 1 - 25: carriles con productos de amplificación de aproximadamente 400 pb.

8.4 SECUENCIACIÓN DE PRODUCTOS CORRESPONDIENTES A LA REGIÓN HV-I DEL ADNmt

8.4.1 Secuencia normal

Al culminar con el protocolo de purificación y secuenciación de los productos de interés se obtuvieron los electroferogramas correspondientes a la región HV-I del ADNmt. Se demostró la presencia del polimorfismo T16189C tomando en consideración la secuencia del genoma completo del ADNmt humano, registrada en GenBank con el número de referencia NC_012920.1. Se muestran ejemplos representativos de los patrones de secuencia normales (Figura 5) y con presencia del polimorfismo (Figura 6).

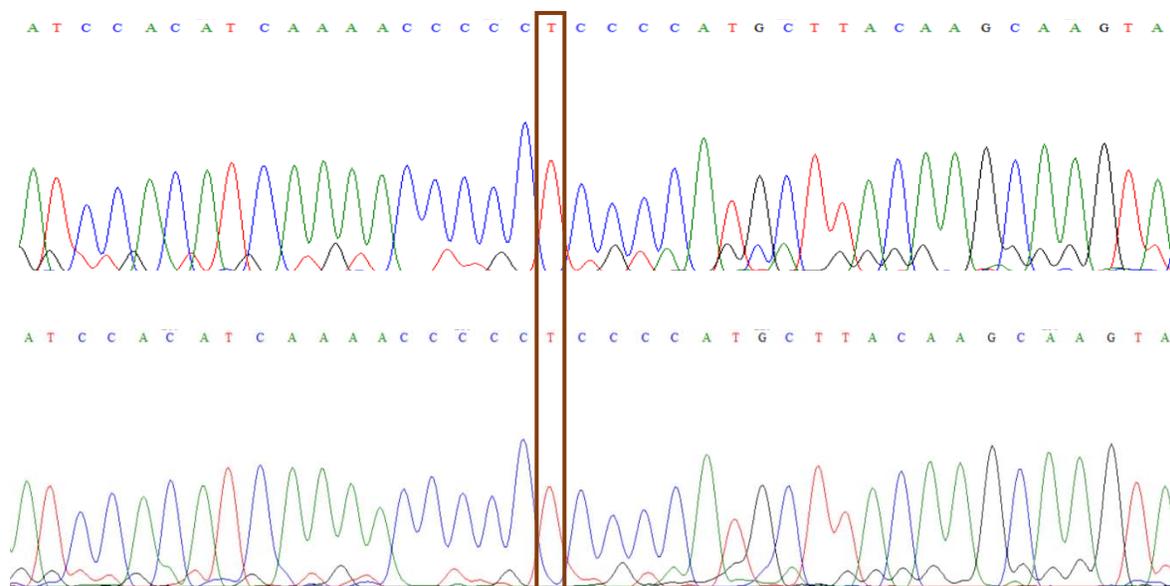


Figura 5. Electroferogramas representativos de la secuencia normal del ADNmt. Se indica en el recuadro la presencia del nucleótido timina (T) característico de la secuencia normal para el fragmento secuenciado.

8.4.2 Secuencia mutada

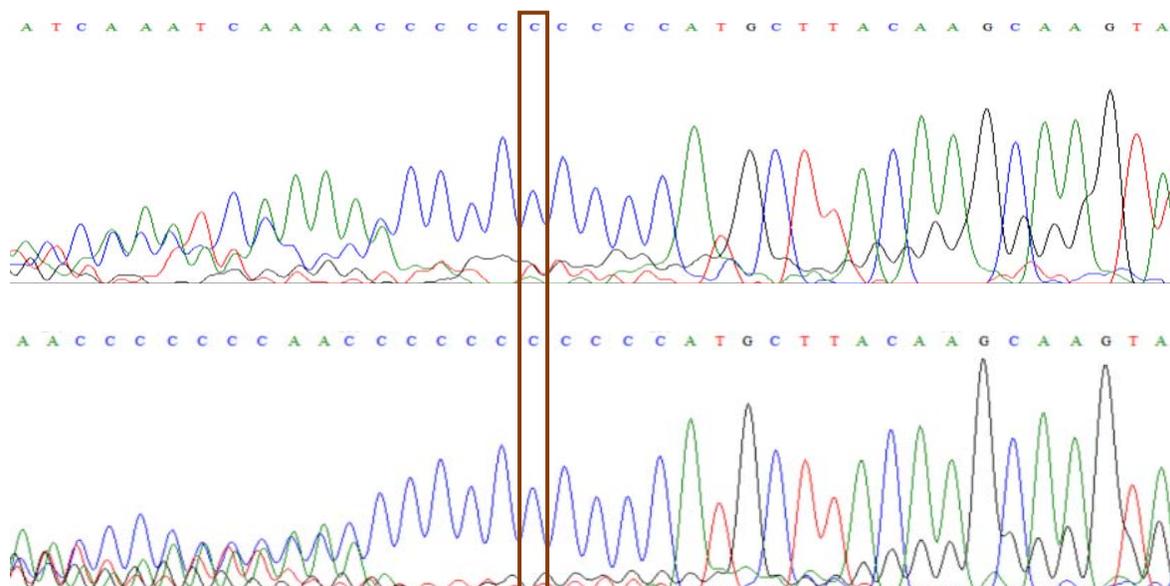


Figura 6. Electroferogramas representativos de la secuencia alterada del ADNmt. Se indica en el recuadro la presencia del nucleótido citosina (C) característico del polimorfismo puntual de interés (T16189C) para el fragmento secuenciado.

8.5 ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO Y ESTADÍSTICO

Partiendo de los electroferogramas obtenidos, se llevaron a cabo los alineamientos de las 100 secuencias obtenidas empleando la herramienta bioinformática BIOEDIT, tomando como referencia la secuencia correspondiente al genoma completo del ADNmt humano (Figura 7).

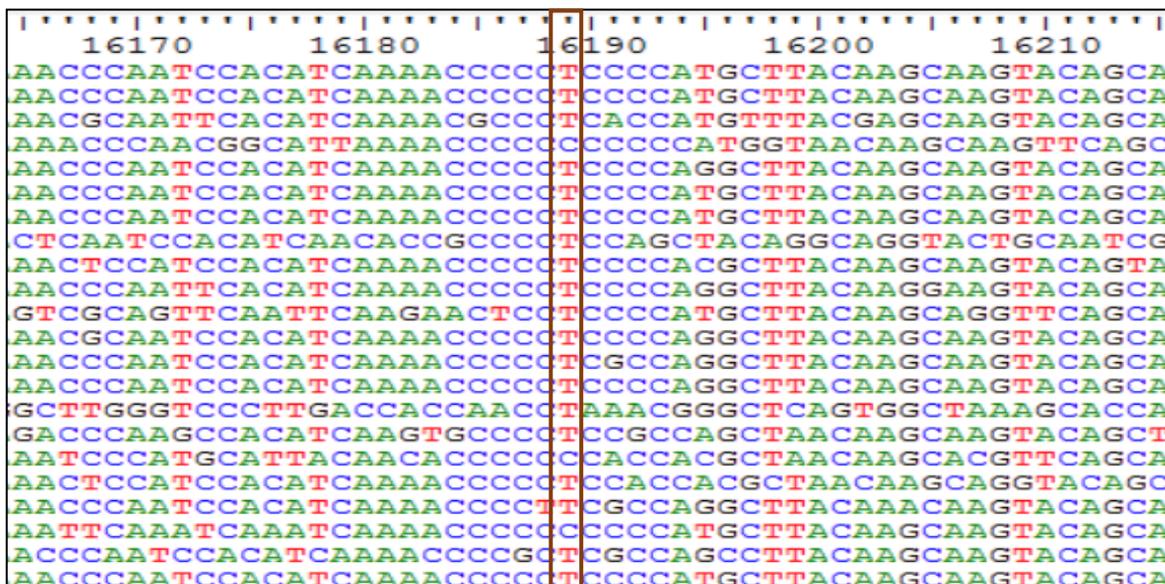


Figura 7. Alineamientos obtenidos con el programa BIOEDIT. Se presenta un ejemplo representativo de los alineamientos obtenidos siendo posible apreciar dentro del recuadro el cambio de un nucleótido de timina (T) a citosina (C) en la posición 16189 para aquellas secuencias alteradas.

De acuerdo con los alineamientos realizados resultó posible evidenciar la presencia del polimorfismo T16189C del ADNmt en el 24 % de la población total. En el caso del grupo destinado a la evaluación de la DM2, se observó un mayor porcentaje de aparición dentro del grupo problema ($16/49 = 32.65\%$) con respecto al grupo control ($8/51 = 15.69\%$). Sin embargo, al realizar el cálculo e interpretación de la OR para determinar la posible relación entre dicha variante y la DM2 dicha asociación no resultó ser estadísticamente significativa (Tabla 16).

Tabla 16. Determinación de la significancia estadística de la relación entre la DM2 y el polimorfismo puntual T16189C del ADNmt.

Parámetro	Población con DM2 y polimorfismo T16189C	
	Control	Problema
n	51	49
Polimorfismo T16189C	8/51 (15.69 %)	16/49 (32.65 %)
OR	2.6061	
P	0.0511	
CI	0.9955 – 6.8220	

Dentro del grupo destinado a la evaluación del SM se observó un mayor porcentaje de aparición del polimorfismo para el grupo problema ($21/65 = 32.31\%$) al realizar la comparación con el grupo control ($3/35 = 8.57\%$). En este caso, el cálculo e interpretación de la OR demostró la ausencia de asociación variante-patología con los criterios de diagnóstico emitidos por la OMS [OR = 2.0333; $p = 0.1725$; CI = 0.7336 – 5.6360] y la FID [OR = 2.5556; $p = 0.0518$; CI = 0.9925 – 6.5802].

Sin embargo, permitió demostrar una asociación estadísticamente significativa entre la presencia del polimorfismo puntual T16189C del ADNmt y el diagnóstico de la exhibición del SM al utilizar el criterio emitido por el NCEP/ATP III (Tabla 17).

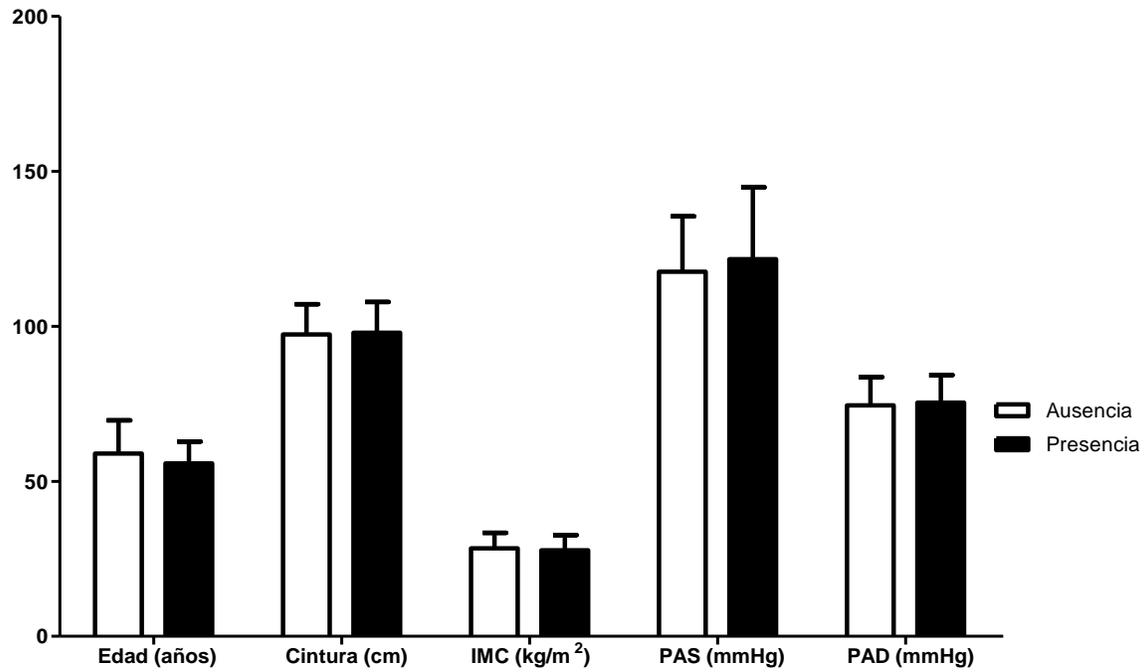
Tabla 17. Determinación de la significancia estadística de la relación entre el SM y el polimorfismo puntual T16189C del ADNmt.

Parámetro	Población con SM (NCEP/ATP III) y polimorfismo T16189C	
	Control	Problema
n	35	65
Polimorfismo T16189C	3/35 (8.57 %)	21/65 (32.31 %)
OR	5.0909	
P	0.0136	
CI	1.3977 – 18.5424	

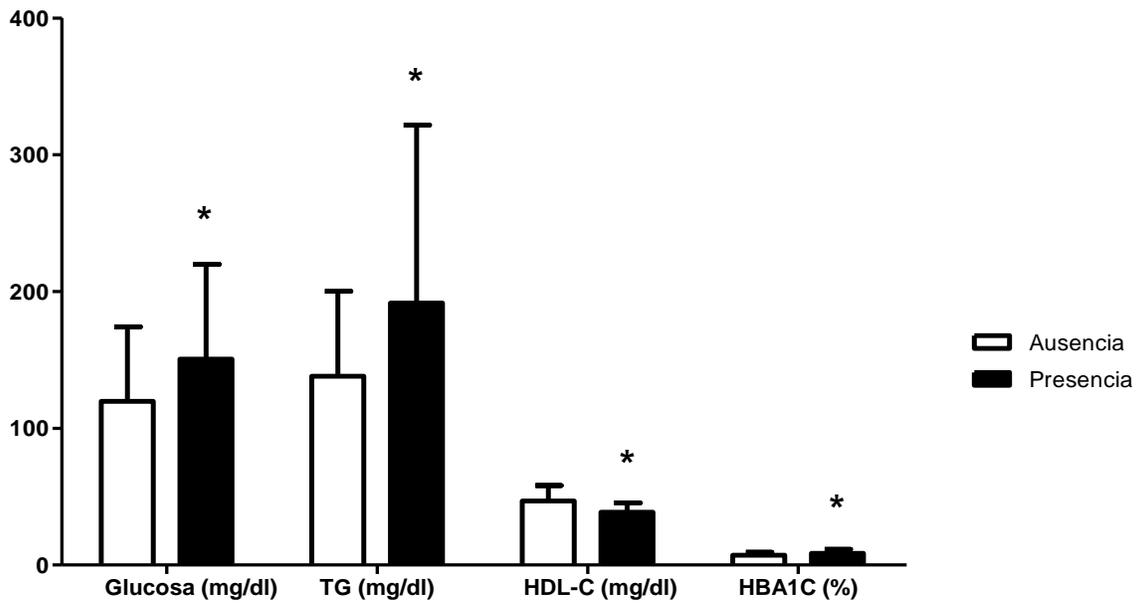
Posteriormente se evaluó la posible alteración de los parámetros antropométricos y clínicos en la población total, tomando como principal causa la presencia de dicho polimorfismo, siendo observadas asociaciones estadísticamente significativas en los parámetros de glucosa ($p = 0.026$), TG ($p = 0.007$), HDL-C ($p = <0.001$) y HbA1C ($p = 0.012$) de aquellos individuos con el polimorfismo.

Tabla 18. Descripción general de la población de estudio con base en el polimorfismo puntual T16189C del ADNmt.

Parámetro	Polimorfismo T16189C		
	Ausencia	Presencia	P
n	76	24	
M/F	15/61 (0.246)	7/17 (0.412)	
Edad (años)	58.96 ± 10.69	55.75 ± 7.09	0.172
ICC	0.92 ± 0.08	0.90 ± 0.06	0.370
Cintura (cm)	97.38 ± 9.75	97.94 ± 9.90	0.809
IMC (kg/m ²)	28.38 ± 5.01	27.77 ± 4.94	0.601
Presión arterial sistólica (mmHg)	117.59 ± 17.92	121.67 ± 23.16	0.369
Presión arterial diastólica (mmHg)	74.50 ± 9.13	75.42 ± 8.84	0.667
Glucosa (mg/dl)	119.76 ± 54.37	150.58 ± 69.29	0.026
TG (mg/dl)	137.97 ± 62.17	191.50 ± 130.24	0.007
HDL-C (mg/dl)	46.88 ± 11.32	38.55 ± 6.86	<0.001
HBA1C (%)	7.15 ± 2.06	8.52 ± 2.84	0.012



Gráfica 6. Parámetros antropométricos de la población de estudio con base en el polimorfismo puntual T16189C del ADNmt.



Gráfica 7. Parámetros clínicos de la población de estudio con base en el polimorfismo puntual T16189C del ADNmt. (*) Corresponde a un valor de $p < 0.05$.

9. DISCUSIÓN

Se define como SM al conjunto de anormalidades clínicas representadas por la presencia de cuadros de obesidad, hiperglucemia, dislipidemia e hipertensión que elevan de manera considerable el riesgo de aparición de patologías más severas dentro de las cuales se encuentra incluida la DM2.

En México la incidencia aproximada para la DM es del 10.4 % y debido a que un amplio número de personas afectadas por esta no poseen un diagnóstico certero, se carece de cifras exactas que demuestren el porcentaje de existencia de la DM2, forma predominante de la enfermedad (Ozougwu, 2013). Hasta la fecha el sector de salud pública ha establecido políticas y directrices con planes de acción contra la diabetes, el sobrepeso y la obesidad, no obstante, la tasa de mortalidad aunada a la diabetes es la tercera más alta después de las enfermedades cardiovasculares y otras ECNT (OMS^a, 2016).

Como ha sido mencionado con anterioridad, el padecer SM permite identificar clínicamente a aquellas personas en peligro elevado de desarrollar ECV y DM2 a largo plazo (Chew, 2006) por lo cual se piensa que un diagnóstico oportuno de éste representaría una excelente oportunidad para establecer estilos de vida preventivos que reduzcan las elevadas tasas de mortalidad atribuidas a sus anormalidades clínicas, siendo posible al mismo tiempo evitar su evolución hacia el desarrollo de nuevos casos de DM2 en el país.

En este estudio se evaluó una población mexicana conformada por 51 individuos sin diabetes (control) y 49 diabéticos (problema) con valores de IMC por arriba del límite normal, siendo esto un indicativo que permitió categorizarlos en individuos con sobrepeso. Este hecho concuerda con los datos estadísticos del porcentaje de prevalencia para esta condición dentro de nuestro país que hasta el año 2014, se encontraba entre el 57.6 y 70.7 % del grupo representado por adultos mayores de 18 años (OMS^b, 2016).

Los individuos antes mencionados fueron sometidos a un diagnóstico de SM tomando en consideración tres de los criterios existentes para el mismo. Fue posible apreciar que a medida que la rigurosidad de los criterios clínicos disminuía, los porcentajes de detección del síndrome aumentaban de manera considerable ya que al seguir los criterios emitidos por la OMS y la FID se encontraron prevalencias de la patología del 23 y el 45 % respectivamente, mientras que al considerar los criterios establecidos por el NCEP/ATP III dicha prevalencia se elevó hasta un 65 %.

Existen múltiples estudios cuyo principal objetivo ha sido identificar el mejor criterio de diagnóstico para la detección del SM; sin embargo, resulta importante mencionar que la aplicación de los mismos debe estar sujeta a las características que definen a la población estudiada. Un ejemplo característico de esto reside en el tipo de pruebas necesarias para realizar un determinado diagnóstico ya que en el caso de los criterios establecidos por la OMS debe considerarse la necesidad de ejecutar un análisis de suma importancia conocido como PTGO, que permite identificar la resistencia a la insulina en pacientes afectados. Cabe mencionar que en México no se cuenta con el 100 % de recursos necesarios dentro de los establecimientos de atención primaria para llevar a cabo su realización (OMS^a, 2016) lo cual sugiere una gran desventaja para la implementación de este criterio de diagnóstico en pro de la detección de pacientes afectados por el síndrome.

Previamente se mencionó que el mayor porcentaje de detección de la patología fue encontrado al tomar en cuenta los criterios clínicos establecidos por el NCEP/ATP III que, a pesar de figurar como los más flexibles, representan una opción adecuada para diagnosticar el SM debido a que las pruebas involucradas en la determinación de los mismos resultan ser de más fácil acceso y a la vez, el personal de atención en los establecimientos de atención primaria cuenta con la capacitación necesaria para llevar a cabo su realización dentro del territorio mexicano.

Ha sido descrito que la evolución del SM y la DM2 se encuentra claramente asociada con factores metabólicos, ambientales y genéticos. En relación con esta última variable, la sustitución T16189C encontrada en el ADNmt ha sido relacionada con características patofisiológicas que van desde los niveles elevados de glucosa e insulina en ayunas hasta el desarrollo de estados de hiperglucemia general, hipertrigliceridemia y resistencia a la insulina (Weng, 2005).

En este estudio, el porcentaje de aparición del polimorfismo T16189C fue del 24 %, porcentaje mayor al registrado en países como el Reino Unido [11.2 %] y Brasil [21.79 %] representando a la vez, una prevalencia superior a la registrada dentro del territorio nacional en el año 2014 [22.58%] (Aral, 2011; Crispim, 2006; López, 2014). En contraste, dicho porcentaje fue claramente menor al reportado en poblaciones asiáticas [96 %] (Poulton, 2002).

Como se sabe, el material genético mitocondrial sigue un patrón de herencia uniparental y carece de mecanismos de recombinación, por lo cual las características genéticas definidas por la presencia de ciertos SNPs en determinadas posiciones del ADNmt, han permitido establecer la existencia de diferentes haplogrupos, es decir, grupos de personas que comparten el mismo patrón de SNPs en su genoma mitocondrial. Habiendo dicho esto, las prevalencias previamente mencionadas pueden ser entendidas si se menciona que con anterioridad el polimorfismo T16189C ha sido definido como un marcador molecular distintivo de las poblaciones asiáticas. En este sentido se sabe que el haplogrupo B, específico para esta población, presenta a la vez un subgrupo caracterizado por la existencia de este y otros polimorfismos aunque cabe mencionar que esta variación del ADNmt se encuentra distribuida de manera mundial teniendo una aparente relación con diferentes linajes de este material genético (Marzuki, 2012).

De acuerdo con la OMS, se conoce como factor de riesgo a cualquier rasgo o característica de un individuo que aumenta su probabilidad de sufrir una enfermedad y dentro de nuestro país contamos con prevalencias sumamente elevadas para algunos de los factores de riesgo relacionados con ambas patologías como lo son el sobrepeso (63.4 %), la inactividad física (25.4 %) y la obesidad (27.6 %) (OMS^a, 2016) que en general son describen estilos de vida con malos hábitos alimenticios mayormente influenciados por el sedentarismo que en conjunto, originan en los individuos cuadros patológicos que desencadenan alteraciones fisiológicas representativas de estas enfermedades.

Por este motivo al ser la DM2 y el SM padecimientos de carácter multifactorial, resultó de suma importancia el analizar la asociación entre las características clínicas que describieron a la población de este estudio y la exhibición del polimorfismo mitocondrial T16189C.

En primer lugar, los principales defectos patológicos existentes en individuos con DM2 residen en la alteración de la secreción de la hormona insulina debida a fallas en el funcionamiento de las células beta pancreáticas además de una acción disminuida de dicha hormona ocasionada por cuadros de resistencia a la insulina (Ozougwu, 2013) cuyas principales repercusiones residen en el desequilibrio del metabolismo de las macromoléculas de mayor importancia en el organismo, es decir, lípidos, carbohidratos y proteínas.

Por otra parte, se sabe que la ocurrencia en cadena de las alteraciones que describen al SM, es decir, la hipertensión, dislipidemia y RPI, se encuentra íntimamente relacionada con la obesidad abdominal que da lugar a la acumulación de grasa a nivel visceral, razón por la cual el tejido adiposo segrega elevadas concentraciones de adipocinas responsables en gran medida de la disfunción en la actividad del receptor de insulina así como de la generación del estado proinflamatorio característico de la patología siendo también importante mencionar que la relación existente entre la variante T16189C y el esparcimiento de este desorden, se encuentra influenciada por características poblacionales como la edad, el estilo de vida, la falta de ejercicio y los malos hábitos alimenticios (Palmieri, 2011).

Tras haber realizado la evaluación del grupo de estudio, fue posible demostrar la relación estadísticamente significativa entre el polimorfismo T16189C y los parámetros clínicos glucosa, TG, HDL-C y HBA1C en el grupo con presencia del polimorfismo de interés ya que estos individuos presentaron valores clínicamente anormales en comparación con el grupo con ausencia de la variante mitocondrial.

Una observación importante realizada a partir de los datos aquí registrados reside en el hallazgo de una clara significancia estadística entre los parámetros clínicos que definen al fenotipo hiperglucemia-dislipidemia-hipertrigliceridemia y la exhibición del polimorfismo mitocondrial de interés.

Una probable explicación de esta relación fue ofrecida por Park y colaboradores, que tras evaluar la afinidad de la proteína DC50 con diversas secuencias mitocondriales normales y alteradas por la presencia del polimorfismo T16189C, encontraron una reducción de afinidad entre las secuencias mitocondriales con el polimorfismo y esta proteína; cuya expresión en tejidos energéticamente ricos a nivel mitocondrial además de su capacidad de reprimir la vía de señalización mediada por PPAR δ , la señalan como una proteína con participación en la regulación del metabolismo lipídico y energético (Hatchell, 2006). De esta manera, dicha disminución de afinidad podría justificar la alteración en los valores de glucosa, TG, HDL-C y HBA1C de la población evaluada; sin embargo, es importante mencionar que otras proteínas podrían estar también involucradas en la alteración de los ya mencionados parámetros clínicos.

De igual forma, debe mencionarse que el polimorfismo T16189C se encuentra localizado en la región del bucle de desplazamiento del ADNmt, sitio de mayor control para la expresión del material genético mitocondrial donde se encuentran localizados diferentes elementos reguladores de la replicación y la transcripción mitocondrial. Resulta comprensible que la presencia del polimorfismo interfiera con estas funciones regulatorias alterando en consecuencia la función normal del material mitocondrial, acción de carácter genético probablemente responsable del desencadenamiento de algunas anomalías y disfunciones metabólicas encontradas tanto en la DM2 como en el SM.

En la literatura, se ve respaldado el hecho de que el polimorfismo T16189C del ADNmt juega un papel directo en la predisposición de individuos caucásicos y asiáticos hacia el desarrollo de la DM2. De manera adicional, existe evidencia que demuestra que la generación o bien la expresión de diversas mutaciones patológicas en este material genético puede encontrarse influenciada por la existencia de otros polimorfismos en el ADNmt por lo cual, la amplia existencia de haplotipos mitocondriales hasta ahora descritos podría estar involucrada en la modulación de la expresión fenotípica de este polimorfismo en diversas poblaciones (Marzuki, 2012).

A la fecha no existen registros bibliográficos dentro de nuestro país que relacionen a las entidades patológicas DM2 o SM con la variante mitocondrial T16189C; sin embargo, un estudio realizado en 2014 por López demostró la asociación de este polimorfismo con niveles elevados de TG en individuos diabéticos, información corroborada en los resultados aquí obtenidos. Debido a la asociación observada entre el polimorfismo T16189C y algunos de los parámetros clínicos comúnmente relacionados con la DM2 y el SM, en este estudio se realizaron cálculos estadísticos que permitieron determinar la posible relación entre dicha variante mitocondrial y ambas entidades patológicas.

En primera instancia, diferentes registros encontrados han logrado comprobar la asociación entre el polimorfismo T16189C y la DM2 [OR = 1.256; 95 % CI, 1.08 - 1.46; p = 0.003] (Park, 2008) y [OR = 0.32; 95 % CI, 0.14-0.71; p = 0.0045] (Liao, 2008) encontrándose ambas asociaciones en poblaciones asiáticas. En contraste con estos hallazgos, el presente estudio no demostró la asociación de dicha variante con la DM2 [OR = 2.60; 95 % CI, 0.99 – 6.82; p = 0.0511].

Por otra parte, la relación entre este polimorfismo mitocondrial y el SM ha sido también demostrada con anterioridad [OR = 1.55; 95 % CI, 1.07-2.23; p = 0.021] (Weng, 2005) y a diferencia de los resultados obtenidos en relación con la DM2, éste estudio permitió exponer y demostrar el primer registro nacional de la asociación variante-patología en aquellos individuos diagnosticados con SM a través del empleo del criterio emitido por el NCEP/ATP III [OR = 5.09; 95 & CI, 1.39 – 18.54; p = 0.0136], que como fue mencionado antes, representa quizá el criterio de diagnóstico más eficaz y eficiente para detectar el SM dentro de nuestro país.

Debe tomarse en cuenta que ambas entidades patológicas poseen un carácter de tipo multifactorial por lo cual, los resultados encontrados y reportados en el presente estudio en comparación con los reportados en publicaciones previas pueden encontrarse influenciados por las variaciones entre los factores metabólicos, ambientales y genéticos que representan a nuestra población en contraste con aquellos factores existentes en otras poblaciones.

No puede ser refutada la expansión epidémica tanto de la DM2 como del SM al tomar en consideración tanto las alarmantes tasas de mortalidad atribuidas a estas patologías como las estimaciones que auguran el considerable aumento de las mismas en los años venideros a nivel global, debido a esto, estudios más exhaustivos que consideren a la variable mitocondrial T16189C como un factor de susceptibilidad no sólo para el desarrollo del SM sino también de la DM2 deben ser considerados. Al mismo tiempo, estos resultados abren paso a la realización de futuros estudios dentro del territorio nacional que permitan dilucidar a profundidad los mecanismos específicos por los cuales esta alteración del material mitocondrial da lugar al desarrollo y la manifestación de las principales anomalías clínicas que conforman al SM.

10. CONCLUSIÓN

Mediante la ejecución de técnicas moleculares fue posible evaluar la presencia del polimorfismo puntual T16189C localizado en la región HV-I del ADNmt dentro de la población estudiada.

De igual manera, se comprobó la asociación entre el polimorfismo T16189C y los parámetros clínicos de glucosa, TG, HDL-C y HBA1C en individuos con presencia de la variante mitocondrial siendo estos, parámetros descriptivos del fenotipo hiperglucemia, dislipidemia e hipertrigliceridemia característico de los individuos con SM.

No pudo ser establecida la asociación entre el polimorfismo puntual T16189C y la DM2, de manera opuesta, la asociación entre dicho polimorfismo y el SM definido por los criterios de diagnóstico emitidos por el NCEP/ATP III pudo ser demostrada.

Los resultados presentados en este estudio representan el primer registro a nivel nacional que describe de manera exitosa la asociación entre el polimorfismo puntual T16189C localizado en la región HV-I del ADNmt y el SM, permitiendo su establecimiento como posible marcador biológico para la detección de la patología en la población mexicana.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADA. (2015) El diagnóstico de la diabetes e información sobre la prediabetes. [En línea] *American Diabetes Association*. Acceso: 11 de enero de 2017. Recuperado de: <http://www.diabetes.org/es/informacion-basica-de-la-diabetes/diagnostico.html>
- Aganovic, I. Dusek, T. (s/a) Pathophysiology of Metabolic Syndrome. [En línea] *International Federation of Clinical Chemistry*. Acceso: 30 de julio de 2016. Recuperado de: http://www.ifcc.org/ifccfiles/docs/Pathophysiology_of_Metabolic_Syndrome.pdf
- Aguilar, C. Rojas, R. Gómez-Pérez, F. et al. (2004) High Prevalence of Metabolic Syndrome in Mexico. [En línea] *Archives of Medical Research*. (35), 76-81. DOI: 10.1016/j.arcmed.2003.06.006 Acceso: 10 de agosto de 2016. Recuperado de: [http://www.arcmedres.com/article/S0188-4409\(03\)00135-8/fulltext](http://www.arcmedres.com/article/S0188-4409(03)00135-8/fulltext)
- Álvarez, V. (2008) Estudio Multidisciplinar de la Variabilidad del ADN Mitocondrial en Poblaciones Humanas. [En línea] USC: España. p.11-22. Acceso: 31 de julio de 2016. Recuperado de: <https://books.google.com.mx/books?id=wdqllslzHKMC&lpg=PP1&pg=PP1#v=onepage&q&f=false>
- Andrade, S. Revilla, M. Caballero, R. (s/a) Síndrome metabólico: Un punto de vista en México y en Latinoamérica. [En línea] *Academia Mexicana de Cirugía*. Acceso: 8 de agosto de 2016. Recuperado de: www.amc.org.mx/web2/imagenes/media/enfermedad/sindromemetabolico.pdf
- Aral, C. et al. (2011) Investigation of relationship of the mitochondrial DNA 16189 T>C polymorphism with metabolic syndrome and its associated clinical parameters in Turkish patients. [En línea] *Hormones*. 10 (4) 298-303 Acceso: 27 de julio de 2016. Recuperado de: <http://www.hormones.gr/743/article/article.html>
- Bandelt, HJ. et al. (2006) Human Mitochondrial DNA and the Evolution of Homo sapiens. [En línea] v.18 Springer: Alemania. p. 9-10 Acceso: 1 de agosto de 2016. Recuperado de: <https://books.google.com.mx/books?id=9b2XRmhC2ssC&lpg=PR1&pg=PR1#v=onepage&q&f=false>
- Bremer, A. Mietus, M. Lustig, R. (2012) Toward a Unifying Hypothesis of Metabolic Syndrome. [En línea] *PEDIATRICS*. 129(3), 557-570. Acceso: 13 de agosto de 2016. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3289531/>
- Brown T. (2002) Capítulo 14: Mutation, Repair and Recombination. [En línea] 2ª ed. *Genomes*. Oxford: Wiley-Liss. Acceso: 20 de julio de 2016. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21114/>
- Burke, 2014. Stewart, C. (2014) Capítulo 1: Functional Architecture of the Cell's Nucleus in Development, Aging, and Disease. [En línea] *Current Topics in Developmental Biology*. Elsevier. v. 109. 1-52. Acceso: 25 de junio de 2016. Recuperado de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123979209000068?via%3Dihub>
- Campbell, N. Reece, J. (2007) Biología. [En línea] 7ª ed. Médica Panamericana: España. p. 102. Acceso: 25 de junio de 2016. Recuperado de: <https://books.google.com.mx/books?id=QcU0yde9PtKc&lpg=PP1&hl=es&pg=PP1#v=onepage&q&f=false>
- Carrera, C. et al. (2013) Pathophysiology of diabetes mellitus type 2: beyond the duo "insulin resistance-secretion deficit" [En línea] *Nutrición Hospitalaria*. 28 (Supl. 2) 78-87 Acceso: 29 de enero de 2017. Recuperado de: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/6717.pdf>
- Carrillo, R. Sánchez, M. Elizondo, S. (2006) Síndrome metabólico. [En línea] *Revista de la Facultad de Medicina*. 49(3), 98-104. Acceso: 12 de agosto de 2016. Recuperado de: <http://www.revistas.unam.mx/index.php/rfm/article/view/12933/12251>

Chagin, V. et al. (2010) Organization of DNA Replication. [En línea] *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. Acceso: 24 de junio de 2016. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2845211/>

Chial, H., et al. (2008) mtDNA and Mitochondrial Diseases. [En línea] *Nature Education*. 1(1), 217. Acceso: 31 de julio de 2016. Recuperado de: <http://www.nature.com/scitable/topicpage/mtdna-and-mitochondrial-diseases-903>

Chew, G. Khee, S. Watts, G. (2006) Revisiting the metabolic syndrome. [En línea] *Medical Journal of Australia*. 185(8), 445-449 Acceso: 8 de agosto de 2016. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17137436>

Cisneros, N., Ceballos, R. (2009) Metabolic Syndrome in Mexico: Situational Assessment and Some Technological Challenges. [En línea] *Centro Nacional de Excelencia Tecnológica en Salud*. Expediente. S.6.3/48. Acceso: 9 de agosto de 2016. Recuperado de: http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/detes/evaluaciones/Metabolic_Syndrome_Mex.pdf

Civeira, F. Pérez, M. Baila, L. (2013) Síndrome metabólico: concepto, epidemiología, etiopatogenia y complicaciones. [En línea] *Medicine*. 11(40), 2402-09. Acceso: 9 de agosto de 2016. Recuperado de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304541213706371>

Clay, L. Deng, J. Bai, Y. (2009) Number matters: control of mammalian mitochondrial DNA copy number. [En línea] *Journal of Genetics and Genomics*. 36(3), 125-131. Acceso: 21 de julio de 2016. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4706993/>

Cooper G. (2000) Mitochondria. [En línea] 2ª ed. *The Cell: A Molecular Approach*. Sunderland (MA): Sinauer Asociados. Acceso: 20 de junio de 2016. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9896/>

Craig, J. (2008) Complex Diseases: Research and Applications. [En línea] *Nature Education*. 1(1), 184. Acceso: 23 de junio de 2016. Recuperado de: <http://www.nature.com/scitable/topicpage/complex-diseases-research-and-applications-748>

Crispim, D. et al. (2006) Role of the mitochondrial m. 16189T>C variant in type 2 diabetes mellitus in southern Brazil. [En línea] *Diabetes Research and Clinical Practice*. Acceso: 9 de enero de 2017. Recuperado de: [http://www.diabetesresearchclinicalpractice.com/article/S0168-8227\(06\)00197-5/pdf](http://www.diabetesresearchclinicalpractice.com/article/S0168-8227(06)00197-5/pdf)

Davidson, M. (2015) The Cell Nucleus. [En línea] *Molecular Expressions*. Acceso: 23 de junio de 2016. Recuperado de: <http://micro.magnet.fsu.edu/cells/nucleus/nucleus.html>

Deveraj, S. et al. (2004) Metabolic syndrome: an appraisal of the pro-inflammatory and procoagulant status. [En línea] *Endocrinology and metabolism clinics of North America*. (33), 431-453. Acceso: 13 de agosto de 2016. Recuperado de: [http://www.endo.theclinics.com/article/S0889-8529\(04\)00025-8/abstract](http://www.endo.theclinics.com/article/S0889-8529(04)00025-8/abstract)

Doosti, A. (2011) Genetic Polymorphisms of Mitochondrial Genome D-loop Region in Bakhtiarian Population by PCR-RFLP. [En línea] *International Journal of Biology*. 3(4), 41-6. Acceso: 18 de julio de 2016. Recuperado de: <http://www.ccsenet.org/journal/index.php/ijb/article/view/10951>

Ebner S, Lang R, Mueller E, Eder W, Oeller M, et al. (2011) Mitochondrial Haplogroups, Control Region Polymorphisms and Malignant Melanoma: A Study in Middle European Caucasians. [En línea] *PLoS ONE* 6(12): e27192. Acceso: 25 de julio de 2016. Recuperado de: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0027192>

Eckel, R. et al. (2005) The metabolic syndrome. [En línea] *The Lancet*. 365, 1415-28. Acceso: 6 de octubre de 2016. Recuperado de: [http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(05\)66378-7/fulltext](http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(05)66378-7/fulltext)

FID. (2006) The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. [En línea] *International Diabetes Federation*. Acceso: 10 de enero de 2017. Recuperado de: http://www.idf.org/webdata/docs/IDF_Meta_def_final.pdf

FID. (2015) Risk Factors. [En línea] International Diabetes Federation. Acceso: 10 de enero de 2017. Recuperado de: <http://www.idf.org/about-diabetes/risk-factors>

García, E. et al. (2008) La obesidad y el síndrome metabólico como problema de salud pública. Una reflexión. [En línea] *Salud Pública de México*. 50(6), 530-547. Acceso: 8 de agosto de 2016. Recuperado de: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342008000600015

Genetics Home Reference. (2016) What are single nucleotide polymorphisms (SNPs)? [En línea] NIH: U.S.A. Acceso: 15 de agosto de 2016. Recuperado de: <https://ghr.nlm.nih.gov/primer/genomicresearch/snp>

Griffiths, A., et al. (2000) An introduction to Genetic Analysis. [En línea] NCBI: U.S.A. Acceso: 14 de agosto de 2016. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21786/>

Grundty, S. et al. (2004) Definition of Metabolic Syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association Conference on Scientific Issues Related to Definition. [En línea] *Circulation*. 109, 433-38. Acceso: 6 de octubre de 2016. Recuperado de: <http://atvb.ahajournals.org/content/24/2/e13.long>

Handelsman, Y. (2009) Metabolic Syndrome Pathophysiology and Clinical Presentation. [En línea] *Toxicologic Pathology*. 37(1). 18-20 Acceso: 13 de agosto de 2016. Recuperado de: <http://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/0192623308329288>

Hatchell, E. et al. (2006) SLIRP, a Small SRA Binding Protein, Is a Nuclear Receptor Corepressor. [En línea] *Molecular Cell*. Elsevier. (22) 657-668 Acceso: 9 de febrero de 2017. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16762838>

Herráez, A. (2012) Biología molecular e ingeniería genética. [En línea] 2ª ed. Elsevier Health Sciences: España. p. 38-42. Acceso: Recuperado de: <https://books.google.com.mx/books?id=EhDsL63ywX0C&lpg=PP1&pg=PR10#v=onepage&q&f=false>

Islas, S. Revilla, M. Caballero, R. (s/a) SÍNDROME METABOLICO: Un punto de vista en México y en Latinoamérica. [En línea] *Academia Mexicana de Cirugía*. Acceso: 15 de agosto de 2016. Recuperado de: <http://www.amc.org.mx/web2/images/media/enfermedad/sindromemetabolico.pdf>

Kaku, K. (2010) Pathophysiology of Type 2 Diabetes and Its Treatment Policy. [En línea] *Journal of the Japan Medical Association*. 53 (1). 41-46. Acceso: 3 de enero de 2017. Recuperado de: https://www.med.or.jp/english/journal/pdf/2010_01/041_046.pdf

Karalis, D. (2014) Achieving optimal lipid goals in the metabolic syndrome: A global health problem. [En línea] *Atherosclerosis*. 237. 191-193. Acceso: 11 de junio de 2016. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25240624>

Kühlbrandt, W. (2015) Structure and function of mitochondrial membrane protein complexes. [En línea] *BMC Biology*. 13 (89). Acceso: 30 de junio de 2016. Recuperado de: <https://link.springer.com/article/10.1186/s12915-015-0201-x>

Levin, P. (2016) Practical combination therapy based on pathophysiology of type 2 diabetes. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: targets and Therapy*. (9). 355-369. Acceso: 29 de enero de 2017. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27826204Li>

- Liao, W. Pang, Y. et.al. (2008) Novel Mutations of Mitochondrial DNA Associated with Type 2 Diabetes in Chinese Han Population. [En línea] *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*. 215, 377-84. Acceso: 26 de julio de 2016 Recuperado de: https://www.jstage.jst.go.jp/article/tjem/215/4/215_4_377/_article
- Li, Guo-Min. (2008) Mechanisms and functions of DNA mismatch repair. *Cell Research*. 18, 85-98. Acceso: 30 de septiembre de 2016. Recuperado de: <http://www.nature.com/cr/journal/v18/n1/pdf/cr2007115a.pdf>
- Li, H. et al. (2012) Physiology and Pathophysiology of Mitochondrial DNA. [En línea] *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 942, 39–51. Acceso: 25 de julio de 2016. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4706180/>
- Lodish H, Berk A, Zipursky SL, et al. (2000) Mutations: Types and Causes. *Molecular Cell Biology*. 4^a ed. New York: W. H. Freeman. Acceso: 23 de junio de 2016. Recuperado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21578/>.
- Lodish, H. (2005) *Biología celular y molecular*. [En línea] 5^a ed. Médica Panamericana: Argentina. p.104. Acceso: 25 de junio de 2016 Recuperado de: <https://books.google.com.mx/books?id=YdyMSxY2LjMC&lpg=PP1&pg=PP1#v=onepage&q&f=false>
- López, P. (2014) Asociación de la mutación puntual T16189C en la región hipervariable I (HV-I) de DNA mitocondrial con diabetes mellitus II mediante su amplificación, secuenciación y análisis bioinformático. (*Tesis de pregrado*) [En línea] UNAM. México. Acceso: 5 de febrero de 2017. Recuperado de: http://oreon.dgbiblio.unam.mx/F/FQLJ1R8EXY8A7FG6P7QPSIQ73AUEQ1RBD8QA1LHCHC69HU8NRS-55519?func=service&doc_library=TES01&doc_number=000722285&line_number=0001&func_code=WEB-FULL&service_type=MEDIA
- Mahdieh, N. Rabbani, B. (2013) An Overview of Mutation Detection Methods in Genetic Disorders. [En línea] *Iranian Journal of Pediatrics*. 23(4), 375-88. Acceso: 30 de septiembre de 2016. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24427490>
- Mancuso, M. Filosto, M. et.al. (2007) Mitochondrial DNA.related Disorders. [En línea] *Bioscience Reports*. 27, 31-37. Acceso: 25 de julio de 2016. Recuperado de: <http://www.bioscirep.org/content/27/1-3/31.full-text.pdf>
- Marc, J. (2006) Genetic susceptibility to metabolic syndrome. [En línea] *New Trends In Classification, Monitoring And Management Of Metabolic Syndrome*. Dubrovnik, Croacia. 4-10. Acceso: 10 de agosto de 2016. Recuperado de: [http://www.eflm.eu/files/efcc/files/FESCC,%20EFLM%20Postgraduate%20Course%206%20\(2006\)%20-%20Handbook.pdf](http://www.eflm.eu/files/efcc/files/FESCC,%20EFLM%20Postgraduate%20Course%206%20(2006)%20-%20Handbook.pdf)
- Márquez, F. Macedo, G. et al. (2011) The prevalence of metabolic syndrome in Latin America: a systematic review. [En línea] *Public Health Nutrition*. 14(10), 1702-13. Acceso: 11 de agosto de 2016. Recuperado de: <https://www.cambridge.org/core/journals/public-health-nutrition/article/prevalence-of-metabolic-syndrome-in-latin-america-a-systematic-review/EE9A5A3E6AA2640D39968FCCFA3113BE>
- Marzuki, S. et al. (2012) Tropical Diseases: from molecule to bedside. [En línea] *Springer Science & Business Media*. USA. p. 30-31 Acceso: 9 de enero de 2017. Recuperado de: <https://books.google.com.mx/books?id=vnXgBwAAQBAJ&lpg=PR21&dq=tropical%20diseases%3A%20from&pg=PR21#v=onepage&q=tropical%20diseases:%20from&f=false>
- Miller, M. Cronin, M. (2000) Genetic Polymorphisms and Susceptibility to Disease. [En línea] *Taylor & Francis*: Inglaterra. p. 220-21. Acceso: 25 de julio de 2016. Recuperado de: <https://books.google.com.mx/books?id=feCaY9I3hCwC&lpg=PP1&pg=PP1#v=onepage&q&f=false>

- Mueller, E. et al. (2011) The Mitochondrial T16189C Polymorphism Is Associated with Coronary Artery Disease in Middle European Populations. [En línea] *PLoS ONE*. 6(1), e16455. Acceso: 26 de julio de 2016. Recuperado de: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0016455>
- Nathan, D. et al. (2007) Impaired Fasting Glucose and Impaired Glucose Tolerance. [En línea] *Diabetes Care*. 30(3). 753-59. Acceso: 29 de enero de 2017. Recuperado de: <http://care.diabetesjournals.org/content/30/3/753.full-text.pdf>
- OMS. (1999) Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes mellitus and its Complications. Part 1: Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. [En línea] Ginebra, Suiza. Acceso: 26 de julio de 2016. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9686693>
- OMS. (2003) Screening for Type 2 Diabetes. [En línea] Ginebra, Suiza. Acceso: 25 de enero de 2017. Recuperado de: http://www.who.int/diabetes/publications/en/screening_mnc03.pdf
- OMS. (2005) Diagnóstico y Monitorización de la Diabetes Mellitus desde el Laboratorio. [En línea] Acceso: 12 de enero de 2017. Recuperado de: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42642/1/9241590483_spa.pdf
- OMS^a. (2016) Informe mundial sobre la diabetes. Resumen de orientación. [En línea] Acceso: 15 de febrero de 2017. Recuperado de: <http://www.who.int/diabetes/global-report/es/>
- OMS^b. (2016) Prevalence of overweight*, ages 18+, 1975-2014 (age standardized estimate) [En línea] Acceso el: 31 de enero de 2017. Recuperado de: http://gamapserver.who.int/gho/interactive_charts/ncd/risk_factors/overweight/atlas.html
- Orho, M. (2006) El síndrome metabólico: estilo de vida, genética y origen étnico. [En línea] *Diabetes Voice*. 51. Acceso: 25 de junio de 2016. Recuperado de: https://www.idf.org/sites/default/files/attachments/issue_43_es.pdf
- Ozougwu, J. et al. (2013) The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. [En línea] *Journal of Physiology and Pathophysiology*. 4 (4) 46-57. Acceso: 5 de abril de 2017. Recuperado de: <http://www.academicjournals.org/journal/JPAP/article-full-text-pdf/974E7B515872>
- Pakendorf, B. Stoneking, M. (2005) Mitochondrial DNA and Human Evolution. [En línea] *Annual Review of Genomics and Human Genetics*. 6, 165-83. Acceso: 19 de julio de 2016. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16124858>
- Palmieri, V. De Rasmio, D. et al. (2011) T16189C mitochondrial DNA variant is associated with metabolic syndrome in Caucasian subjects. [En línea] *Nutrition*. 27, 773-777. Acceso: 26 de julio de 2016. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21146361>
- Park, K. Chan, J. et al. (2008) A mitochondrial DNA variant at position 16189 is associated with type 2 diabetes mellitus in Asians. [En línea] *Diabetología*. 51, 602-608. Acceso: 2 de febrero de 2017. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18251004>
- Poulton, J. et al. (2002) Type 2 diabetes is associated with a common mitochondrial variant: evidence from a population-based case-control study. [En línea] *Human Molecular Genetics*. 11 (13) 1581-83. Acceso: 9 de febrero de 2017. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12045211>
- Qiao, Q. Gao, W. et al. (2007) Metabolic syndrome and cardiovascular disease. [En línea] *The Association for Clinical Biochemistry*. 44, 232-263. Acceso: 10 de agosto de 2016. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17456293>

- Rojas, R. Aguilar, C. Jiménez, A. et al. (2010) Metabolic syndrome in Mexican adults. Results from the National Health and Nutrition Survey 2006. [En línea] *Salud Pública de México*. 52(1), 511-518. Acceso: 10 de agosto de 2016. Recuperado de: http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342010000700004&lng=en&nrm=iso&tling=en
- Salas R. et al. (2014) Metabolic Syndrome Prevalence among Northern Mexican Adult Population. *PLoS ONE* 9(8): e105581. Acceso: 9 de agosto de 2016. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4139369/>
- Sato, M. Sato, K. (2013) Maternal inheritance of mitochondrial DNA by diverse mechanisms to eliminate paternal mitochondrial DNA. [En línea] *Biochimica et Biophysica Acta*. 1833, 1979-84. Acceso: 19 de julio de 2016. Recuperado de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167488913001092?via%3Dihub>
- Schargrotsky, H. Hernández, R. et al. (2008) CARMELA: Assessment of Cardiovascular Risk in Seven Latin American Cities. [En línea] *The American Journal of Medicine*. (121), 58-65. Acceso: 10 de agosto de 2016. Recuperado de: [http://www.amjmed.com/article/S0002-9343\(07\)00940-0/abstract](http://www.amjmed.com/article/S0002-9343(07)00940-0/abstract)
- Sinden, R. (2012) DNA Structure and Function. [En línea] *Elsevier: USA*. p. 1-14 Acceso: 15 de agosto de 2016. Disponible en: https://books.google.com.mx/books?id=Q6Yd-qYvx9UC&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Temneanu, O. et al. (2016) Type 2 diabetes mellitus in children and adolescents: a relatively new clinical problem within pediatric practice. [En línea] *Journal of Medicine and Life*. 9 (3). 235-239 Acceso: 26 de enero de 2017. Recuperado de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5154306/>
- Tipiriseti N., Govatati S, Pullari P, et al. (2014) Mitochondrial Control Region Alterations and Breast Cancer Risk: A Study in South Indian Population. [En línea] *PLoS ONE* 9(1): e85363. Acceso: 3 de enero de 2017. Recuperado de: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0085363>
- Tuppen, H. Blakely, E. et al. (2010) Mitochondrial DNA mutations and human disease. [En línea] *Biochimica et Biophysica Acta*. 1797, 113-128. Acceso: 25 de julio de 2016. Recuperado de: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0005272809002618?via%3Dihub>
- Understanding Evolution. (s/a) Chromosomes, Mutation, and the Birth of Modern Genetics: Thomas Hunt Morgan. [En línea] UCMP. Acceso: 12 de agosto de 2016. Recuperado de: http://evolution.berkeley.edu/evolibrary/article/history_18
- Wacher-Rodarte, N. (2009) Epidemiología del síndrome metabólico. [En línea] *Gaceta Médica de México*. 145(5), 384-391. Acceso: 8 de agosto de 2016. Recuperado de: http://www.anmm.org.mx/GMM/2009/n5/24_vol_145_n5.pdf
- Weng, S. Liou, C. et al. (2005) Association of Mitochondrial Deoxyribonucleic Acid 16189 Variant (T→C Transition) with Metabolic Syndrome in Chinese Adults. [En línea] *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 90(9), 5037-40. Acceso: 10 de febrero de 2017. Recuperado de: <https://academic.oup.com/jcem/article/90/9/5037/2838653/Association-of-Mitochondrial-Deoxyribonucleic-Acid>
- WHO. (2016) Diabetes: Fact sheet. [En línea] *World Health Organization*. Acceso el: 24 de mayo de 2017. Recuperado de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/>
- Ye, W. Chen, S. Lu, J. (2013) A novel heteroplasmic mitochondrial DNA mutation, A8890G, in a patient with juvenile-onset metabolic syndrome: A case report. [En línea] *Molecular Medicine Reports*. 8, 1060-66. Acceso: 26 de julio de 2016. Recuperado de: <https://www.spandidos-publications.com/mmr/8/4/1060>