



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

TESIS

**ASOCIACIÓN DE AMILASA SÉRICA CON OBESIDAD Y SU RELACIÓN CON
MARCADORES BIOQUÍMICOS E INFLAMATORIOS EN NIÑOS DE LA CIUDAD
DE MÉXICO**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICO BIOLÓGICA

PRESENTA:

CORONA SALAZAR PERLA GABRIELA

DIRECTOR DE TESIS: DR. MIGUEL CRUZ LÓPEZ
ASESOR DE TESIS: Q.F.B. ENRIQUE ESCALERA ZUÑIGA

Ciudad de México, febrero 2019



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.

El presente trabajo de tesis fue realizado bajo la dirección del Dr. Miguel Cruz López en la Unidad de Investigación Médica en Bioquímica de Centro Médico Nacional Siglo XXI, en Ciudad de México, México.

DIRECTOR DE TESIS: DR. MIGUEL CRUZ LÓPEZ

ASESOR DE TESIS: Q.F.B. ENRIQUE ESCALERA ZUÑIGA

JURADO

PRESIDENTE	Q.F.B. CARINA GUITIERREZ IGLESIAS
VOCAL	DR. MIGUEL CRUZ LÓPEZ
SECRETARIO	Q.F.B. ENRIQUE ESCALERA ZUÑIGA
SUPLENTE	DRA. JUANA ROSADO PEREZ
SUPLENTE	M. en C. ROSA ELBA GALVÀN DUARTE

Ciudad de México, México, febrero 2019

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a **Dios** por las bendiciones y oportunidades que me ha permitido vivir, por guiarme y llenarme de fe.

A la **Universidad Nacional Autónoma de México** que me abrió las puertas de sus instalaciones para lograr mi sueño de desarrollarme académicamente.

A la **Unidad de Investigación Médica en Bioquímica** que me permitió trabajar en mi tesis de licenciatura en asesoría de excelentes doctores y compañeros.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a **mis padres**, María Eugenia Salazar y Martín Corona Ortiz que son los pilares de mi vida, las personas que amo y de los cuales he aprendido a luchar por mis sueños. Son las personas que me han impulsado y guiado en cada momento. Gracias.

A mi **hermano Martín Alexis Corona** que me ha apoyado en cada paso que doy. Tu sola presencia me motiva a seguir.

Con especial cariño a **Mary Carmen Corona**, quien es un ángel para mí y para mi familia, su amor incondicional y apoyo ha estado en cualquier situación.

A **Eduardo Gaytan**, por ser parte fundamental de mi vida y quien me ha brindado fuerza y amor para cumplir mis metas.

A mi **familia Corona** y **familia Salazar**, de la cual he recibido apoyo incondicional y mucho cariño.

Al **Dr. Miguel Cruz**, a quien admiro y respeto mucho, confió en mí y me abrió las puertas de la UIMB y de su corazón.

Al **M. en C. Miguel Vásquez** quien me guió y apoyó en todo mi trabajo de tesis, con mucho cariño se convirtió en un gran amigo.

A mis **amigos del Colegio de Ciencias y Humanidades y de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza**, con los que he compartido experiencias inolvidables y son parte muy especial en mi corazón.

Finalmente a mis **sinodales de tesis**, que forman parte importante de esta experiencia y sus observaciones y aportaciones fortalecieron mi compromiso por esta tesis.

INDICE

I. RESUMEN	6
II. INTRODUCCIÓN	7
III. MARCO TEÓRICO	7
3.1 Definición de la obesidad	7
3.2 Epidemiología de la obesidad	8
3.3 Factores de riesgo implicados en el desarrollo de la obesidad.....	9
3.3.1 Modificables	9
3.3.2 No modificables	9
3.4 Asociación de amilasa sérica con obesidad	10
3.5 Complicaciones metabólicas en la obesidad	11
3.5.1 Resistencia a la insulina y DT2.....	12
3.5.2 Dislipidemia	12
IV. PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA	14
V. HIPÓTESIS.....	14
VI. OBJETIVOS.....	14
VII. METODOLOGÍA	15
VIII. RESULTADOS.....	25
IX. DISCUSIÓN.....	35
X. CONCLUSIÓN	38
XI. REFERENCIAS	39

I. RESUMEN

La obesidad es una enfermedad crónica caracterizada por la acumulación anormal o excesiva de grasa corporal. En México, la obesidad infantil, se posiciona en los primeros lugares de prevalencia (33.2%) de acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2016. Esta enfermedad se ha relacionado con diferentes alteraciones metabólicas en especial, con la actividad de algunas enzimas como la amilasa sérica, responsable de la hidrólisis de almidón. Este trabajo se llevó a cabo en 611 niños de 6 a 12 años de edad (391 con peso normal y 220 con obesidad) de la Ciudad de México. Se determinaron parámetros antropométricos, bioquímicos (glucosa, insulina, HOMA-IR, CT, HDL, LDL, TG, adiponectina, leptina), marcadores de inflamación (IL-6, IL-10) y la actividad enzimática de AMYt, AMY1, AMY2. Se encontró asociación entre la baja actividad de AMYt (OR=0.651, IC95%=0.458-0.927, p=0.017), AMY1 (OR=0.631, IC95%=0.443-0.898, p=0.011) y AMY2 (OR=0.556, IC95%=0.390-0.794, p=0.001) y el diagnóstico de obesidad. Además, se encontró que AMYt y AMY1 ejercen un efecto positivo sobre la concentración de HDL. Con estas evidencias se concluye que la actividad de amilasa sérica se asocia significativamente al diagnóstico de obesidad infantil.

II. INTRODUCCIÓN

La obesidad es una enfermedad que involucra un desequilibrio entre la ingesta y el gasto energético, se caracteriza por el exceso de tejido adiposo en el organismo y un estado de inflamación crónica de bajo grado. La fisiopatología de esta enfermedad altera ciertos procesos metabólicos los cuales se relacionan con la resistencia a la insulina, diabetes tipo 2 (DT2) y dislipidemia, estas anomalías metabólicas generalmente traen como consecuencia enfermedades cardiovasculares, las cuales tienen los primeros lugares de mortalidad a nivel mundial. Por su etiología multifactorial, la obesidad ha sido abordada desde un punto de vista genético y ambiental, en los últimos años se ha estudiado la actividad de la enzima amilasa, la cual tiene como función la digestión del almidón en cavidad oral e intestino y se ha reportado que la actividad de la enzima tiene cierta relación con el desarrollo de obesidad, DT2 y síndrome metabólico. En México se ha observado un acelerado crecimiento en la prevalencia de obesidad, actualmente el país se encuentra en los primeros lugares de obesidad adulta e infantil a nivel mundial. Existe un gran interés en el área de investigación por estudiar posibles marcadores que tengan relación con obesidad, por esta razón se estudió la asociación de amilasa sérica con el diagnóstico de obesidad en niños de la Ciudad de México.

III. MARCO TEÓRICO

3.1 Definición de la obesidad

La obesidad se define como la acumulación excesiva de grasa corporal que resulta perjudicial para la salud^{1,2}. La enfermedad involucra un desequilibrio entre la ingesta y el gasto energético, además, es considerada un importante problema de salud

pública debido a las consecuencias en salud y economía. El índice de masa corporal (IMC) es un indicador que relaciona el peso y la talla y es utilizado para la identificación de sobrepeso y obesidad. Este parámetro se calcula dividiendo el peso (kg) entre el cuadrado de la talla (m^2). En el caso de adultos, la OMS diagnostica obesidad cuando una persona presenta un IMC igual o superior a 30. En el caso de la población infantil, el IMC es específico con respecto a la edad y el sexo, y se conoce como percentil de IMC³. De acuerdo al Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC), los niños de 5 a 19 años, se consideran con peso normal si se encuentran entre los percentiles ≥ 5 y < 85 , sobrepeso ≥ 85 y < 95 percentil y obesidad ≥ 95 percentil³.

3.2 Epidemiología de la obesidad

En México, la prevalencia de obesidad en adultos (32.4%) es la segunda más alta según la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) (2017), la cual contempla 35 países alrededor del mundo, con representación de cada continente⁴. En cuanto a obesidad infantil, México también se posiciona en los primeros lugares de prevalencia (33.2%) según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT-MC) 2016⁵. Las tendencias de obesidad en los últimos años han crecido a ritmos alarmantes. En 2016 la OMS reportó más de 340 millones de niños y adolescentes (5 a 19 años) con sobrepeso u obesidad en el mundo.² ENSANUT-MC (2016) declaró que en México la prevalencia de obesidad era 18.3% en niños y 12.2% en niñas, datos que presentan el mismo comportamiento que en el año 2012⁵.

3.3 Factores de riesgo implicados en el desarrollo de la obesidad

3.3.1 Modificables

La obesidad es un padecimiento de causa multifactorial que involucra al estilo de vida poco saludable como uno de los principales factores de riesgo modificables. ENSANUT-MC (2016) reporta que la población infantil de la Ciudad de México, presentó el consumo más elevado de verduras a nivel nacional, sin embargo, fue el mayor consumidor de productos lácteos endulzados, los cuales han sido relacionados con el desarrollo de obesidad infantil. Además, la falta de tiempo para preparar alimentos saludables también se ha reportado como un factor de riesgo, ya que propicia que la población prefiera la “comida rápida” con alta cantidad de carbohidratos y grasas que favorecen la ganancia de peso corporal⁵. La inactividad física también representa un factor importante para desarrollar obesidad, ya que el estilo de vida sedentario y la preferencia por realizar actividades como ver televisión o usar dispositivos electrónicos implican menor gasto de energía y por lo tanto una mayor acumulación de grasa corporal. Por otro lado, el insomnio y tener un tiempo de sueño corto, también se ha asociado con el desarrollo de obesidad⁵.

3.3.2 No modificables

La obesidad es una enfermedad metabólica que también se ha descrito como una interacción genética y el medio ambiente. En este sentido, algunos genes participan en la regulación de la expresión de otros genes, que en conjunto pudieran estar involucrados en alguna vía metabólica o eje de regulación de ingesta energética^{6,7}. Estudios en el genoma conocidos como variantes genéticas de un solo nucleótido (SNPs, por sus siglas en inglés) han revelado asociación con la obesidad, y la

expresión de ciertos genes correlaciona con diferentes características fenotípicas asociadas a las preferencias dietéticas entre poblaciones o la susceptibilidad a padecer obesidad^{8,9}. Un enfoque del análisis genético, es la variación en el número de copias (CNVs por sus siglas en inglés) que incluye: deleciones, inserciones y duplicaciones de más de 1 kb⁹. En obesidad se han descrito CNVs de los genes del receptor de leptina (*LEPR*), del activador de receptor de insulina (*SH2B1*), del receptor de neuropéptido Y (*NPY4R*) y uno de mayor significancia, el gen de α -amilasa salival (*AMY1*)^{10,11}. En años recientes el número de copias del gen de amilasa salival (*AMY1*) ha sido asociados con el Índice de Masa Corporal (IMC) en niños mexicanos y adultos de Europa y Asia^{10,12}. De hecho, existen publicaciones recientes que proponen que las copias del gen *AMY1* pudieran ser una herramienta para predecir el desarrollo de obesidad¹³.

3.4 Asociación de amilasa sérica con obesidad

La amilasa es una enzima monomérica de 511 aminoácidos, se conocen dos isoformas, amilasa salival (*AMY1*) y pancreática (*AMY2*); estas enzimas son secretadas especialmente por las glándulas salivales y células acinares exocrinas pancreáticas¹⁴. Cabe mencionar que la expresión de amilasa pancreática se ha encontrado en animales vertebrados, sin embargo la expresión de amilasa salival se limita solo a algunas especies de primates, herbívoros y omnívoros, siendo los humanos la especie con concentraciones más elevadas¹⁵. La secreción de estas enzimas al torrente sanguíneo se presentan desde diferentes tejidos del organismo humano (páncreas, hígado, intestino, ovarios, testículos y músculo esquelético)¹⁶.

La función de la amilasa consiste en hidrolizar almidón en cavidad oral e intestino delgado; este polímero de glucosa es hidrolizado en los enlaces 1-4 glucosídicos, formando maltosa, maltotriosa, alfa dextrina y glucosa principalmente¹⁴. Puesto que la amilasa sérica total se compone de amilasa salival (AMY1) y amilasa pancreática (AMY2), la disminución de cualquiera de los dos tipos se refleja en una reducción en los niveles de AMY total (AMYt)¹⁵.

En adultos se han reportado niveles bajos de amilasa sérica total durante el desarrollo de obesidad¹⁷, sin embargo, no se conoce la razón precisa de esta asociación. Un posible mecanismo es el que describe al exceso de ácidos grasos libres en circulación, producto de la hipertrofia e inflamación de bajo grado del tejido adiposo en obesidad, como el responsable de una deficiente producción de insulina (lipotoxicidad)¹⁸. En este sentido y debido a que también se ha descrito que la secreción de AMY2 por las células acinares del páncreas es dependiente de la producción de insulina en el mismo tejido¹⁹, la producción de AMY2 también podría verse disminuida en obesidad^{20,21}.

3.5 Complicaciones metabólicas en la obesidad

Durante el padecimiento de la obesidad, se ha descrito que se presenta una desregulación en la producción de adiponectina, leptina, factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), interleucina 6 (IL-6) e interleucina 10 (IL-10), desencadenando complicaciones como resistencia a la insulina, DT2, dislipidemia, entre otras²².

3.5.1 Resistencia a la insulina y DT2

La resistencia a la insulina es un trastorno metabólico caracterizado por una respuesta atenuada a la acción de la insulina²³. En la obesidad el tejido adiposo sufre cambios estructurales (hiperplasia e hipertrofia) lo que provoca un aumento en la secreción TNF α e IL-6^{22,24} que evitan la fosforilación de la tirosina en los receptores de insulina (acción necesaria para la correcta actividad de los transportadores de glucosa). Este efecto trae consigo la reducción de glucosa intracelular, posterior a esto, hay un incremento en la secreción de insulina con el fin de compensar la elevación de glucosa en circulación (hiperinsulinemia)²⁵. Sin embargo, se ha descrito que la demanda cada vez mayor de insulina y al mismo tiempo la resistencia a su actividad puede llevar a alcanzar altos niveles de glucosa en sangre y desarrollo de DT2²⁵. El índice HOMA (Homeostasis Model Assessment) es un método utilizado para el diagnóstico de resistencia a la insulina, se utilizan las concentraciones de glucosa e insulina en ayuno²⁶.

3.5.2 Dislipidemia

La dislipidemia se define como un trastorno metabólico caracterizado por la elevación de triglicéridos, lipoproteínas de baja densidad (LDL) y reducción de lipoproteínas de alta densidad (HDL). Este padecimiento se ha descrito como una complicación de riesgo en obesidad; ya que la hipertrofia e inflamación de bajo grado que se presenta eleva la filtración de ácidos grasos libres a la circulación, estos se absorben y acumulan por tejido muscular y hepático, provocando lipotoxicidad en los mismos y reflejándose con deficiencia en su funcionalidad²⁷. Otra de las complicaciones que pueden presentarse entre obesidad y dislipidemia es el riesgo de desarrollar aterosclerosis. El tejido adiposo hipertrofiado al generar

agentes proinflamatorios activa el endotelio vascular y eleva la producción de proteínas quimioatrayentes de monocitos (MCP-1) y la expresión de moléculas de adhesión celular (CAM) que facilitan la unión y migración de los monocitos que, a su vez, son infiltrados a la parte íntima del endotelio en donde se diferencian a macrófagos. También se ha descrito que durante el padecimiento de dislipidemia hay una sobreproducción de partículas pequeñas y densas de LDL, las cuales aprovechan la disfuncionalidad de las células del endotelio vascular para infiltrarse; los macrófagos fagocitan estas partículas acumulando colesterol intracelular y convirtiéndose en células espumosas, las cuales son parte de la placa aterosclerótica. Cabe mencionar que los macrófagos son capaces de promover el flujo de colesterol al exterior de la célula y así reducir la formación de células espumosas. El transportador de "cassete" de unión a ATP (ABCA) es parte de esta acción, además estimula la formación de HDL²⁸, sin embargo, debido a que el tejido adiposo hipertrofiado reduce los niveles de adiponectina y ésta es necesaria para la expresión de los transportadores ABCA, el macrófago se vuelve incapaz de eliminar los depósitos de colesterol, generando la placa aterosclerótica. Niveles bajos de adiponectina también se han asociado con reducción de óxido nítrico en paredes vasculares, lo cual promueve la inflamación vascular y agregado plaquetario^{27,29} que a su vez aumenta el riesgo de tejido esclerótico. La inestabilidad de la placa aterosclerótica es sumamente importante ya que existen estudios que involucran los niveles altos de colesterol con la fractura de la placa, siendo responsable de infarto agudo de miocardio o complicaciones cerebrovasculares²⁸.

Actualmente la obesidad se ha asociado a un gran número de complicaciones de salud, como DT2, aterosclerosis, hipertensión, entre otras. Sin embargo, en México

aún no se cuenta con estudios que proporcionen evidencia consistente para el desarrollo de estrategias de prevención temprana de dichas complicaciones.

IV. PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA

En adultos se ha demostrado la asociación de amilasa sérica con el desarrollo de obesidad, síndrome metabólico y diabetes tipo 2 ^{17,30}. Sin embargo, se desconoce la relación entre amilasa sérica y parámetros bioquímicos (glucosa, insulina, triglicéridos (TG), colesterol total (CT), lipoproteínas de alta densidad (HDL) y lipoproteínas de baja densidad (LDL), citocinas pro-inflamatorias (IL-6 y IL-10), adiponectina y leptina en población infantil. Por esta razón el presente estudio busca evidenciar la asociación entre amilasa sérica y marcadores de dislipidemia e inflamación en niños obesos de la Ciudad de México para proponer su posible uso como predictor del desarrollo de obesidad y complicaciones metabólica.

V. HIPÓTESIS

La baja actividad de la amilasa sérica se encontrará asociada al riesgo de obesidad infantil y marcadores bioquímicos e inflamatorios en el estudio.

VI. OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la asociación de amilasa sérica con obesidad y con marcadores bioquímicos e inflamatorios en niños de la Ciudad de México.

Objetivos específicos

1. Estimar la asociación de la baja actividad enzimática de amilasa sérica con el diagnóstico de obesidad.
2. Estimar el efecto de la actividad de amilasa sérica sobre los marcadores bioquímicos e inflamatorios en el estudio.

VII. METODOLOGÍA

7.1 Diseño de estudio

Se realizó un estudio observacional y comparativo de casos y controles de obesidad pareados por edad y sexo

7.2 Universo de estudio

El estudio se llevó a cabo en 611 niños de 6 a 12 años de edad (391 con peso normal (controles) y 220 con obesidad (casos)), reclutados en diferentes Centros de Seguridad Social del IMSS en la Ciudad de México (Naucalpan, Morelos, Nezahualcóyotl e Independencia). Los niños participantes firmaron una carta de asentimiento y los padres (o el tutor legal) una carta de consentimiento informado. El trabajo de tesis forma parte del proyecto *Variación y funcionalidad del número de copias del gen de amilasa (AMY1, AMY2) y su asociación con microbiota intestinal en obesidad infantil* (R-2016-785-097), aprobado por la Comisión Nacional de Investigación Científica y la Comisión de Ética del IMSS, el cual se desarrolla con apego a la Declaración de Helsinki.

7.3 Criterios de inclusión

- Niños de 6 a 12 años de edad.
- De ambos sexos.
- Con un IMC \geq percentil 95 (casos)
- Con IMC entre los percentiles 5 y 85 (controles)
- Niños que aceptaron participar en el estudio firmando la carta de asentimiento, con consentimiento informado de los padres o tutores.

7.4 Criterios de exclusión

- Niños que al momento del estudio presentaron enfermedades crónicas o infecciosas agudas.
- Se encontraron bajo un programa de reducción de peso, con o sin tratamiento farmacológico.

7.5 Variables en el estudio

Independientes. Diagnóstico (peso normal, obesidad).

Dependientes. Niveles de glucosa, insulina, TG, CT, HDL, LDL, IL-6, IL-10, adiponectina, leptina y HOMA-IR, actividad de AMYt, AMY1 y AMY2.

Variables de confusión. Edad y sexo

7.6 Técnicas

7.6.1 Mediciones antropométricas

Los casos y controles de obesidad se clasificaron de acuerdo con los percentiles de IMC por edad y sexo siguiendo las recomendaciones del Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC)³, niños con peso normal entre ≥ 5 y < 85

percentil y con obesidad ≥ 95 percentil. El peso en kg se documentó con una báscula digital (Seca) y la altura con un estadiómetro portátil (Seca 225).

7.6.2 Determinaciones de marcadores bioquímicos e inflamatorios

Los participantes fueron programados para asistir en ayuno de 12 h para la extracción de una muestra de sangre para evaluar los marcadores bioquímicos e inflamatorios.

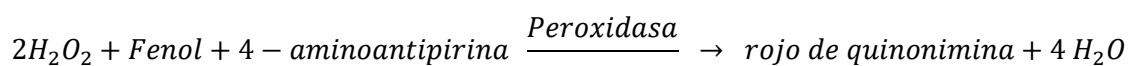
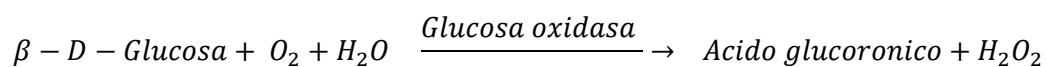
Perfil bioquímico

En el perfil bioquímico se midieron los niveles de glucosa, colesterol total, HDL, LDL y triglicéridos, se usó el sistema de química clínica ILab 350 (Instrumentation Laboratory IL).

Determinación de glucosa.

Método enzimático de glucosa oxidasa (GOD) / peroxidasa (POD) en suero o plasma humano.

El esquema de reacciones:



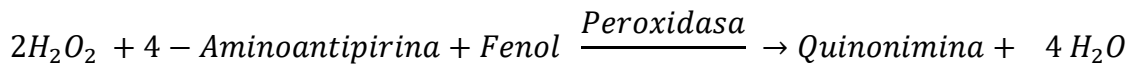
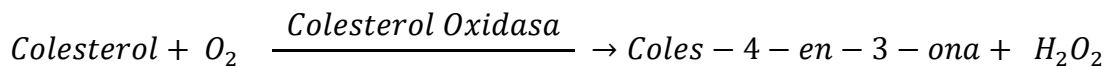
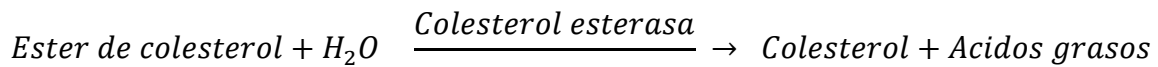
La producción de rojo de quinonimina es proporcional a la concentración de la glucosa en la muestra. El color es cuantificado por medición de absorbancia a 510nm

Intervalo de referencia: En suero 70-105 mg/dL (3.9-5.8 mmol/L)³¹

En niños y adolescentes la concentración aceptable es < 5.6 mmol/L (100mg/dL)³²

Determinación de colesterol.

El esquema de reacciones:



La producción de quinonimina es proporcional a la concentración de colesterol en la muestra. El color es cuantificado por absorbancia a 510 nm, con un blanco a 700 nm.

Intervalo de referencia: En suero 140-220mg/dL (3.6-5.7mmol/L)³³

En niños y adolescentes la concentración aceptable <170. Se consideran valores altos a partir de ≥ 200 mg/dL³²

Determinación de colesterol LDL

La determinación de colesterol LDL es para el diagnóstico cuantitativo in vitro de colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad (LDL) en suero y plasma humano.

El método es un ensayo que se usa directamente sobre el suero para obtener la concentración de LDL sin que sea necesario un tratamiento previo de la muestra.

Se usan dos reactivos (R1 y R2) El reactivo 1 (R1) contiene un buffer pH 6.8, colesterol esterasa (CHE), colesterol oxidasa (CO), N-Etil-N-(2-Hidroxo-3-Sulfopropil)-3,5-Dimetoxianlina y catalasa. El reactivo 2 (R2) contiene un buffer pH 7.0, 4-Aminoantipirina y menos de 0.1% de azida de Sodio.

La muestra se mezcla con R1, el reactivo protege a LDL de la reacción enzimática, la CHE y la CO reaccionan con las lipoproteínas no LDL: quilomicrones, VLDL y HDL; el peróxido de hidrogeno producido por la reacción enzimática de las no LDL es descompuesto por la catalasa. Cuando el R2 se adiciona, el reactivo protector es removido por la azida de sodio, en ese momento la CHE y CO reaccionan únicamente con el LDL. El peróxido de hidrogeno producido por la reacción enzimática con LDL oxida el cromógeno originando un complejo colorido azul, la concentración de este complejo es directamente proporcional a la concentración de LDL. La absorbancia se mide a 620 nm.

Intervalo de referencia: De acuerdo a la NCEP (U.S. National Cholesterol Education Program), las concentraciones de LDL iguales o menores a 130 mg/dL (3.37 mmol/L) son consideradas deseables. Concentraciones entre 130-159 mg/dL (4.12 mmol/L) se consideran sobre el límite de alto riesgo de enfermedad coronaria. Concentraciones iguales o superiores a 160 mg/dL (4.14 mmol/L) se consideran de alto riesgo de enfermedad coronaria³⁴.

En niños y adolescentes la concentración aceptable es <110 mg/dL. Se consideran valores altos, con riesgo a enfermedad coronaria a partir de ≥ 130 mg/dL³².

Determinación de colesterol HDL

La determinación de colesterol HDL es cuantitativa directa in vitro, en la cual se determina el colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad (HDL) en suero humano.

El método es un ensayo directo para la determinación de HDL sin que sea necesario un tratamiento previo de la muestra.

Se usan dos reactivos (R1 y R2); el reactivo 1 (R1) contiene solución amortiguadora pH 7.0, 4-aminoantipirina, peroxidasa, ascorbato oxidasa, anticuerpos anti- β -lipoproteína humana y conservantes. El reactivo 2 (R2) contiene solución amortiguadora pH 7.0, colesterol esterasa, colesterol oxidasa, N-etil-N(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3, 5-dimetoxi-4-fluoroanilina.

El anticuerpo anti- β -lipoproteína humano presente en el R1 se enlaza a las lipoproteínas no HDL: LDL, VLDL y quilomicrones, los complejos antígeno-anticuerpos formados bloquean la reacción enzimática con todas las lipoproteínas excepto con HDL cuando se añade el reactivo 2.

La CHE y CO reaccionan solo con el HDL presente en la muestra. El peróxido de hidrogeno generado en la reacción enzimática con HDL, produce un complejo de color azul por condensación oxidativa del cromógeno presente. La concentración del complejo colorido es proporcional a la concentración de HDL. La absorbancia se mide a 620 nm.

Intervalo de referencia: En suero

Hombres: 30-75 mg/dL (0.78-1.94 mmol/L)

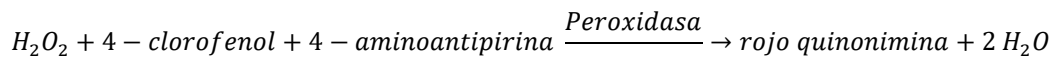
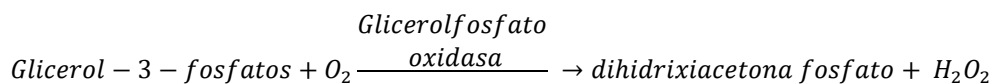
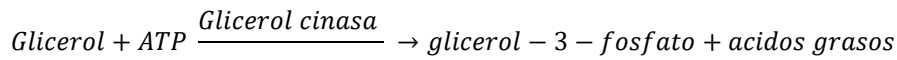
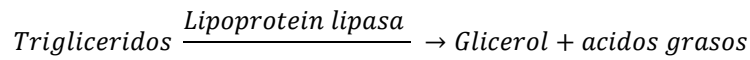
Mujeres: 33-92 mg/dL (0.85-2.38 mmol/L)

De acuerdo a la NCEP (U.S. National Cholesterol Education Program), las concentraciones de HDL iguales o mayores a 35mg/dL (0.91 mmol/L) son consideradas deseables. Concentraciones iguales o superiores a 60 mg/dL (1.55 mmol/L) se consideran que ofrecen una protección contra enfermedades coronarias. Las concentraciones por debajo de 35 mg/dL (0.91 mmol/L) se consideran que pueden significar enfermedad coronaria independientemente del factor de riesgo³⁵.

En niños y adolescentes la concentración aceptable es >45 mg/dL. Se consideran valores bajos, a partir de <40 mg/dL³².

Determinación de triglicéridos

El esquema de reacciones es el siguiente:



El incremento en la absorbancia generado por la producción del rojo de quinonimina es directamente proporcional a la concentración de triglicéridos en la muestra. La absorbancia se mide a 510 nm

Intervalo de referencia. Normal: < 200 mg/dL (<2.26 mmol/L)³⁶

En niños y adolescentes la concentración aceptable es <90 mg/dL. Valores altos se consideran a partir de ≥ 130 mg/dL³²

Determinación de insulina

Inmunoanálisis quimioluminiscente fase sólida, se forma un complejo tipo “sándwich” con los anticuerpos anti-insulina, al final de la reacción se agrega un sustrato quimioluminiscente que genera una señal³⁷. El índice HOMA-IR se obtuvo utilizando la fórmula publicada por Matthews et al²⁶.

$$\text{HOMA} - \text{IR} = \frac{(\text{Glucosa} (\frac{\text{mg}}{\text{dL}}))(\text{Insulina} (\frac{\mu\text{U}}{\text{mL}}))}{405}$$

Perfil inflamatorio

La determinación del perfil inflamatorio (IL-6, IL-10, adiponectina y leptina) se realizó por inmunoensayo.

Determinación de IL-6

Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) tipo Sandwich. Con el kit "Human Interleukin 6 (IL6) immunoassay". La muestra se incuba en un pocillo recubierto con anticuerpo monoclonal de rata específico para IL-6 humana, las moléculas de IL-6 humana presentes en la muestra se unen a este anticuerpo, posteriormente se adiciona un segundo anticuerpo monoclonal de rata con biotina y se une a las moléculas de IL-6 capturadas, se forma un complejo tipo "sandwich". Se hace un lavado de materiales no unidos a las muestras, después se adiciona estreptavidina-peroxidasa de rábano picante y esta molécula se une a los anticuerpos biotinilados inmovilizados en el pocillo, se da un lavado para eliminar el exceso de conjugados de enzimas libres y finalmente se cuantifican los conjugados de anticuerpos-enzimas inmovilizados. La actividad enzimática se mide a 450 nm-590 nm. La absorbancia es directamente proporcional a la cantidad de IL-6 humana presente en la muestra. El kit tiene un rango de medición de 1–100 ng/mL de IL-6³⁸.

Determinación de IL-10

Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) tipo Sandwich. Con el kit "Human Interleukin 10 (IL10) immunoassay". La muestra con moléculas de IL-10 humana se incuban en un pocillo que previamente fue recubierto con anticuerpo monoclonal anti-IL-10 humana, se forma un complejo, posteriormente se adiciona anticuerpo biotinilado específico para la IL-10 humana. Después se hace un lavado

para eliminar enzima-anticuerpo no unido, se agrega una solución de estreptavidina-peroxidasa de rábano picante, formándose un complejo con los anticuerpos biotinilados, se hace un lavado para eliminar excesos de enzimas libres. La intensidad de color desarrollado se mide a 450nm y es proporcional a la concentración de IL-10 en la muestra. El kit tiene un rango de medición de 1–100 ng/mL de IL-10³⁹.

Determinación de Adiponectina

Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) tipo Sandwich. Con el kit “Human Adiponectin ELISA” (EZHADP-61K). La muestra se incuba en un pocillo recubierto con anticuerpo monoclonal anti-adiponectina humana, las moléculas de adiponectina humana presentes en la muestra se unen a este anticuerpo, posteriormente se adiciona un segundo anticuerpo monoclonal biotinilado anti-humano y se une a las moléculas de adiponectina capturadas, se forma un complejo tipo “sandwich”. Se hace un lavado de materiales no unidos a las muestras, después se adiciona estreptavidina-peroxidasa de rábano picante y esta molécula se une a los anticuerpos biotinilados inmovilizados en el pocillo, se da un lavado para eliminar el exceso de conjugados de enzimas libres y finalmente se cuantifican los conjugados de anticuerpos-enzimas inmovilizados. La actividad enzimática se mide a 450 nm-590 nm. La absorbancia es directamente proporcional a la cantidad de adiponectina humana capturada en la muestra. El kit tiene un rango de medición de 1.5–100 ng/mL de adiponectina⁴⁰.

Determinación de Leptina

Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) tipo Sandwich. Con el kit "Human Leptin "Dual Range" ELISA" (EZHL-80SK). La muestra que contienen leptina humana se incuban en un pocillo recubierto con un anticuerpo monoclonal anti-leptina humana, a continuación se adiciona un anticuerpo biotinilado específico, formándose un complejo tipo "sandwich". Después de la incubación se descartan por lavado las moléculas que no forman el complejo proteína-anticuerpo, luego se adiciona un complejo enzimático de peroxidase de rábano-estreptavidina para la detección de la leptina unida, se realizan lavados para eliminar enzimas no unidas. La actividad enzimática se mide a 450 nm. La absorbancia es directamente proporcional a la cantidad de leptina humana presente en la muestra. El kit tiene un rango de medición de 0.5-100 ng/mL de leptina⁴¹.

Actividad enzimática

La actividad enzimática sérica de AMYt y AMY2 se midió con un ensayo enzimático colorimétrico (CoBAS Icobas 8000; AMY-P-20766623322 and AMYL2-03183742122). La amilasa separa el sustrato etilideno-pNP-G7 para producir fragmentos más pequeños que se modifican por la alfa-glucosidasa. Esto provoca la liberación de un cromóforo que se puede medir a 405 nm⁴².

La actividad enzimática de amilasa salival (AMY1) se calculó restando la actividad de AMY2 de la actividad de AMYt.

7.7 Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el software IBM SPSS versión 22.0 para Windows. Se determinó la normalidad de la distribución de los datos con la prueba

de Kolmogorov Smirnov. Según la normalidad de los datos, se usaron las pruebas t de Student y U de Mann-Whitney para comparar las características bioquímicas e inflamatorias entre los grupos de casos y controles de obesidad. La prueba Chi cuadrada se empleó para comparar frecuencias entre grupos. Para estimar la asociación de la actividad de AMYt, AMY1 y AMY2 se utilizó regresión logística binaria ajustada por edad y sexo. Para estimar el tamaño del efecto de la actividad de AMYt, AMY1 y AMY2 sobre los marcadores bioquímicos e inflamatorios en el estudio, se empleó un modelo de regresión lineal ajustado por edad y sexo. Antes de ingresar las variables dependientes al modelo, se normalizaron por el método de transformación por rangos inversos. Valores de $p < 0.05$ fueron considerados como estadísticamente significativos.

VIII. RESULTADOS

8.1 Descripción de la población de estudio

El estudio contempló un total de 611 niños (50.9% sexo femenino) con una edad promedio de 9.6 ± 1.8 años, donde el grupo con obesidad representó el 36.0% (n=220) de la población total.

Los parámetros bioquímicos y marcadores de inflamación de los niños se describen en la Tabla 1. Al comparar los parámetros entre hombres y mujeres se encontró que las niñas presentan mayor concentración de glucosa ($p=0.036$) y actividad de AMY2 ($p=0.006$) que los niños. Sin embargo, la concentración de leptina fue significativamente más alta en niños que en niñas ($p=0.001$). La mayoría de las variables incluidas al estudio se encontró dentro de los valores normales, sin

embargo, el rango de variación de HDL en población total alcanzó valores de alteración (<40 mg/dL).

En la Tabla 2 se describen las características bioquímicas y de inflamación de los grupos categorizados por IMC percentil. Se observó que el grupo de niños con obesidad presenta valores significativamente más altos de insulina ($p<0.001$), HOMA IR ($p<0.001$), colesterol total ($p=0.002$), LDL ($p<0.001$), TG ($p<0.001$), leptina ($p<0.001$) y valores más bajos de HDL ($p<0.001$) y adiponectina ($p=0.005$) que el grupo de niños con peso normal.

En cuanto a la actividad de las amilasas, en el grupo de niños con obesidad se encontraron niveles significativamente más bajos AMYt (0.002), AMY1 (0.016), AMY2 (<0.001) en comparación con el grupo de peso normal (Tabla 2).

Tabla 1. Características antropométricas, perfil bioquímico y marcadores de inflamación en niños y niñas.

Sexo	Total	Niños	Niñas	p
N (%)	611	300 (49.09)	311 (50.90)	-
IMC (kg/m ²) *	18.4 (16.1-23.5)	19.9 (16.0-23.7)	19.7 (16.2-23.3)	0.960
Obesidad (%) #	220 (36.0)	115 (38.3)	105 (33.8)	< 0.001
Glucosa (mg/dL) ^ε	79.8 ± 8.4	79.1 ± 8.5	80.5 ± 8.3	0.036
Insulina (μU/mL) *	5.2 (2.8-10.1)	7.7 (3.0-11.0)	6.9 (2.6-9.3)	0.276
HOMA-IR*	1.0 (0.5-2.0)	1.5 (0.5-2.1)	1.4 (0.5-1.9)	0.415
CT (mg/dL) ^ε	154.4 ± 30.8	155.4 ± 31.6	153.4 ± 30.0	0.433
HDL (mg/dL) ^ε	48.6 ± 11.7	48.5 ± 11.3	48.7 ± 12.0	0.788
LDL (mg/dL) *	94.0 (82.0-111.0)	97.4 (82.0-112.0)	96.3 (81.7-110.2)	0.589
TG (mg/dL) *	81.0 (59.0-116.0)	94.6 (62.0-113.0)	94.2 (57.0-120.0)	0.393
AMYt (UI/L) *	52.7 (40.6-68.1)	55.5 (40.1-68.1)	56.4 (41.0-68.2)	0.516
AMY1 (UI/L) *	32.3 (21.6-45.5)	35.6 (21.9-44.9)	34.8 (21.0-45.6)	0.701
AMY2 (UI/L) *	19.8 (16.3-24.2)	20.0 (15.7-23.2)	21.7 (17.2-25.1)	0.006
Adiponectina (μg/mL) ^ε	3.0 ± 0.7	2.9 ± 0.7	3.0 ± 0.8	0.450
Leptina (ng/mL) *	15.3 (7.2-29.4)	20.9 (8.5-30.7)	17.2 (5.8-27.7)	0.001
IL-10 (pg/mL) *	88.1 (36.6-461.5)	457.5 (34.1-398.5)	397.2 (38.6-564.5)	0.400
IL-6 (pg/mL) *	25.5 (13.1-102.5)	85.1 (11.7-96.4)	105.0 (13.5-109.1)	0.313

^εt-Student, *U de Mann-Whitney; #Chi cuadrada

AMY1: amilasa salival, AMY2: amilasa pancreática, CT: colesterol total HDL: lipoproteína de alta densidad, HOMA IR: índice de resistencia a la insulina, IL-10: Interleucina 10, IL-6: Interleucina 6, IMC: índice de masa corporal, LDL: lipoproteína de baja densidad, N: número de sujetos, TG: triglicéridos. Significancia estadística p<0.05

Tabla 2. Características antropométrica, perfil bioquímico y marcadores de inflamación en casos y controles de obesidad

Variable	Total	Peso normal	Obesos	P
N	611	391	220	-
IMC (kg/m ²) *	18.4 (16.1-23.5)	16.6 (15.5-18.1)	24.7 (22.9-26.8)	<0.001
Glucosa (mg/dL) ^ε	79.8 ± 8.4	79.8 ± 8.4	79.9 ± 8.4	0,839
Insulina (μU/mL) *	5.2 (2.8-10.1)	3.6 (2.5-6.9)	10.5 (5.2-17.2)	<0.001
HOMA-IR*	1.0 (0.5-2.0)	0.7 (0.5-1.3)	2.0 (1.0-3.4)	<0.001
CT (mg/dL) ^ε	154.4 ± 30.8	151.4 ± 29.8	159.5 ± 31.8	0,002
HDL (mg/dL) ^ε	48.6 ± 11.7	51.3 ± 11.2	43.8 ± 10.9	<0.001
LDL (mg/dL) *	94.0 (82.0-111.0)	91.0 (79.0-108.0)	101.0 (86.2-117.7)	<0.001
TG (mg/dL) *	81.0 (59.0-116.0)	70.0 (54.0-93.0)	111.0 (81.2-153.2)	<0.001
AMYt (UI/L) *	52.7 (40.6-68.1)	55.0 (42.8-71.7)	49.1 (39.0-64.4)	0.002
AMY1 (UI/L) *	32.3 (21.6-45.5)	33.6 (22.7-46.5)	29.2 (19.9-44.3)	0.016
AMY2 (UI/L) *	19.8 (16.3-24.2)	20.5 (17.2-24.8)	18.7 (15.5-23.0)	<0.001
Adiponectina (μg/mL) ^ε	3.0 ± 0.7	3.1 ± 0.8	2.8 ± 0.7	0.005
Leptina (ng/mL) *	15.3 (7.2-29.4)	9.5 (5.8-17.5)	31.3 (24.7-40.4)	<0.001
IL-10 (pg/mL) *	88.1 (36.6-461.5)	101.6 (37.0-537.1)	74.8 (35.8-357.4)	0.239
IL-6 (pg/mL) *	25.5 (13.1-102.5)	26.9 (13.4-130.5)	22.4 (10.9-153.2)	0.143

^εt-Student, *U de Mann-Whitney.

AMY1: amilasa salival, AMY2: amilasa pancreática, CT: colesterol total HDL: lipoproteína de alta densidad, HOMA IR: índice de resistencia a la insulina, IL-10: Interleucina 10, IL-6: Interleucina 6, IMC: índice de masa corporal, LDL: lipoproteína de baja densidad, N: número de sujetos, TG: triglicéridos. Significancia estadística p<0.05

8.2 Asociación de la baja actividad enzimática con el diagnóstico de obesidad

En el análisis de asociación se encontró que la baja actividad de AMYt, AMY1 y AMY2 presenta asociación significativa con el diagnóstico de obesidad. Los niños con alta actividad de AMYt, AMY1 y AMY2 presentan 0.651, 0.631 y 0.556 veces menos riesgo de padecer obesidad, respectivamente, que los niños con alta actividad (Tabla 3).

Tabla 3. Análisis de asociación de actividad de AMYt, AMY1 y AMY2 con el diagnóstico de obesidad.

Variable	OR	IC (95%)	p
AMY t	0,651	0,458 - 0,927	0.017
AMY 1	0,631	0,443 - 0,898	0.011
AMY 2	0,556	0,390 - 0,794	0.001

Regresión logística binaria ajustada por edad y sexo. AMYt: amilasa total, AMY1: amilasa salival, AMY2: amilasa pancreática, IC95%: intervalo de confianza al 95%, OR: razón de probabilidades. Significancia estadística $p < 0.05$

8.3 Descripción del perfil bioquímico por grupos de actividad de AMYt, AMY1 y AMY2

De acuerdo a la categorización de baja y alta actividad de amilasas (Tabla 4), se observó que el grupo de baja actividad de AMYt, presentó significativamente mayor concentración de leptina ($p=0.012$) que el grupo de alta actividad. En el caso del grupo de baja actividad de AMY1, este presentó menor concentración de HDL ($p=0.022$) que el grupo de alta actividad. Por otro lado, el grupo de baja actividad de AMY2 presentó significativamente mayor concentración de TG ($p=0.001$), leptina ($p=0.017$) y menor concentración de HDL ($p=0.002$), IL-10 ($p=0.033$) e IL-6 ($p=0.004$) en comparación con el grupo de alta actividad. Es importante aclarar que estas tendencias se observan en población general.

Tabla 4. Características antropométricas, perfil bioquímico y marcadores de inflamación estratificado por grupos de actividad de AMYt, AMY1 y AMY2

Variable	AMYt (UI/L)			AMY1 (UI/L)			AMY2 (UI/L)		
	Baja (< 52.7)	Alta (≥52.7)	p	Baja (< 32.3)	Alta (≥32.3)	p	Baja (< 19.8)	Alta (≥19.8)	p
N	265	266		264	267		259	272	
IMC (kg/m²)	19.9 (16.4-24.4)	18.2 (16.0-22.9)	0.003	20.0 (16.4-24.3)	18.3 (16.0-22.9)	0.01	19.9 (16.8-24.6)	18.0 (15.9-22.8)	<0.001
Glucosa (mg/dL)	79.6 ± 8.3	79.7 ± 8.3	0.895	79.5 ± 8.2	79.9 ± 8.3	0.603	80.0 ± 8.0	79.3 ± 8.6	0.308
Insulina (μU/mL)*	5.6 (2.9-12.0)	5.5 (3.0-9.9)	0.87	5.3 (3.0-11.6)	5.6 (3.0-10.4)	0.937	5.9 (3.0-12.3)	4.9 (3.0-9.5)	0.125
HOMA-IR*	1.0 (0.5-2.4)	1.1 (0.5-1.9)	0.941	1.0 (2.4-0.5)	1.1 (0.5-2.0)	0.831	1.2 (0.5-2.4)	1.0 (0.5-1.9)	0.121
CT (mg/dL) ^e	155.5 ± 29.6	154.3 ± 32.4	0.669	155.2 ± 29.2	154.6 ± 32.8	0.845	155.2 ± 30.4	154.7 ± 31.7	0.856
HDL (mg/dL) ^e	96.0 (84.2-111.7)	49.2 ± 11.5	0.53	47.0 ± 10.9	49.3 ± 12.2	0.022	46.6 ± 10.9	49.8 ± 12.1	0.002
LDL (mg/dL)*	96.0 (84.2-111.7)	92.0 (79.0-111.0)	0.071	96.0 (84.0-112.0)	92.0 79.0-111.0)	0.071	96.0 (83.0-113.0)	92.0 (79.0-110.0)	0.069
TG (mg/dL)*	84.0 (60.2-122.0)	79.0 (57.5-116.5)	0.71	83.0 (58.0-119.0)	82.0 (59.7-119.2)	0.71	89.0 (67.0-125.2)	76.0 (55.0-111.0)	0.001
Adiponectina (μg/mL) ^e	3.0 ± 0.8	3.0 ± 0.8	0.872	3.0 ± 0.8	3.0 ± 0.7	0.884	2.9 ± 0.7	3.1 ± 0.8	0.099
Leptina (ng/mL)*	20.5 (8.1-32.5)	14.4 (6.5-28.5)	0.012	19.9 (7.8-32.0)	15.9 (7.0-29.4)	0.148	20.5 (8.3-32.1)	13.4 (6.4-28.0)	0.017
IL10 (pg/mL)*	103.6 (42.0- 436.9)	84.5 (32.0-492.5)	0.81	105.5 (39.8-525.8)	88.1 (32.1-464.5)	0.584	80.9 (35.8-325.9)	122.7 (38.6-655.8)	0.033
IL6 (pg/mL)*	23.4 (13.2-97.3)	33.3 (13.9-148.7)	0.248	25.0 (13.1-121.3)	29.0 (14.4-109.1)	0.519	21.2 (11.9-81.3)	36.6 (15.1-185.9)	0.004

^et-Student, *U de Mann-Whitney.

AMYt: amilasa total, AMY1: amilasa salival, AMY2: amilasa pancreática, CT: colesterol total HDL: lipoproteína de alta densidad, HOMA IR: índice de resistencia a la insulina, IL-10: Interleucina 10, IL-6: Interleucina 6, IMC: índice de masa corporal, LDL: lipoproteína de baja densidad, N: número de sujetos, TG: triglicéridos. Significancia estadística p<0.05

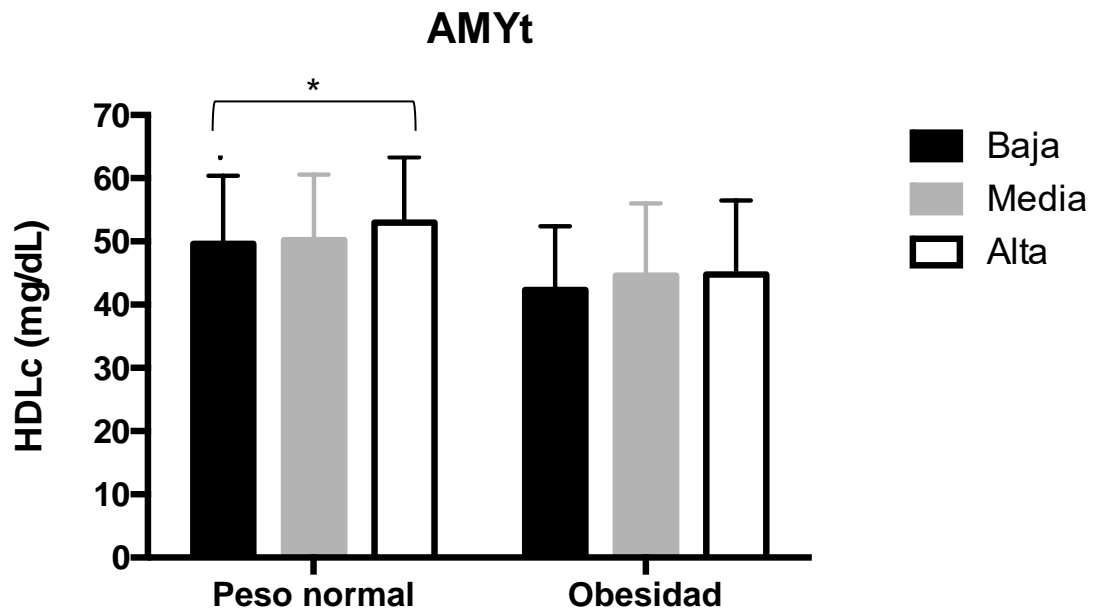
8.4 Efecto de la actividad enzimática de AMYt, AMY1 y AMY2 en los marcadores bioquímicos e inflamatorios en el estudio

El efecto de la actividad enzimática de AMYt, AMY1 y AMY2 en los marcadores bioquímicos y de inflamación se determinó en población total (Tabla 5), sin embargo, para evaluar si el diagnóstico de obesidad modificaba dicho efecto, se realizó un análisis ajustado por el diagnóstico de obesidad. Se encontró que la actividad de AMYt ($p < 0.001$), AMY1 ($p = 0.003$) y AMY2 ($p < 0.001$) presentan un efecto negativo sobre el IMC. Por otro lado, la actividad de AMYt y AMY1 ejerce efecto positivo sobre la concentración de colesterol HDL ($p = 0.002$ y $p = 0.006$, respectivamente), dicho efecto no pierde significancia al hacer el ajuste por el diagnóstico de obesidad (Gráfica 1 y 2). Aunque la actividad de AMY2 produce efecto positivo sobre la concentración de colesterol HDL ($p = 0.011$) y la concentración de leptina ($p = 0.048$), dicho efecto pierde significancia después del ajuste por el diagnóstico de la enfermedad (Gráfica 3).

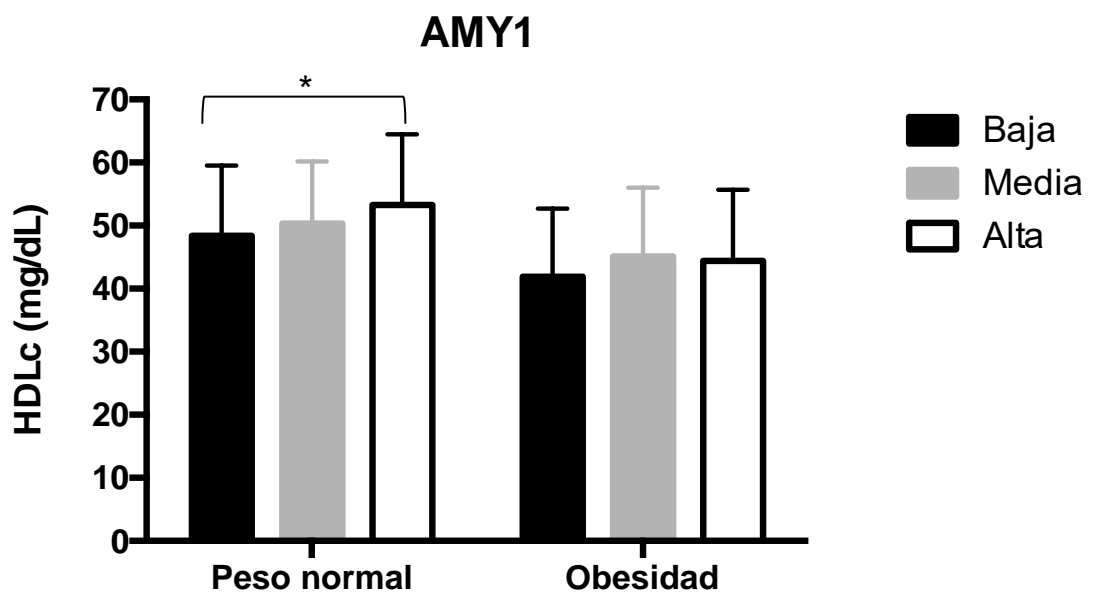
TABLA 5. Efecto de la actividad enzimática de AMYT, AMY1 y AMY2 en los marcadores bioquímicos e inflamatorios en población general

Variable	AMYT			AMY1			AMY2		
	B ± ES	p ^a	p ^b	B ± ES	p ^a	p ^b	B ± ES	p ^a	p ^b
IMC (kg/m ²)	-0.031±0.008	<0.001	-	-0.028±0.009	0.003	-	-0.095±0.025	<0.001	-
Glucosa (mg/dL)	0.004±0.016	0.786	0.735	0.015±0.018	0.412	0.386	-0.071±0.049	0.142	0.156
Insulina (μU/mL)	0.023±0.014	0.097	0.099	0.022±0.016	0.165	0.173	0.029±0.042	0.500	0.521
HOMA-IR	0.001±0.003	0.848	0.054	0.001±0.003	0.749	0.070	-0.009±0.009	0.310	0.614
CT (mg/dL)	0.073±0.061	0.232	0.092	0.073±0.067	0.277	0.136	0.093±0.184	0.615	0.317
HDL (mg/dL)	0.070±0.023	0.002	0.030	0.070±0.025	0.006	0.042	0.108±0.068	0.112	0.429
LDL (mg/dL)	-0.041±0.047	0.376	0.826	-0.042±0.052	0.418	0.774	-0.123±0.140	0.381	0.850
TG (mg/dL)	-0.042±0.104	0.687	0.241	-0.032±0.116	0.784	0.332	-0.353±0.311	0.257	0.683
Adiponectina (μg/mL)	0.003±0.002	0.090	0.279	0.003±0.002	0.164	0.363	0.011±0.006	0.072	0.228
Leptina (ng/mL)	-0.063±0.034	0.065	0.722	-0.052±0.038	0.170	0.733	-0.213±0.107	0.048	0.885
Il10 (pg/mL)	1.18±2.70	0.662	0.948	1.136±3.013	0.706	0.930	7.54±8.42	0.371	0.607
Il6 (pg/mL)	0.672±0.391	0.087	0.185	0.595±0.432	0.169	0.283	2.11±1.24	0.091	0.208

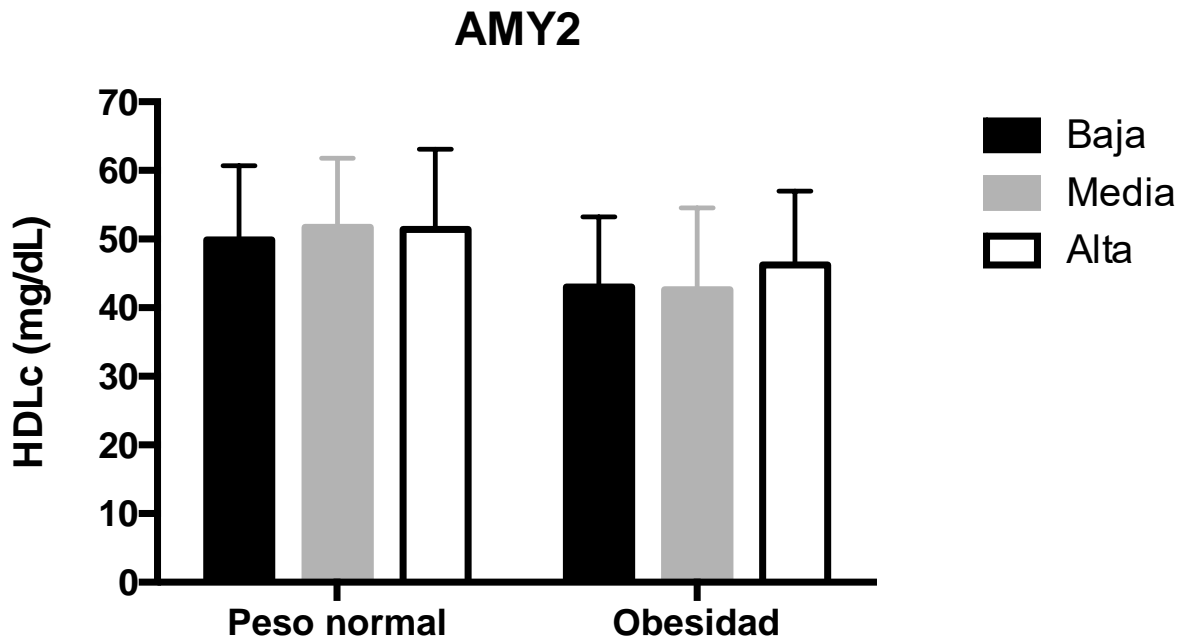
Tamaño del efecto por regresión lineal ajustado por **a)** edad y sexo o **b)** edad, sexo y diagnóstico de obesidad. AMY1: amilasa salival, AMY2: amilasa pancreática, CT: colesterol total HDL: lipoproteína de alta densidad, HOMA IR: índice de resistencia a la insulina, IL-10: Interleucina 10, IL-6: Interleucina 6, IMC: índice de masa corporal, LDL: lipoproteína de baja densidad, N: número de sujetos, TG: triglicéridos. Significancia estadística p<0.05



Grafica 1. Asociación de actividad de amilasa total (AMYt) con concentración de colesterol HDL en población con peso normal y población con obesidad.



Grafica 2. Asociación de actividad de amilasa 1 (AMY1) con concentración de colesterol HDL en población con peso normal y población con obesidad.



Grafica 3. Asociación de actividad de amilasa total (AMY2) con concentración de colesterol HDL en población con peso normal y población con obesidad.

Debido a que la actividad de AMY2, la concentración de leptina y la frecuencia de obesidad presentaron diferencias significativas entre sexos, se determinó el tamaño del efecto de la actividad enzimática de AMYt, AMY1 y AMY2 sobre los marcadores de inflamación, condicionado por sexo y ajustado por diagnóstico de obesidad (Tabla 6). Se encontró que la actividad de AMYt, AMY1, AMY2 no presenta efectos significativos en los marcadores de inflamación.

TABLA 6. Efecto de la actividad enzimática de AMYt, AMY1 y AMY2 sobre los marcadores de inflamación por diagnóstico de obesidad y sexo

Variable	Sexo	AMYt		AMY1		AMY2	
		B ± ES	p	B ± ES	p	B ± ES	p
Adiponectina (µg/mL)	Niñas	0.002±0.003	0.363	0.002±0.003	0.504	0.013±0.008	0.091
	Niños	0.001±0.003	0.660	0.002±0.003	0.578	-0.002±0.010	0.833
Leptina (ng/mL)	Niñas	0.015±0.037	0.674	0.021±0.041	0.606	-0.005±0.110	0.965
	Niños	0.000±0.042	0.991	-0.001±0.045	0.979	0.028±0.142	0.844
IL-10 (pg/mL)	Niñas	-0.252±3.66	0.945	0.320±4.06	0.937	2.23±10.9	0.839
	Niños	0.888±4.23	0.834	0.333±4.60	0.943	8.51±13.87	0.541
IL-6 (pg/mL)	Niñas	0.544±0.559	0.332	0.455±0.617	0.463	1.56±1.69	0.357
	Niños	0.505±0.573	0.380	0.479±0.616	0.438	1.68±1.96	0.394

Tamaño del efecto por modelo de regresión lineal ajuste por edad y diagnóstico de obesidad. AMYt: amilasa total, AMY1: amilasa salival, AMY2: amilasa pancreática, IL-10: Interleucina 10, IL-6. Significancia estadística p<0.05

IX. DISCUSIÓN

Este es el primer estudio que relaciona la actividad de amilasa sérica con parámetros bioquímicos y diagnóstico de obesidad en población infantil en Latinoamérica. Al analizar los parámetros bioquímicos en población general, encontramos que la concentración de glucosa fue ligeramente más alta en niñas, cabe mencionar que los valores no están en los límites de riesgo. En el caso de leptina, los niveles se encuentran más altos en niños, esto podría deberse a que en el estudio el porcentaje de obesidad es mayor en este grupo. Estudios reportan que las niñas presentan niveles más altos de leptina y lo atribuyen al desarrollo hormonal y la ganancia de peso que implica el crecimiento^{43,44}.

En el análisis del perfil bioquímico entre las categorías de peso, encontramos que el grupo de niños con obesidad presentó mayor concentración de insulina y HOMA-IR, en comparación con los niños de peso normal. Este dato nos indica que, en un futuro, estos niños podrían presentar un mayor riesgo de padecer resistencia a la insulina o DT2^{25,45} ya que por el estado de inflamación que presentan, la masa de adipocitos desregula la producción de TNF α , citocina que suprime la sensibilidad de la insulina, por lo tanto, aumentan los niveles de esta hormona al tratar de mantener su función. Un estudio realizado en 2016 en población infantil del Estado de México, también reportó asociación entre altos valores insulina y la presencia de obesidad⁴⁵. Del mismo modo, en el estado de obesidad, los adipocitos disminuyen la producción de adiponectina, que sumado a la alta concentración de TNF- α , aumentan el riesgo de sensibilidad a la insulina^{22,47,48} y en consecuencia, resistencia a esta hormona. Nosotros efectivamente, encontramos que, en el grupo de obesidad la concentración de adiponectina fue menor, tal como se ha reportado en población adulta⁴⁹. En el caso de leptina, los niveles en el grupo con obesidad fueron altos, nuestros resultados son semejantes a los que reportó un estudio en 2015, donde se estudiaron niños de 5 a 17 años, mostrando niveles altos de leptina en obesos⁵⁰. Hay trabajos que mencionan que en el estado de obesidad hay aumento de esta hormona⁵¹, con un estado de resistencia, ya que se presenta insensibilidad en los receptores hipotalámicos de la leptina⁵², provocando inhibición en el control de apetito²⁷, lo que a su vez favorece la obesidad.

La concentración de CT, LDL y TG también fue mayor en el grupo de niños obesos, lo que podría inferir que, en el futuro, estos niveles lipídicos sigan aumentando y representen un riesgo de padecer dislipidemia y un posterior desarrollo de enfermedades cardiovasculares, como aterosclerosis^{53,54}.

En este trabajo también encontramos que la actividad de amilasas (AMYt, AMY1 y AMY2) presenta asociación significativa con el diagnóstico de obesidad. Estudios en niños japoneses de 6 a 15 años de edad reportan resultados similares, donde efectivamente, en obesidad hay disminución de estas enzimas⁵⁵.

La asociación entre la actividad de AMYt, AMY1 y AMY2 con el diagnóstico de obesidad, es importante porque nos indica que la actividad de dicha enzima presenta una relación con alguno de los mecanismos que podría provocar la ganancia de peso corporal. En este sentido nuestros resultados coinciden con otros trabajos. Por ejemplo, en el 2017, un estudio reportó una relación inversa entre la actividad de amilasa sérica y el de IMC¹³ en población adulta francesa. Además, otro estudio en población adulta japonesa demostró que la amilasa sérica baja se asocia a un mayor riesgo de síndrome metabólico y DT2^{17,56}.

Por otro lado, respecto al efecto observado que ejerce la actividad de las amilasas en los parámetros bioquímicos, encontramos que, en particular, la actividad de AMYt y AMY1 provoca un efecto en la concentración de colesterol HDL. Algunos estudios relacionan el metabolismo de los hidratos de carbono y producción de ácidos grasos de cadena corta⁵⁷ con bacterias presentes en la microbiota intestinal, las cuales a su vez, producen un aumento en la concentración de HDL^{58,59}. Por lo cual podemos suponer que los individuos de este estudio que presentan alta actividad de amilasa, posiblemente, tienen una microbiota que favorece el aumento de HDL.

Cabe mencionar que la actividad de amilasa no produjo un efecto sobre los marcadores de inflamación. Con este reporte, se podría pensar que el estado de obesidad es el parámetro que influye en la concentración de dichos marcadores^{27,60}, no como tal la actividad de amilasa.

Con todo lo anterior se sugiere realizar estudios que exploren de manera profunda la microbiota intestinal y su posible relación con la actividad de amilasa sérica, con esto proponer un mecanismo específico de ganancia de peso corporal en el cual, se vea involucrada la relación de amilasa con la concentración de HDL encontrada en el presente estudio.

X. CONCLUSIÓN

La actividad de amilasa sérica (AMYt, AMY1 y AMY2) se asocia significativamente al diagnóstico de obesidad infantil en niños de la Ciudad de México. Además, la actividad de AMYt y AMY1, independientemente del diagnóstico de obesidad, ejerce un efecto positivo sobre la concentración de HDL.

XI. REFERENCIAS

1. Norma Oficial Mexicana. NOM-008-SSA3-2010, Para el tratamiento integral del sobrepeso y la obesidad. [Internet]. México: Diario Oficial de la Federación; [Actualizado ago 2010; citado abr 2018] Disponible en: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5154226&fecha=04/08/2010
2. Organización Mundial de la Salud. Obesidad y sobrepeso. [Internet]. Ginebra: OMS; [Actualizado oct 2017; citado mar 2018] Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>
3. Centers for Disease Control and Prevention. Acerca del índice de masa corporal para niños y adolescentes. [Internet]. Estados Unidos de América: CDC; [Actualizado may 2015; citado mar 2018] Disponible en: https://www.cdc.gov/healthyweight/spanish/assessing/bmi/childrens_bmi/acerca_indice_masa_corporal_ninos_adolescentes.html
4. Organización para la Cooperación y Desarrollo Economicos. Health at a Glance 2017: OECD Indicators. [Internet]. Francia: OEDC [Actualizado 2017; citado mar 2018]. Disponible en: <https://www.oecd.org/mexico/Health-at-a-Glance-2017-Key-Findings-MEXICO-in-Spanish.pdf>
5. Shamah T, Cuevas L, Rivera J, y Hernández M. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016 (ENSANUT 2016). Informe final de resultados. [Internet]. México: Instituto Nacional de Salud Publica [Actualizado 31 oct 2016; citado mar 2018]. Disponible en: http://promocion.salud.gob.mx/dgps/descargas1/doctos_2016/ensanut_mc_2016-310oct.pdf

-
6. Canizales S. Aspectos genéticos de la obesidad humana. *Rev Endocrinol Nutr.* 2008; 16: 9-15
 7. Ebbeling C, Pawlak D, Ludwig D. Childhood obesity: public-health crisis, common sense cure. *Lancet* 2002; 360: 473-82.
 8. Definicion SNP. Scitable by Nature Education. [Internet]. Estados Unidos de America. [Actualizado nov 2014; citado mar 2018]. Disponible en: <http://www.nature.com/scitable/definition/single-nucleotide-polymorphism-snp-295>
 9. Feuk L, Carson A. Structural variation in the human genome. *Rev Nat Genet* 2006; 7: 85-97.
 10. Mejía M, Bonnefond A, Yengo L, Huyvaert M, Dechaume A, Peralta J, et al. Beneficial effect of a high number of copies of salivary amylase AMY1 gene on obesity risk in Mexican children. *Rev Diabetol.* 2015; 58: 290-4
 11. Aerts E, Beckers S, Zegers D, et al. CNV analysis and mutation screening indicate an important role for the NPY4R gene in human obesity. *Rev Obesity* 2016; 24: 970-6.
 12. Viljakainen H, Andersson J, Armenio M, Pekkinen M, Pettersson M, Valta H, et al. Low copy number of the AMY1 locus is associated with early-onset female obesity in Finland. *PLoS One.* 2015; 10 (7): 1-13
 13. Bonnefond A, Yengo L, Dechaume A, Canouil M, Castelain M, Roger E, et al. Relationship between salivary / pancreatic amylase and body mass index : a systems biology approach. *BMC Med.* 2017;15 (37):1-10
 14. Santos, J. L., et al. Copy number polymorphism of the salivary amylase gene: implications in human nutrition research. *Rev nutrigenetics and nutrigenomics.* 2012; 5 (3): 117-131.

-
15. Nakajima K. Bajo nivel de amilasa sérica y obesidad, diabetes y síndrome metabólico: una interpretación novedosa. *Diario mundial de la diabetes*. 2016; 7: 6.
 16. Mojibafan M, Afsartala Z., Amoli M, Mahmoudi M, Yaghmaei P, Larijani B y Ebrahim-Habibi A. Liver alpha-amylase gene expression as an early obesity biomarker. *Pharmacological Reports*. 2017; 69 (2): 229-34
 17. Nakajima K, Nemoto T, Muneyuki T, Kakei M, Fuchigami H, Munakata H. Low serum amylase in association with metabolic syndrome and diabetes: A community-based study. *Cardiovascular y Diabetes*. 2011; 10: 34.
 18. des Gachons CP, Breslin PA. Amilasa salival: digestión y síndrome metabólico. *Informes actuales sobre la diabetes*. 2016;16 (10): 102.
 19. Korc M, Owerbach D, Quinto C, Rutter WJ. Interacción de células pancreáticas islote-acinares: los niveles de ARN mensajero de amilasa están determinados por la insulina. *Ciencia*. 1981; 213 (4505): 351-3.
 20. Dias J, Schrack J, Shardell M, Egan J, Studenski S. Asociación de grasa abdominal con amilasa sérica en una cohorte más antigua: el Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Investigación de la diabetes y práctica clínica*. 2016; 2: 12.
 21. Muneyuki T, Nakajima K, Aoki A, Yoshida M, Fuchigami H, Munakata H, Ishikawa SE, Sugawara H, Kawakami M, Momomura SI, Kakei M. Asociaciones latentes de amilasa sérica baja con niveles de insulina en plasma disminuidos y resistencia a la insulina en medio asintomático adultos de edad avanzada. *Diabetología cardiovascular*. 2012; 11 (1): 80.

-
22. Sánchez JC, Romero CR, Muñoz LV, Alonso Rivera R. El órgano adiposo, un arcoiris de regulación metabólica y endocrina. *Rev Cuba Endocrino*. 2016; 27 (1): 1-5.
 23. Picos Nordet S, Pérez Clemente LM. Resistencia insulínica y los componentes del síndrome metabólico en niños y adolescentes obesos. *Rev Cuba Pediatría*. 2015; 87 (4): 449-59.
 24. Godinez S, Gutiérrez G, Orozco G, Rodríguez, E. La grasa visceral y su importancia en obesidad. *Rev Endocrinol y Nutr*. 2002; 10 (3), 121-7.
 25. Corrales J, y Sierra G. Evaluación del paciente obeso. *Laboratorio*, 2010; 16: 355-72.
 26. Martínez B, Maldonado J y López A. Métodos diagnósticos de la resistencia a la insulina en la población pediátrica. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex*. 2011; 68 (5): 397-404.
 27. Gomez A, Perdomo L, Escribano O y Benito M. Role of white adipose tissue in vascular complications due to obesity. *Clinica e investigacion en arteriosclerosis: publicacion oficial de la Sociedad Espanola de Arteriosclerosis*. 2013; 25 (1): 27-35.
 28. Toros X, Castellano R, Fernández J. La asociación de dislipidemia y trombosis en la inestabilización de la placa aterosclerótica. *Rev Cubana Investigaciones Biomédicas*. 2005; 24 (3): 48
 29. Ouchi N, Walsh K. Adiponectin como factor antiinflamatorio. *Clinica chimica acta*. 2007; 24-30.
 30. Kondo T, Hayakawa T, Shibata T, Sato Y, Toda Y. Serum levels of pancreatic enzymes in lean and obese subjects. *Int J Pancreatol*. 1988; 3: 4.

-
31. Instrumentation Laboratory. IL Test GLUC (Glucose Oxidase) 0018480000. Italia. Revisión en 2009.
 32. Expert panel on integrated guidelines and risk reduction in children. Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents: summary report." Pediatrics, 2011: 128 (5) S213.
 33. Instrumentation Laboratory. Cholesterol 0018250540. Italia. Revisión en 2015.
 34. Instrumentation Laboratory. IL Test LDL-Cholesterol 0018482700. Italia. Revisión en 2008.
 35. Instrumentation Laboratory. IL Test HDL-Cholesterol 0018481400. Italia. Revisión en 2006.
 36. Instrumentation Laboratory. IL Test Triglycerides 0018480500. Italia. Revisión en 2003.
 37. Siemens Immulite. "Insulin" USA. Revisión en 2016
 38. Merck KGaA, Darmstadt. "Human Interleukin 6 (IL6) immunoassay". Alemania Revisión en 2016.
 39. Merck KGaA, Darmstadt. "Human Interleukin 10 (IL10) immunoassay". Alemania Revisión en 2016.
 40. Merck KGaA, Darmstadt. "Human Adiponectin ELISA" Alemania Revisión en 2016.
 41. Merck KGaA, Darmstadt. "Human Leptin Dual Range ELISA" Alemania Revisión en 2016.
 42. Roche. "Amylase assay, AMY-P-20766623322". Chile. Revisión en 2017
 43. Maskin J, López M, Martínez M, Ibañez M, Erhard M. Niveles séricos de leptina y su relación con la excreción de sodio en niños y adolescentes obesos. Rev. argent. endocrinol. metab. 2011; 48 (3): 127-35.

-
44. Garcia M, Ricardo V, et al. Serum leptin levels in normal children: relationship to age, gender, body mass index, pituitary-gonadal hormones, and pubertal stage. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1997; 82 (9): 2849-55.
 45. García J, Martínez J, Rojas G, León N. Prevalencia de resistencia a la insulina y síndrome metabólico en niños obesos que acuden a la Clínica de Obesidad del Hospital Pediátrico de Sinaloa. *Pediatría de México*. 2010; 12 (1): 18-22.
 46. Ávila C, Abelardo, et al. Síndrome metabólico en niños de 6 a 12 años con obesidad, en escuelas públicas de siete municipios del Estado de México. *Salud Publica de Méx*. 2018; 60: 395-403.
 47. Weiss R, Dufour S, Groszmann A, Petersen K, Dziura J, Taksali S. Low Adiponectin Levels in Adolescent Obesity: A Marker of Increased Intramyocellular Lipid Accumulation, *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2003; 88 (5) 2014-18.
 48. Meyer, Dorothy M. Cord blood and child plasma adiponectin levels in relation to childhood obesity risk and fat distribution up to 5 y. *Pediatric Rev* 2017; 81 (5): 745.
 49. Díaz B. Adiponectina sérica en adultos normopeso, con sobrepeso u obesidad y su relación con el riesgo cardiovascular. *Acta bioquímica clínica latinoamericana* 2018; 52 (1): 5-13.
 50. Pérez O. Relación entre niveles de leptina y parámetros metabólicos (glicemia y perfil lipídico) en niños y adolescentes entre 5 y 17 años de edad, según estado nutricional en la ciudad de Barranquilla: 2014-2015. Tesis de maestría. Universidad del Norte, 2017.

-
51. Pérez A. Leptina y su relación con la obesidad y la diabetes mellitus tipo 2. *J. Gaceta Méd de Méx.* 2008; 144 (6): 535-42.
52. Morales M, Carvajal C. Obesidad y Resistencia a la Leptina. *Gac Med Bol.* 2010; 33 (1): 63-68
53. Noreña A. Dislipidemias en niños y adolescentes: factores determinantes y recomendaciones para su diagnóstico y manejo. *Rev Española de Nutrición Humana y Dietética.* 2018; 22 (1):72-91.
54. Romero E, Campollo O, Celis A, Vásquez E, Castro J, Cruz R. Factores de riesgo de dislipidemia en niños y adolescentes con obesidad. *Salud pública.* 2007; 49(2): 103-8.
55. Mizuuchi H y Kazuhisa T. Preferential salivary-type hypoamylasemia in obese children. *Acta medica Okayama.* 1999 53: 119-22.
56. Snehankar K, Rumi D, Risha G. Serum amylase and lipase activities in newly diagnosed patients with type 2 diabetes mellitus. *IJAR.* 2016; 4 (7): 1476-83.
57. Navarro S. La microbiota intestinal: un nuevo factor para prevenir la obesidad y la diabetes. Tesis de doctorado. Universidad de Catartbia. 2016.
58. Sanz, Y, Santacruz A. Influencia de la microbiota intestinal en la obesidad y las alteraciones del metabolismo. *Acta Pediatr Esp.* 2009; 67 (9):437-42.
59. Xiaochang H, et al. Evaluating the contribution of gut microbiome to the variance of porcine serum glucose and lipid concentration. *Scientific reports.* 2017; 7 (1): 14-28.
60. Acosta M. Et al. Leptin biochemical mechanisms involved in the development of obesity. *Rev Med Universidad Veracruzana.* 2015; 15 (2): 103-13.