



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN
"SALVADOR ZUBIRÁN"

TESIS: "Asociación entre resistencia a la insulina y la expresión de PPAR γ 2, C/EBP α y el receptor de leptina en adipocitos de pacientes con diferentes grados de obesidad".

**PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS MÉDICAS**

PRESENTA:

AURORA ELIZABETH SERRALDE ZUÑIGA

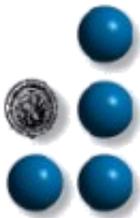
COMITÉ TUTORAL:

Dr. Armando R. Tovar Palacio

Dra. Nimbe Torres y Torres

Dr. Carlos A. Aguilar Salinas

México, D. F. 2012.



INCMNSZ



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.

Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas,
Odontológicas y de la Salud
Universidad Nacional Autónoma de México

Tesis para obtener el grado de Doctora en Ciencias Médicas:

**“Asociación entre resistencia a la insulina y la expresión de PPAR γ 2,
C/EBP α y el receptor de leptina en adipocitos de pacientes con
diferentes grados de obesidad”.**

Alumna

Aurora Elizabeth Serralde Zúñiga

Tutor

Dr. Armando R. Tovar Palacio

Doctorado en Bioquímica Nutricional
Jefe del Departamento de Fisiología de la Nutrición ¹

Co-Tutores

Dra. Nimbe Torres y Torres

Doctorado en Investigación Biomédica Básica
Departamento de Fisiología de la Nutrición ¹

Dr. Carlos A. Aguilar Salinas

Subjefe del Departamento de Endocrinología y Metabolismo ¹

¹ Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

Este trabajo fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología
(Proyecto No. 105852 otorgado a la Dra. Nimbe Torres y beca de doctorado a la
alumna).

ÍNDICE

	Página
Resumen	6
Signos y abreviaturas	9
Relación de tablas y figuras	12
1. Introducción	17
1.1 Obesidad.....	17
1.2 Síndrome metabólico.....	19
1.2.1 Polimorfismo R230C del gen <i>ABCA1</i>	22
1.3 Diabetes Mellitus 2.....	23
1.4 El tejido adiposo.....	23
1.4.1 Disfunción del tejido adiposo.....	26
1.4.2 El tejido adiposo como órgano endocrino.....	29
1.4.3 Adipogénesis.....	30
1.4.4 Expansión del tejido adiposo.....	32
1.4.5 Expresión de genes en el TA y su funcionalidad.....	36
2. Planteamiento del problema	39
3. Justificación	39
4. Pregunta de investigación e hipótesis	39
5. Objetivos	40
6. Material y métodos	40
6.1 Descripción de la población estudiada	40
6.2 Criterios de selección de pacientes.....	40
6.3 Variables.....	42

	Página
6.4 Descripción de la maniobra.....	43
6.5 Medición de parámetros bioquímicos.....	45
6.6 Análisis histológico y determinación del área de los adipocitos	46
6.7 Cuantificación de ARNm.....	47
6.8 Análisis del polimorfismo R230C del gen <i>ABCA1</i>	53
6.8.1 Aislamiento del ADN mediante el método de fenol-cloroformo	53
6.8.2 Detección por discriminación alélica en PCR TR.....	55
6.8.3 Equilibrio de Hardy-Weinberg.....	57
6.9 Análisis estadístico.....	58
6.10 Aspectos éticos del estudio	58
7. Resultados.....	59
7.1 Características generales.....	59
7.2 Índice de masa corporal.....	59
7.3 Resistencia a la insulina.....	66
7.4 Síndrome metabólico.....	73
7.5 Polimorfismo R230C del gen <i>ABCA1</i>	77
7.6 Expresión de genes involucrados en la funcionalidad del adipocito....	79
7.6.1 Índice de masa corporal.....	79
7.6.2 Resistencia a la insulina.....	84
7.6.2.1 Genes involucrados en adipogénesis y lipogénesis..	86

	Página
7.6.2.2 Genes involucrados en oxidación de AG y termogénesis.....	87
7.6.2.3 Genes involucrados en la función endocrina e inflamación.....	89
7.6.3 Síndrome metabólico.....	91
7.6.3.1 Genes involucrados en adipogénesis y lipogénesis..	91
7.6.3.2 Genes involucrados en oxidación de AG y termogénesis.....	94
7.6.3.3 Genes involucrados en la función endocrina e inflamación.....	94
8. Discusión.....	96
9. Conclusiones.....	105
10. Referencias.....	106

RESUMEN

Antecedentes

La resistencia a la insulina (RI) está estrechamente relacionada a la distribución del tejido adiposo (TA) y el grado de obesidad. Aproximadamente 15% de los individuos con obesidad no presentan alteraciones metabólicas o cardiovasculares, probablemente debido a que preservan la arquitectura y función del TA. Por el contrario, existen sujetos que no son obesos pero que presentan alteraciones metabólicas como si lo fueran, por lo que se les ha denominado “metabólicamente obesos” a pesar de tener peso normal.

Estudios en modelos animales indican que el consumo alto de energía modifican la capacidad de almacenamiento de los adipocitos evaluada a través de la expresión de genes que regulan la respuesta adipogénica e influye en la edad del establecimiento, gravedad de la Diabetes Mellitus 2 (DM2) y comorbilidades. El objetivo de este estudio fue evaluar la asociación entre la RI con la expresión génica del receptor de leptina y genes adipogénicos en el TA visceral y adipocitos en pacientes con diferentes grados de obesidad.

Material y métodos

Se incluyeron pacientes adultos, de ambos sexos, candidatos a cirugía abdominal electiva laparoscópica que involucrara peritoneo (Servicio de Cirugía endocrina del INCMNSZ) y que aceptaran participar en el estudio previa firma del consentimiento informado. Se excluyeron a los pacientes con otras patologías que condicionaran

inmunocompromiso o recibieran fármacos que alteraran las concentraciones de adiponectina en las 6 semanas previas.

Se obtuvieron los datos relevantes de la historia clínica, se midieron variables antropométricas y se determinaron parámetros bioquímicos. Durante la cirugía se tomaron biopsias de TA visceral para el aislamiento de adipocitos y extracción de ARNm de éstos y de TA para el análisis de la expresión de genes mediante RT-PCR cuantitativa para el gen de interés. Un pequeño fragmento de TA se usó para determinar el área de los adipocitos viscerales. Se realizó la extracción de ADN a partir de sangre total para la determinación del polimorfismo relacionado con SM (R230C del gen *ABCA1*).

Resultados

Se incluyeron 115 pacientes los cuales fueron clasificados para su análisis de acuerdo al IMC, a la presencia de RI (HOMA-IR ≥ 2.5), diagnóstico de SM y presencia del polimorfismo descrito. Existen diferencias entre los grupos en algunos parámetros bioquímicos y antropométricos que refleja la asociación entre el IMC con el porcentaje de grasa corporal y circunferencia de cintura como indicador de adiposidad visceral, así como con la concentración de leptina sérica, insulina y por lo tanto HOMA-IR como marcador de RI, con aumento en la concentración de proteína C reactiva reflejo de la inflamación de bajo grado concomitante.

La presencia del polimorfismo estudiado estuvo relacionada con el IMC, porcentaje de grasa, insulina y HOMA-IR. El área de los adipocitos viscerales fue significativamente mayor en los individuos con RI o SM respecto a aquellos que no presentaban este diagnóstico, sin existir asociación con el IMC.

En relación a la expresión de genes involucrados en la funcionalidad del TA se encontró que los pacientes con RI tienen una mayor expresión de SREBP1 y TNF α en adipocitos viscerales y de TNF α en el tejido adiposo por el contrario, la expresión de adiponectina fue menor en adipocitos y mayor la de leptina en TA. Los individuos con SM tienen menor expresión en adipocitos del receptor de leptina y adiponectina y mayor expresión de TNF α . Cuando se dividen a los pacientes según el IMC, la expresión de CEBP α y adiponectina disminuye al incrementar el IMC mientras que incrementa la de leptina y TNF α .

Conclusiones

Los resultados del presente trabajo indican que la funcionalidad del adipocito puede estar influenciada por muchos factores como son la presencia de factores del SM, la RI, el IMC y la presencia de variantes genéticas asociadas a la obesidad. Es importante hacer notar que existe un desequilibrio entre los genes involucrados en la adipogénesis y los de oxidación y que además existe la contribución de otros factores o células en el TA que no están presentes en el adipocito que contribuyen a la disfuncionalidad del adipocito.

SIGNOS Y ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxiribonucleico
AG	Ácidos grasos
AMPK	Por sus siglas en inglés, AMP-activated protein kinase
Apo B	Apoproteína B
C/EBP α	Por sus siglas en inglés, CCAAT/Enhancer-Binding Protein α
cm	Centímetros
CREBP	Por sus siglas en inglés, cAMP response element-binding protein
csf-1	Por sus siglas en inglés, Colony-stimulating factor 1
DE	desviación estándar
dl	decilitro
DM2	Diabetes Mellitus 2
EDTA	Por sus siglas en inglés, Etilen-diamino-tetra-acético
ERK	Por sus siglas en inglés, Extracellular signal-regulated kinases
FAS	Por sus siglas en inglés, Fatty Acid Synthase
HDL	Por sus siglas en inglés, high density lipoprotein
HIF-1	Por sus siglas en inglés, Hipoxia-inducible factor 1
HOMA-IR	Por sus siglas en inglés, Homeostatic model assessment of insulin resistance
IGF-1	Por sus siglas en inglés, Insulin-like growth factor 1
IKK	Por sus siglas en inglés, Ikappa B kinase
IMC	Índice de Masa Corporal
INCMNSZ	Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”

ISR	Por sus siglas en inglés, insulin substrate receptor
JNK	Por sus siglas en inglés, Jun N-terminal kinases
Kg	Kilogramos
LDL	Por sus siglas en inglés, low density lipoprotein
LRP10	Por sus siglas en inglés, Low-density lipoprotein receptor-related protein 10
m	metros
med	mediana
mg	miligramos
ml	mililitro
MAPK	Por sus siglas en inglés, Mitogen-activated protein kinases
MCP-1	Por sus siglas en inglés, Monocyte chemoattractant protein-1
MIF	Por sus siglas en inglés, Macrophage migration inhibitory factor.
NCEP III	Por sus siglas en inglés, National Cholesterol Education Program
NF- κ B	Por sus siglas en inglés, Nuclear Factor-kappa B
ng	nanogramos
OMS	Organización Mundial de la Salud
PEPCK	por sus siglas en inglés Phosphoenol pyruvate carboxykinase
PET	Tomografía por emisión de positrones
PGC1	Por sus siglas en inglés PPAR-gamma coactivator 1
PKC	por sus siglas en inglés, Protein kinase C
PPAR α	Por sus siglas en inglés, Peroxisome Proliferator Activated-Receptor α
PPAR γ	Por sus siglas en inglés, Peroxisome Proliferator Activated-Receptor γ
ARN	Ácido Ribonucleico

RI	Resistencia o resistente a la insulina
sirt-1	Sirtuin-1
SM	Síndrome metabólico
SNP	Por sus siglas en inglés, Single Nucleotide Polymorphism
SREBP-1c	por sus siglas en inglés, Sterol Regulatory Element Binding Protein-1
STAT	Signal transducer and activator of transcription
TA	Tejido adiposo
TAC	Tomografía Axial Computada
TCF4	Por sus siglas en inglés, Transcription Factor 4
TG	Triglicéridos
TNF- α	Por sus siglas en inglés, factor de Necrosis Tumoral α
TRAP	Tartrate-resistant acid phosphatase

RELACIÓN DE TABLAS Y FIGURAS

Página

Tablas

Tabla 1. Comparación de las diferentes definiciones propuestas de SM.....	20
Tabla 2. Comparación de las variables bioquímicas entre los diferentes modelos animales.....	34
Tabla 3. Comparación de las variables entre los diferentes modelos animales....	35
Tabla 4. Definición operativa de las variables de interés.....	42
Tabla 5. Características de los pacientes estudiados.....	60
Tabla 6. Comparación de las variables clínico antropométricas y bioquímicas de sujetos con y sin RI.....	67
Tabla 7. Comparación de la presencia de los factores de riesgo de SM por género.	74
Tabla 8. Comparación de las variables clínico antropométricas y bioquímicas de sujetos con y sin SM.	75
Tabla 9. Evaluación del equilibrio H-W en nuestra muestra.	77
Tabla 10. Características de los pacientes en los que se evaluó la expresión de genes involucrados en la funcionalidad del TA.	80
Tabla 11. Comparación de las variables entre los sujetos con y sin RI.	85
Tabla 12. Comparación de las variables entre los sujetos con y sin SM.....	92

Figuras

Figura 1. Fisiopatogenia del SM.	21
Figura 2. Modelo de patogénesis del TA.	28

Figura 3. Regulación de la adipogénesis.31

Figura 4. Esquema que muestra la morfología de un adipocito funcional vs disfuncional.31

Figura 5. El incremento en la expansión del TA mejora en perfil metabólico..... 34

Figura 6. Capacidad adipogénica y susceptibilidad a SM/DM2.36

Figura 7. Validación en TA del gen estructural LRP10: rango dinámico.50

Figura 8. Validación en TA del gen CEBP α : rango dinámico.51

Figura 9. Validación en TA del gen CEBP α : curva estándar y delta Ct.....52

Figura 10. Descripción general del estudio.....53

Figura 11. Análisis de discriminación alélica para la determinación del polimorfismo R230C del gen ABCA1.....56

Figura 12. Detección del polimorfismo: discriminación alélica.....57

Figura 13. Comparación del porcentaje de grasa corporal de los grupos de pacientes de acuerdo a los terciles de IMC.....61

Figura 14. Comparación de la circunferencia de cintura de los grupos de pacientes de acuerdo a los terciles de IMC.61

Figura 15. Correlación entre el IMC y HOMA-IR.62

Figura 16. Correlación entre el IMC e insulina sérica.62

Figura 17. Comparación del valor de HOMA-IR de los grupos de pacientes de acuerdo a los terciles de IMC.63

Figura 18. Comparación del valor de insulina sérica de los grupos de pacientes de acuerdo a los terciles de IMC.64

Figura 19. Comparación de la concentración sérica de proteína C reactiva de los grupos de pacientes de acuerdo a los terciles de IMC.....64

Figura 20. Correlación entre el IMC y leptina sérica.....65

Figura 21. Comparación de la concentración sérica de leptina de los grupos de pacientes de acuerdo a los terciles de IMC.....65

Figura 22. Comparación de la concentración sérica de leptina sérica de los grupos de pacientes de acuerdo a los terciles de HOMA-IR.....68

Figura 23. Comparación del área de los adipocitos viscerales entre los grupos de pacientes de acuerdo a la presencia de RI.68

Figura 24. Comparación del área de los adipocitos viscerales entre los grupos de pacientes de acuerdo a los terciles de HOMA-IR.....69

Figura 25. Comparación de la concentración de proteína C reactiva entre los grupos de pacientes de acuerdo a los terciles de HOMA-IR.70

Figura 26. Comparación del área de los adipocitos viscerales en presencia de obesidad y RI.71

Figura 27. Distribución del área de los adipocitos viscerales de acuerdo a la presencia de RI.71

Figura 28. Comparación del tamaño de los adipocitos viscerales entre 2 sujetos.72

Figura 29. Comparación del área de los adipocitos viscerales entre los grupos de pacientes de acuerdo a la presencia de SM.76

Figura 30. Comparación del valor de HOMA-IR según el número de componentes del SM.76

Figura 31. Comparación del IMC y porcentaje de grasa entre los grupos de pacientes ante la presencia del polimorfismo R230C del gen *ABCA1*.....78

Figura 32. Comparación de la insulina sérica y HOMA-IR entre los grupos de pacientes ante la presencia del polimorfismo R230C del gen *ABCA1*.....78

Figura 33. Correlación entre el IMC e insulina sérica.....81

Figura 34. Correlación entre el IMC y HOMA-IR.81

Figura 35. Correlación entre el IMC y leptina sérica.82

Figura 36. Comparación de la expresión de CEBP α en TA visceral entre los grupos de acuerdo a los terciles de IMC.82

Figura 37. Comparación de la expresión de adiponectina en TA visceral entre los grupos de acuerdo a los terciles de IMC.83

Figura 38. Comparación de la expresión de leptina en adipocitos viscerales entre los grupos de acuerdo a los terciles de IMC.83

Figura 39. Comparación de la expresión de TNF α en TA visceral entre los grupos de acuerdo a los terciles de IMC.84

Figura 40. Comparación de la expresión de genes involucrados en la diferenciación y lipogénesis en adipocitos viscerales de acuerdo a la presencia de RI86

Figura 41. Comparación de la expresión de genes involucrados en la diferenciación y lipogénesis en TA visceral de acuerdo a la presencia de RI.....87

Figura 42. Comparación de la expresión de genes involucrados en la oxidación de lípidos y termogénesis en adipocitos viscerales de acuerdo a la presencia de RI.88

Figura 43. Comparación de la expresión de genes involucrados en la oxidación de lípidos y termogénesis en TA visceral de acuerdo a la presencia de RI.88

Figura 44. Comparación de la expresión de genes involucrados en la función endocrina e inflamación en adipocitos viscerales de acuerdo a la presencia de RI.89

Figura 45. Comparación de la expresión de genes involucrados en la función endocrina e inflamación en TA visceral de acuerdo a la presencia de RI.90

Figura 46. Comparación de la expresión de TNF α en TA visceral entre los grupos de acuerdo a los terciles de HOMA-IR.90

Figura 47. Comparación de la expresión de genes involucrados en la diferenciación y lipogénesis en adipocitos viscerales de acuerdo a la presencia de SM.93

Figura 48. Comparación de la expresión de genes involucrados en la diferenciación y lipogénesis en TA visceral de acuerdo a la presencia de SM.....93

Figura 49. Comparación de la expresión de genes involucrados en la oxidación de lípidos y termogénesis en adipocitos de acuerdo a la presencia de SM.....94

Figura 50. Comparación de la expresión de genes involucrados en la oxidación de lípidos y termogénesis en TA visceral de acuerdo a la presencia de SM.....95

Figura 51. Comparación de la expresión de genes involucrados en la función endocrina e inflamación en adipocitos de acuerdo a la presencia de SM.....95

Figura 52. Comparación de la expresión de genes involucrados en la función endocrina e inflamación en TA visceral de acuerdo a la presencia de SM.....96

Figura 53. Funcionalidad del adipocito.....97

Figura 54. Microscopia de TA.....99

1.INTRODUCCIÓN

1.1 Obesidad

En los últimos años se ha incrementado dramáticamente la prevalencia de sobrepeso y obesidad, lo que se asocia con una reserva excesiva de energía en el tejido adiposo (TA) que pone en riesgo la salud del individuo.

La obesidad es una enfermedad crónica con etiología multifactorial, pero en general, ocurre en individuos genéticamente predispuestos a desarrollarla y que además tienen la influencia de factores ambientales que condicionan un incremento en el consumo energético generado por una mayor disponibilidad de alimentos con alta densidad calórica, y una reducción en el gasto energético debido a una disminución en la actividad física que determinan su aparición de forma progresiva.

La obesidad, particularmente la visceral se considera el principal factor de riesgo adquirido para desarrollar síndrome metabólico (SM), Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2), hipertensión arterial sistémica, dislipidemias, enfermedades cardiovasculares, vasculares cerebrales, y algunas neoplasias (mama, esófago, endometrio, colon, próstata). Además de otras alteraciones endocrinológicas, musculo-esqueléticas, psicológicas, respiratorias, gastrointestinales, dermatológicas, genitourinarias y neurológicas.

El diagnóstico de obesidad a través de la determinación del Índice de Masa Corporal (IMC)= peso (kg)/talla (m)² resulta una medición confiable y simple para establecer el diagnóstico de obesidad porque puede ser realizada por cualquier médico o nutriólogo.[1][2]

Los puntos de corte del IMC son recomendados por grupos de expertos, consensos y normas de salud para el diagnóstico y tratamiento de la obesidad; el más utilizado es el recomendado por la Organización Mundial de la Salud (OMS).[3]

La Norma Oficial Mexicana para el tratamiento integral del sobrepeso y la obesidad (NOM-008-SSA3-2010) ha fijado puntos de corte diferentes a los propuestos, considerando que alrededor de 29% de nuestra población tiene talla baja cuyo punto de corte es: <1.60 m en hombres y en mujeres <1.50 m. En las personas adultas se determina que existe obesidad cuando tienen un IMC ≥ 30 kg/m² y ≥ 25 kg/m² en individuos con talla baja. Se define sobrepeso cuando existe un IMC $\geq 25-29.9$ kg/m² y $\geq 23-24.9$ kg/m² en las personas adultas de estatura baja.[4]

Usar los puntos de corte propuestos por la OMS permite hacer comparables a las poblaciones en diferentes estudios internacionales, en los que se demuestra la utilidad del IMC (incluso ha sido considerado como estándar de oro) para identificar el incremento en el riesgo de mortalidad y complicaciones médicas relacionadas con la adiposidad al demostrar una correlación directa. No obstante, este índice sólo evalúa la masa corporal y no su composición (masa grasa y libre de grasa también llamada magra); por lo tanto no es el indicador ideal para diagnosticar obesidad. Aunque los cambios en el peso por lo general son secundarios al incremento en la masa grasa, y no es raro encontrar individuos que tengan un IMC normal y exceso de grasa, o individuos con masa grasa normal que

al ser evaluados en función al peso o IMC serían categorizados con sobrepeso u obesidad.

1.2 Síndrome metabólico

Se cuenta con varias definiciones del SM publicadas por diferentes organismos, entre los principales se incluyen la de la OMS [5] y el Grupo Nacional de Educación en Colesterol (NCEP/ATP III) [6]. Recientemente, se reunieron las principales organizaciones, que han definido los criterios armonizados del SM, con el motivo de unificarlos. Esta definición incluye los siguientes criterios: circunferencia de cintura (específica para cada país o población), concentración sérica de triglicéridos (TG) mayor de 150 mg/dl, colesterol-HDL (lipoproteínas de alta densidad) menor de 40 mg/dl en hombres y menor de 50 mg/dl en mujeres, glucosa en ayuno mayor de 100mg/dl, y presión arterial sistólica mayor de 130 mm Hg y diastólica mayor de 85 mm Hg. Se necesita la presencia de al menos 3 de estos criterios para diagnosticar el SM.[7]

De las diferentes definiciones (**tabla 1**) se desprende que el SM, el cual se presenta en cerca de una cuarta parte de la población mayor de 40 años, se caracteriza por alteraciones en el metabolismo de los lípidos (concentraciones bajas de HDL y altas de TG y apoproteína B (apoB)), hipertensión arterial, intolerancia a los hidratos de carbono/ hiperglucemia en ayuno, y obesidad central o visceral [8].

La mayoría de los sujetos obesos cursan con hiperinsulinemia que se asocia con una menor sensibilidad a la acción de la insulina. La resistencia a la insulina (RI) está estrechamente relacionada a la distribución del TA y el grado de obesidad.

La grasa intrabdominal tiene una tasa de recambio mayor, y su actividad lipolítica es alta, lo que estimula la liberación de ácidos grasos (AG) incrementando su flujo a otros órganos como el hígado, páncreas y corazón. En el hígado, la concentración elevada de AG se acumula en forma de TG.

Tabla 1. Comparación de las diferentes definiciones de SM propuestas.

<p>Organización Mundial de la Salud</p>	<p>Diabetes, Glucosa en ayuno anormal, resistencia a la insulina por HOMA y al menos 2 de los siguientes criterios:</p> <ul style="list-style-type: none"> -relación cintura/cadera >0.9 en el hombre y >0.85 en la mujer -TG ≥150 mg/dl o colesterol HDL <35 mg/dl en hombres o <39 mg/dl en mujeres -tasa de excreción de albúmina en orina >20 µg/min -presión arterial ≥140/90 mm Hg
<p>NCEP ATP III</p>	<p>Al menos 3 de los siguientes criterios:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Circunferencia de cintura >102 cm en hombres, >88 en mujeres -TG ≥ 150 mg/dl -colesterol HDL <40 mg/dl en hombres o <50 mg/dl en mujeres -presión arterial ≥ 130/85 mm Hg -glucosa en ayunas ≥ 110 mg/dl
<p>Definición armonizada</p>	<p>Al menos 3 de los siguientes criterios:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Circunferencia de cintura (específica para cada población) -TG ≥ 150 mg/dl -colesterol HDL <40 mg/dl en hombres o <50 mg/dL en mujeres -presión arterial ≥ 130/85 mm Hg -glucosa en ayunas ≥ 100 mg/dl

Además, la hiperinsulinemia estimula la lipogénesis hepática lo que coadyuva a la generación de hígado graso no alcohólico. En el páncreas, la acumulación de AG en forma de TG, disminuye la secreción de insulina, y en el músculo esquelético incrementa la RI.

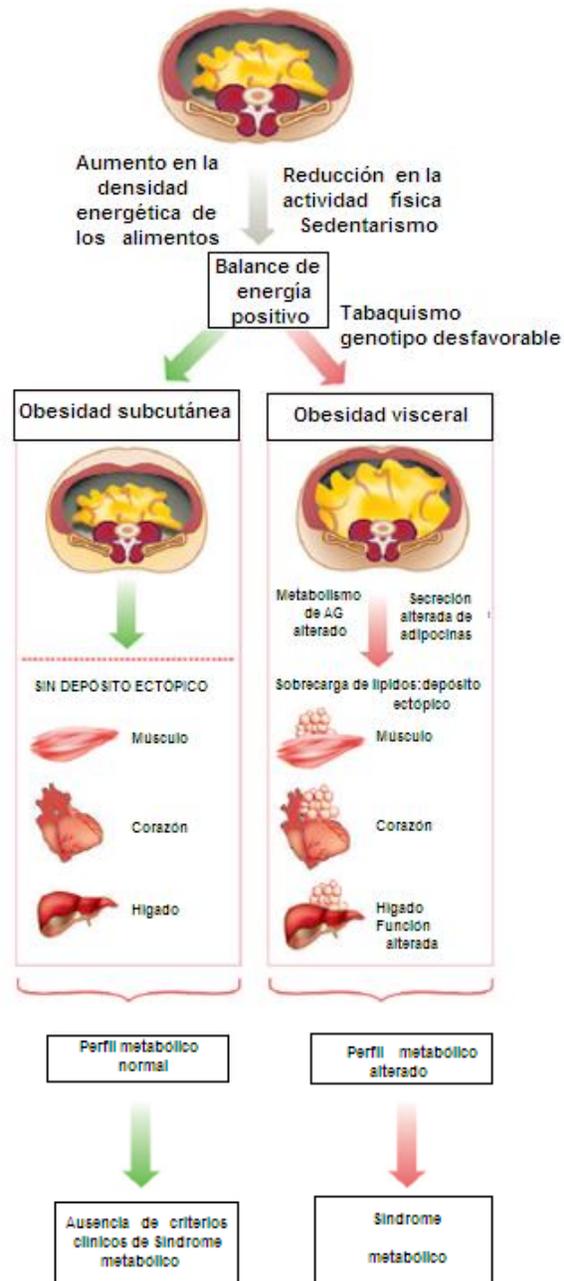


Figura 1. Fisiopatogenia del SM.

La consecuencia de estos procesos es el desarrollo de SM (**figura 1**) y finalmente DM2, que es la enfermedad endocrina más frecuente y que se caracteriza por anomalías metabólicas, con complicaciones macrovasculares y microvasculares a largo plazo.

1.2.1 Polimorfismo R230C del gen ABCA1

Un polimorfismo es un cambio de una base en la secuencia de ADN (ácido desoxirribonucleico), principalmente de regiones codificantes de un gen específico o de sus regiones regulatorias localizadas en su promotor y que se presenta con una frecuencia mayor o igual al 1% en la población. Los polimorfismos más frecuentes son los polimorfismos de un único nucleótido ('SNP', del inglés single nucleotide polymorphism). Los estudios de las interacciones entre genes y ambiente han identificado algunos polimorfismos asociados con la susceptibilidad a la obesidad, inflamación, dislipidemia y estrés oxidativo. [9] Uno de estos polimorfismos se encuentra asociado con la proteína *ABCA1*.

El *ABCA1* (proteína transportadora A1 con una caja que une adenosin trifosfato) se localiza en el cromosoma 9q31.1; es una proteína de membrana que regula el transporte reverso del colesterol a través de las membranas celulares. Este transportador tiene como función el movilizar el excedente de colesterol de las células hacia las lipoproteínas de alta densidad conocidas como HDL, para transportar el colesterol hacia el hígado donde puede ser eliminado a través de la biliar. Las lipoproteínas HDL son las más pequeñas y densas del plasma; además, están formadas por fosfolípidos, colesterol esterificado y no esterificado, y por

apolipoproteínas. Contienen dos principales apolipoproteínas: apoA-I (liganda al *ABCA1*) y apoA-II (que comprende el 70% del componente proteico de la molécula HDL y el 20% de otras apolipoproteínas menores). Se ha demostrado que la variante R230C/C230C, en la cual se produce un cambio en la proteína *ABCA1* en la posición 230 de una arginina por una cisteína, se debe a un polimorfismo en el gen de esta proteína en donde hay un cambio de un nucleótido citosina por timina que se traduce en el cambio del aminoácido en la proteína de arginina (Arg) por cisteína (Cys).[10] La presencia de este polimorfismo se asocia con HDL bajo, obesidad, SM y DM2 (razón de momios: 2.5 $p < 0.001$) particularmente de inicio temprano (≤ 45 años, razón de momios: 3.8 $p < 0.001$) en Mestizos Mexicanos.[11]

1.3 Diabetes Mellitus tipo 2

Se han postulado dos mecanismos a través de los cuales se genera la DM2, el “glucocéntrico” y el “lipocéntrico”. El “glucocéntrico” postula que la combinación de obesidad, RI y pérdida de las células β están implicadas en la patogenia de la DM2, considerada una enfermedad del metabolismo de la glucosa, que debe ser tratada con hipoglucemiantes orales e insulina de ser necesario. Sin embargo, en años recientes ha surgido la hipótesis “lipocéntrica”, en la cual la RI y la pérdida de células β ocurren por mecanismos secundarios a la lesión metabólica generada por el depósito ectópico de lípidos o lipotoxicidad.[12] Han aparecido recientemente diversos trabajos que apoyan esta última teoría. El grupo de Dixon demostró que la pérdida ponderal posterior a la cirugía bariátrica (banda gástrica), se acompaña de remisión de la diabetes en el 73% de los obesos y ésta se asocia

a una disminución de la lipotoxicidad.[13] Desde 1994 Lee y colaboradores demostraron que la lipotoxicidad en la célula β precipitaba la hiperglucemia.[14] Aunque esta bien demostrada la asociación entre la RI y la obesidad, los individuos obesos presentan un aumento en la lipogénesis mediada por la insulina. Por lo que existe una paradoja de que se presente RI en el metabolismo de la glucosa, pero al mismo una adecuada sensibilidad a la insulina para la síntesis de lípidos. La explicación molecular fue reportada en el año 2000 [15], cuando se demostró que la insulina regulaba negativamente al sustrato del receptor de insulina 2 (ISR-2), pero estimulaba la expresión de **SREBP-1c** (Sterol Regulatory Element Binding Protein-1) que es un factor de transcripción que estimula la lipogénesis, lo que explica porque el hígado continua sintetizando AG mientras la RI provoca una disminución en la oxidación de glucosa. La implicación clínica de esta hipótesis en el tratamiento de la diabetes es muy importante, ya que la aplicación de insulina exógena en individuos diabéticos aunado a la producción endógena favorece la lipogénesis empeorando el problema; por lo que el mejor tratamiento es la eliminación del balance energético positivo para reducir los niveles de insulina, la lipogénesis y el depósito ectópico de lípidos con lo que la hiperglucemia descendería gradualmente.

Basados en la información hasta ahora disponible [16], se plantea la siguiente secuencia de mecanismos generados a partir de un balance energético positivo: 1) sobrecarga calórica \rightarrow 2) hiperinsulinemia \rightarrow 3) incremento en la transcripción de SRBEP-1c \rightarrow 4) incremento en la lipogénesis \rightarrow 5) aumento en el TA \rightarrow 6) depósito ectópico de lípidos 7) RI \rightarrow 8) lipotoxicidad de la célula β \rightarrow 9) hiperglucemia.

Desde hace algunos años se han realizado trabajos que demuestran que individuos con grados similares de obesidad tienen diferente riesgo de desarrollar diabetes. Existen sujetos que no son obesos pero que presentan alteraciones metabólicas como si lo fueran: hiperinsulinemia, RI, predisposición a la DM2, hipertensión, dislipidemia y enfermedad coronaria, por lo que se les nombró “metabólicamente obesos” a pesar de tener peso normal.[17]

Por el contrario, existen individuos obesos considerados “metabólicamente sanos”; en nuestro país se ha reportado que el 35.3% de individuos obesos podían considerarse en esta categoría [18]. Aunque la prevalencia puede variar según la definición utilizada ya que aún no está estandarizada y se consideran diferentes variables y/o puntos de corte; no obstante, la insulina en ayuno debe ser considerada en esta definición por estar estrechamente asociada con el perfil cardio-metabólico. [19][20]

Algunos investigadores han descrito que estos individuos tienen menores depósitos ectópicos de grasa en el hígado y músculo, además de menor obesidad visceral que aquellos con RI,[21, 22] mayores concentraciones de adiponectina comparados con obesos con alteraciones metabólicas o concentraciones similares a las de personas con IMC normal lo cual se asocia con el fenotipo del obeso metabólicamente sano.[18] Estos estudios han demostrado que la funcionalidad del TA resulta importante ya que las alteraciones metabólicas en individuos obesos y no obesos se pueden asociar con la capacidad del TA a responder al exceso de energía dietaria, por lo que se ha incrementado el estudio de la fisiología del TA en busca de nuevas oportunidades para su tratamiento.

1.4 Tejido adiposo

El TA cuya unidad funcional es el adipocito tiene un importante papel en el almacenamiento de energía por su capacidad de acumular TG y por constituir un compartimento que protege al resto de los tejidos de la lipotoxicidad. Además, se conoce ahora que el tejido adiposo es un órgano endócrino que libera una gran variedad de hormonas denominadas adipocina, como son la leptina, la adiponectina, la resistina, la proteína de enlace al retinol-4, entre otras como se explicará posteriormente. El TA está distribuido principalmente en compartimientos aunque también lo podemos encontrar de forma aislada entre otros tejidos.

La grasa subcutánea corresponde al 85% de la masa grasa total y 15% se localiza intrabdominalmente. La contribución de la masa grasa visceral o intrabdominal incluye tanto la grasa intraperitoneal (mesentérica y omental) que drena directamente a la circulación portal, y la retroperitoneal cuyo drenaje es a la circulación sistémica. [23]

La obesidad esta caracterizada por un incremento en la masa grasa que resulta del crecimiento de los adipocitos existentes (hipertrofia) y/o del incremento de su número (hiperplasia).

1.4.1 Disfunción del tejido adiposo

La etiología multifactorial de la obesidad comprende factores genéticos, conductuales, de estilo de vida y ambientales (incluyendo programación fetal control del apetito, gasto energético, características de los alimentos consumidos, etc). Su interacción influye en la forma en que será almacenada la energía en el

TA (incremento en el número de adipocitos y de su tamaño) producto de un balance positivo a largo plazo.[24]

La definición de un adipocito funcional aún no se ha establecido claramente, pero esta se refiere a la capacidad de un adipocito de llevar a cabo de manera activa y sincrónica los procesos de lipogénesis, lipólisis, oxidación de ácidos grasos con lo que el organismo puede amortiguar cambios en la cantidad de energía dietaria consumida a lo largo de un día. Además, un adipocito funcional es capaz de liberar adipocinas con la finalidad de mantener el balance de energía al estimular el gasto energético al incrementar principalmente la oxidación de ácidos grasos en tejidos que no son el adiposo. También la liberación de algunas adipocinas promueve el mantener una sensibilidad adecuada sistémica a la acción de la insulina. Finalmente, algunas adipocinas promueven un ambiente anti-inflamatorio, lo que evita el estrés en diversos órganos y tejidos. Cuando un adipocito es incapaz de mantener este balance en sus funciones deja de ser “funcional”, y algunos autores han acuñado el término adipocito disfuncional. El aumento de adipocitos disfuncionales genera la formación de un TA disfuncional. Se han propuesto algunos mecanismos en el desarrollo de la disfunción del TA (**figura 2**): el depósito ectópico de grasa (predominantemente visceral), los cambios en la composición celular del TA (incremento en el número de células inflamatorias especialmente macrófagos), la hipertrofia de los adipocitos, la secreción de adipocinas proinflamatorias y aterogénicas, la hipoxia, el estrés del TA (del retículo endoplásmico, oxidativo y metabólico) que activa las vías de señalización sensibles a estrés en las que están involucradas particularmente las cinasas MAPK (por sus siglas en inglés, protein cinasas activadas por mitógenos), ERK (por sus

siglas en inglés, Extracellular signal-regulated kinases), p38MAPK, JNK (Jun N-terminal kinases), vía IKK (IkappaB kinase)-NFκB (Nuclear factor kappaB) y PKC (Protein kinase C) δ, ε y θ) entre otras, lo cual explica en parte las alteraciones en la fisiopatología asociada con la obesidad.

Estos cambios en las vías de señalización modifican la regulación de la expresión de genes y modificaciones post-traduccionales que alteran la actividad, localización, estabilidad de las proteínas, y la unión a ligandos (receptores). Lo anterior, desencadena cambios funcionales que conllevan a la reducción en la sensibilidad a la insulina, inflamación y alteraciones endocrinas.[25]

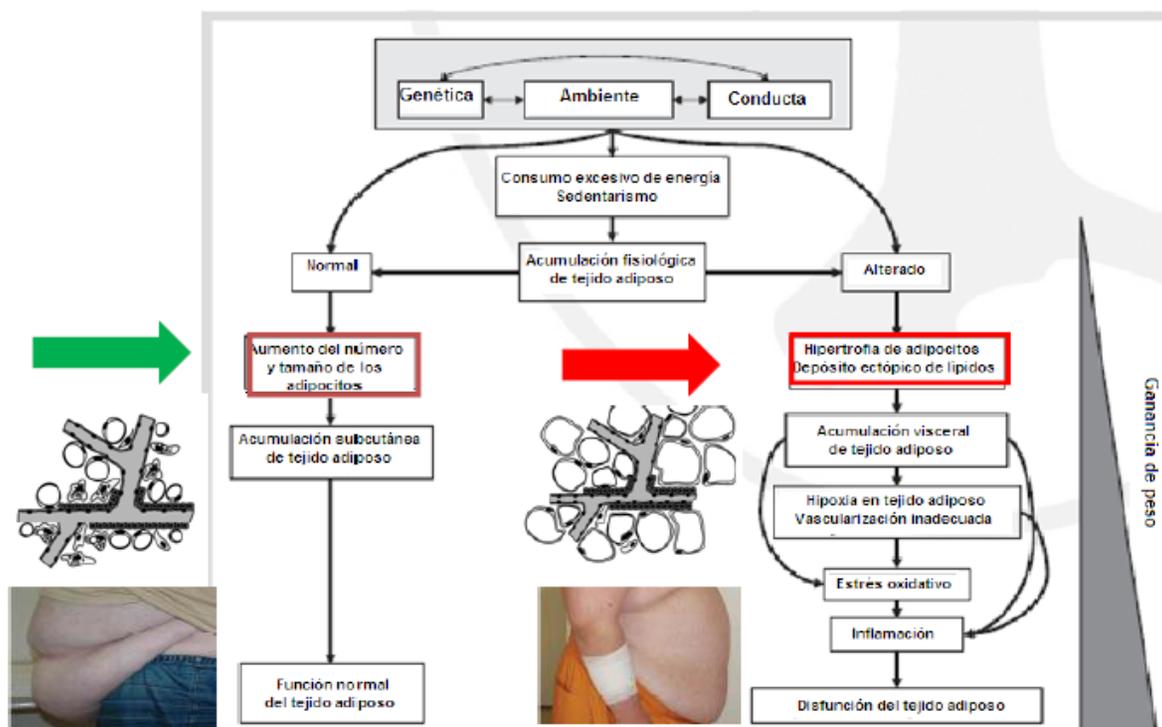


Figura 2. Modelo de patogénesis del TA.

1.4.2 Tejido adiposo como órgano endocrino

Además de almacenar energía, el TA como se ha mencionado secreta diversas adipocinas involucradas con la homeostasis energética ya que afectan directa o indirectamente los mecanismos que regulan la sensibilidad a la insulina. Dentro de las principales adipocinas se encuentra la **adiponectina** que se secreta por los adipocitos maduros, incrementa el depósito de TG preferentemente en el TA, disminuyendo los depósitos en el hígado y músculo.[26] Se ha demostrado que la obesidad se asocia con una disminución de la adiponectina en el TA subcutáneo.[27]

Otra adipocina importante es la **leptina**, cuyo gen *ob* fue clonado en 1994 utilizando ratones *ob/ob*. La leptina regula el proceso de saciedad a nivel hipotalámico y estimula la oxidación de AG en tejidos periféricos, aunque fue considerada inicialmente como la hormona antiobesidad, se ha demostrado su influencia en el metabolismo basal, termogénesis, inmunomoduladora, etc.[28] La expresión y secreción de esta hormona esta regulada por los factores de transcripción PPAR γ (Peroxisome Proliferator Activated-Receptor γ) y C/EBP α (CCAAT/Enhancer-Binding Protein α). El estímulo de la leptina a nivel hipotalámico y sobre tejidos periféricos tiene como función prevenir la acumulación el depósito ectópico de lípidos evitando la lipotoxicidad. Un defecto en su funcionamiento se asocia con la acumulación periférica de TG.[29]

El papel de las adipocinas en la homeostasis de la glucosa se ha estudiado en años recientes; la adiponectina y leptina son capaces de compensar la pérdida de insulina mejorando el control glucémico en ratones a los que se les trasplanta TA pardo, a través de algunos mecanismos que se han propuesto como son la

activación del receptor de insulina por el IGF-1 (Insulin-like growth factor 1) y la disminución de glucagón.[30] Debido a la importancia de los adipocitos que forman el TA y de su funcionalidad, en las últimas dos décadas varios estudios se han llevado a cabo para entender el proceso de diferenciación de los preadipocitos a adipocitos maduros, el cual se conoce como adipogénesis.

1.4.3 Adipogénesis

La adipogénesis es un proceso complejo que se caracteriza por la activación de la expresión de genes que determinan la proliferación y diferenciación de preadipocitos en adipocitos maduros. Danforth y cols propusieron que la alteración en la adipogénesis promueve la lipotoxicidad y RI.[31] Existen diversos factores de transcripción que son la clave de la transición en el desarrollo de un preadipocito (sin capacidad para almacenar lípidos) a un adipocito maduro desde el punto de vista endocrino y paracrino como C/EBP α , PPAR γ y SREBP-1.[32]

La adipogénesis se regula por un balance entre factores locales y endocrinos que la estimulan o inhiben (**figura 3**). La diferenciación de las células mesenquimatosas en una línea en particular se regula por la estimulación de activadores transcripcionales (PPAR γ , la familia CEBP, entre otros) y la supresión de los inhibidores de la adipogénesis (TNF- α (**Factor de Necrosis Tumoral α**), WNT/ β catenina/TCF4 (TransCription Factor 4), NF- κ B (ver figura del mecanismo de adipogénesis).[33, 34] La alteración en la adipogénesis puede estar implicada en la obesidad hipertrófica, independientemente del sexo y la masa grasa total.

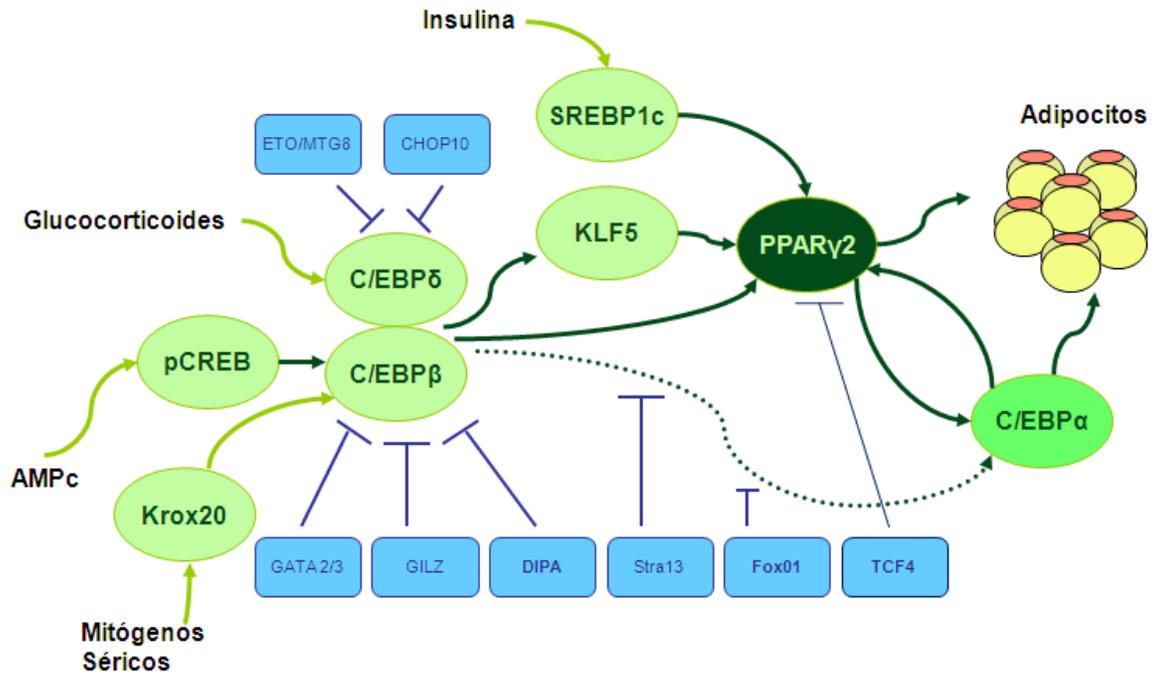


Figura 3. Regulación de la adipogénesis.

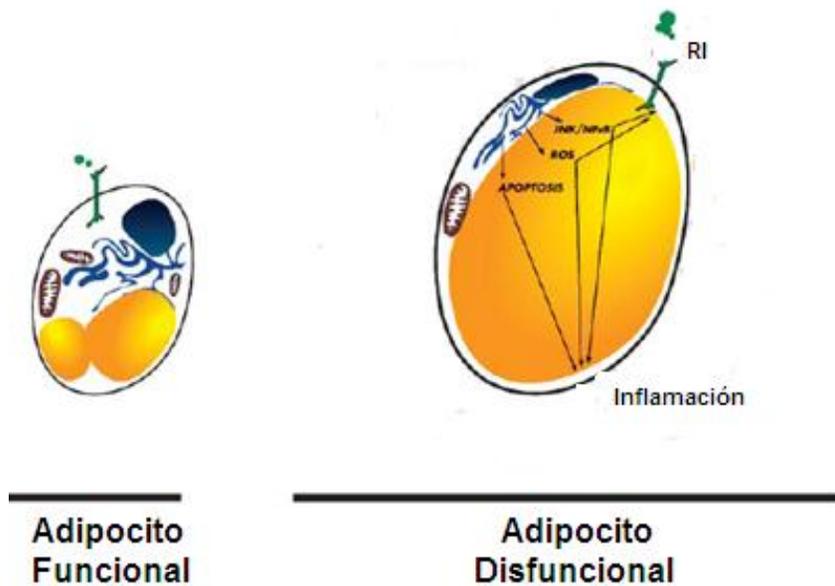


Figura 4. Esquema que muestra la morfología de un adipocito funcional vs disfuncional.

Los adipocitos en sujetos obesos tienen un mayor tamaño (**figura 4**) lo que se relaciona inversamente con la sensibilidad a la insulina en comparación con aquellos sin obesidad. Los sujetos con limitado potencial para la adipogénesis (capacidad de expansión) pueden desarrollar células de mayor tamaño, RI y eventualmente DM2.[31]

1.4.4 Expansión del tejido adiposo

Se ha demostrado que la expansión de la masa grasa en ratones congénitamente obesos mejora el perfil metabólico y que la predisposición al SM está inversamente relacionado con la respuesta adipogénica a la ingestión excesiva de energía[35]. Contrario a la creencia popular entonces, la obesidad podría proteger, al menos temporalmente contra la DM2 y el SM amortiguando los efectos de una ingestión que excede las necesidades energéticas sobre el depósito ectópico de lípidos que genera lipotoxicidad.

En diversas condiciones clínicas asociadas con el SM existe evidencia de resistencia o deficiencia de leptina. Dentro de las causas genéticas están los que ocurren en modelos animales como los ratones *db/db*, *ob/ob*, en los cuales se produce una deficiencia en la producción de leptina o de su receptor, o en otros modelos experimentales o en humanos como la lipodistrofia, donde no hay aparición de tejido adiposo y por lo tanto no hay producción de adipocinas como la leptina. En las causas no genéticas se encuentran la obesidad visceral, el síndrome de Cushing, uso de terapia antirretroviral altamente efectiva en el paciente con síndrome de inmunodeficiencia adquirida, el síndrome de ovario poliquístico y envejecimiento.

Además, en los modelos animales para obesidad y en los pacientes obesos, se presentan casi siempre concentraciones sanguíneas de leptina elevadas. Esto ocurre debido a que estos animales o pacientes obesos no responden a la leptina, generándose resistencia a la acción de la leptina.

El mecanismo propuesto a través del cual se genera resistencia a la leptina es el siguiente: 1) la ingestión excesiva de energía que sobrepasa las necesidades del sujeto conlleva a un balance energético positivo → 2) hiperinsulinemia: regulación positiva de SREBP-1c → 3) lipogénesis (TG almacenados en adipocitos: obesidad) → 4) secreción de leptina que incrementa en proporción con el aumento de la masa grasa → 5) hiperleptinemia que regula negativamente la expresión de SREBP-1c en hígado y activa a la MAPK que incrementa la oxidación de AG en tejidos periféricos y limita el depósito ectópico de lípidos → 6) por la ligera acumulación de AG en músculo ocurre RI e intolerancia a la glucosa, sin lipotoxicidad (hiperleptinemia) → 7) la protección mediada por la leptina disminuye porque existen factores que causan resistencia a su acción, incrementa el depósito de lípidos y ceramidas en tejidos diferentes al adiposo comprometiendo sus funciones y ocasionando apoptosis → 8) SM.[36]

Se han estudiado diversos modelos animales para evaluar el efecto de la expansión del TA en las manifestaciones metabólicas. El uso de ratones con deficiencia de leptina (*ob/ob*) o de su receptor (*db/db*) presentan una expansión en su TA, lo que indica la importancia de esta adipocina en la respuesta del organismo al exceso de energía de la dieta.[37]

Por el contrario al inhibir la expansión del TA con la sobre expresión de adiponectina hay una redistribución de TG de los hepatocitos y miocitos hacia el

TA subcutáneo. Además, incrementa la adipogénesis, se reducen los factores proinflamatorios y por lo tanto, mejora el perfil metabólico a pesar de la obesidad (**figura 5**).[35] Lo anterior, es congruente con la expansión efectiva del TA estimulada por los agonistas de PPAR γ como las tiazolinedionas, mejorando la RI.

Tabla 2. Comparación de los parámetros bioquímicos entre los diferentes modelos animales.

Variable	WT	<i>ob/ob</i>	Ad Tg <i>ob/ob</i>
Glucosa (mg/dl)	92.4 \pm 11.6	313.8 \pm 76.6	100.6 \pm 8.5**
Insulina (ng/ml)	1.83 \pm 0.51*	7.85 \pm 1.02	2.33 \pm 0.53*
TG (mg/dl)	147.2 \pm 27.3*	300.4 \pm 114.2	93.5 \pm 34.5**
AG (mmol/l)	2.05 \pm 0.93	3.13 \pm 0.13	2.56 \pm 0.46

* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$

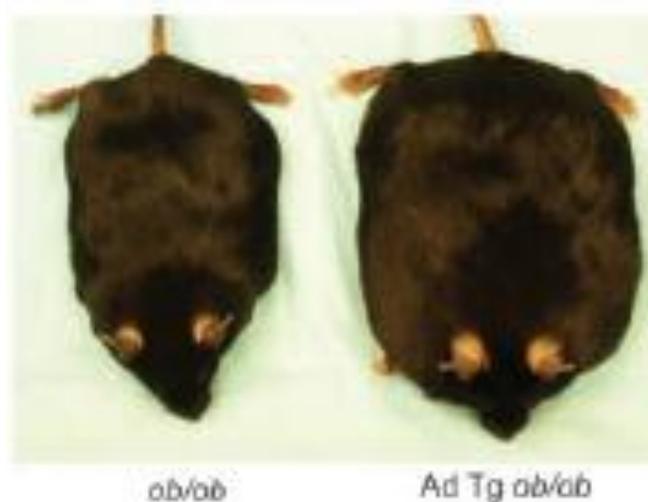


Figura 5. El incremento en la expansión del TA mejora el perfil metabólico. Como se puede observar en la tabla los parámetros séricos en ayuno de animales de 8 semanas de edad del modelo animal Ad Tg *ob/ob* a pesar de tener

significativamente mayor peso como se aprecia en la imagen, existe un perfil bioquímico mejor respecto del modelo *ob/ob*.

Se ha demostrado en ratones carentes del **receptor de leptina** (*db/db*), que si se sobre expresa el receptor de leptina de manera específica en el adipocito, se observa que se disminuye la expansión del TA lo que conlleva a una acumulación ectópica de TG (**figura 6**).[38]

Tabla 3. Comparación entre las variables entre los diferentes modelos animales.

Variabales	WT	<i>db/db</i>	<i>db/db tg</i>
Peso (g)	30.9 ± 1.0*	51.1 ± 3.4*	28.5 ± 5.8
Grasa corporal (g)	8.5 ± 1.4*	24.4 ± 2.8¥	11.2 ± 4.1
Diámetro adipocitos (µm)	17.4 ± 1.4*	55.3 ± 7.9*	25.0 ± 4.5
Glucosa ayuno (mg/dl)	77.6 ± 7.9	106.4 ± 29.3*	271.0 ± 31.2
Insulina (ng/ml)	1.8 ± 0.7§	12.9 ± 5.3	5.8 ± 0.7
TG (mg/dl)	23.2 ± 4.1§	50.7 ± 5.5	62.4 ± 15.1
TG hígado (mg/g)	29.2 ± 0.4*	59.4 ± 2.7	96.9 ± 4.4
TG corazón (mg/dl)	5.2 ± 0.6	5.3 ± 0.7§	7.4 ± 0.7

Comparación WT vs *db/db* y *db/db* vs *db/db tg*
 * $p < 0.001$ ¥ $p < 0.005$ ** $p < 0.01$ § $p < 0.05$

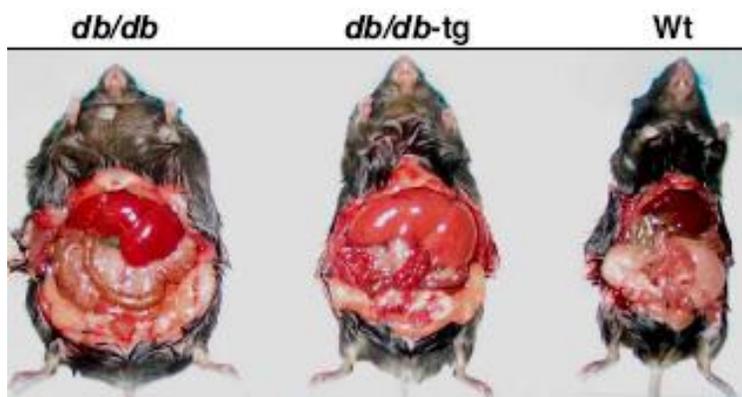


Figura 6. Capacidad adipogénica y susceptibilidad a SM/DM2. Se aprecia que en este modelo animal a pesar del incremento ponderal en los ratones *db/db*, la incapacidad del modelo *db/db-tg* para almacenar TG en el TA condiciona alteraciones metabólicas más graves e infiltración ectópica de TG en hígado, corazón, etc.

1.4.5 Expresión de genes en el TA y su funcionalidad

La funcionalidad del TA y adipocitos se puede evaluar mediante la cuantificación de la expresión de genes. Se ha reportado que individuos obesos (pareados por edad, sexo, IMC y masa grasa) independientemente del IMC o grasa corporal, el incremento en la grasa visceral, la infiltración de macrófagos y el tamaño de los adipocitos es lo que condiciona la RI. Se han evaluado genes relacionados con la inflamación en el TA visceral y subcutáneo demostrando una mayor expresión significativa de: adiponectina, sirt-1 (sirtuin-1), TRAP (Tartrate-resistant acid phosphatase) en grasa subcutánea y en la visceral de HIF-1 (hipoxia-inducible factor 1), MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1), MIF (macrophage

migration inhibitory factor) y csf-1 (colony-stimulating factor 1) lo que favorece la inflamación.[39]

Los sujetos con obesidad mórbida y RI presentan un aumento en la expresión de IL-1 β (interleucina), IL-6, I κ B α (inhibitor of NF- κ B), ERK1/2 y NF κ B que correlacionan con cambios en la expresión de IRS-1 y Akt.[40]

En individuos obesos se ha mostrado alteración en la adipogénesis [41, 42] al documentar menor expresión de STAT5A (signal transducer and activator of transcription) y PPAR γ 2.

También se ha evaluado la expresión de genes involucrados con el metabolismo de lípidos y se ha encontrado una inducción de algunos que favorecen la movilización de TG y AG, y una regulación a la baja en los genes involucrados en la síntesis *de novo* de estos lípidos. Además, se ha observado un incremento en la expresión de PPAR γ , de la acyl-coenzyme A/ colesterol acyl transferasa (CoA), la acuaporina 7 y la TG-lipasa así como una reducción de acetilcoenzima A carboxilasa independientemente de la RI. Los obesos con RI tienen además una menor expresión de la fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPCK: Phosphoenol pyruvate carboxykinase) y la acil-CoA sintetasa con un incremento en la grasa visceral de la expresión de la glicerol cinasa, la lipasa sensible a hormonas y la perilipina.[43]

Toda esta información indica que el TA juega un papel central para que un individuo desarrolle o no RI. Esto sugiere que la capacidad de almacenaje de TG de los adipocitos evaluada a través de la expresión de genes que regulan la respuesta adipogénica, se activa cuando la ingestión de energía es mayor a la

necesaria, lo que da lugar al establecimiento, gravedad de la DM2 y sus comorbilidades cuando aparecen.

La transcripción de SREBP1c tiene lugar de manera importante en el TA y juega un papel fundamental en el desarrollo de los adipocitos maduros incluyendo lo que se asocia con la inducción de PPAR γ , así como la generación de ligandos endógenos para la activación del mismo PPAR γ . Además estimula la expresión de genes críticos en la síntesis de lípidos como aP2 (adipocyte protein 2), PEPCCK, lipoprotein lipasa, adiponectina y del transportador de glucosa GLUT-4.[44]

Por otro lado, **PPAR α** que es un factor de transcripción que regula la oxidación de AG en varios órganos incluyendo al tejido adiposo, y que se regula negativamente por la insulina, tiene un papel central en el metabolismo de los lípidos, ya que estimula la transcripción de genes de la oxidación de ácidos grasos, lo que evita su acumulación en los diversos tejidos incluyendo al adiposo.

Los receptores adrenérgicos en los adipocitos controlan no sólo la hidrólisis de TG, sino también regulan la termogénesis adaptativa y el consumo de energía en el TA marrón al estimular la transcripción de genes como el coactivador-1 de PPAR γ (PGC-1 α), así como de la proteína desacoplante **UCP** (Uncoupling Protein).[45] Estas proteínas interrumpen el flujo electroquímico de la cadena respiratoria generando calor fútil. Interesantemente se ha demostrado recientemente que los humanos en edad adulta tienen TA pardo funcional (activado por la exposición al frío[46] y en condiciones patológicas como el feocromocitoma). La presencia del TA pardo se ha detectado por medio de PET (Tomografía por emisión de positrones) o TAC (tomografía Axial Computada)

asociándose negativamente con el IMC por lo que se ha vislumbrado como un blanco potencial terapéutico de la obesidad el poder diferenciar a los preadipocitos en TA pardo.[47]

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La obesidad y la hiperinsulinemia son los principales factores de riesgo para desarrollar SM y DM2. El adipocito ahora considerado un órgano endocrino juega un papel esencial en el desarrollo de obesidad y RI, debido a que su función se ve regulada por el equilibrio entre las diversas proteínas que secreta como son las adipocinas. Un desequilibrio en su secreción, aunado a la predisposición genética a desarrollar obesidad o DM2 puede dar lugar a que los sujetos tengan mayor o menor susceptibilidad a expandir su TA con las consecuencias metabólicas ya descritas.

3. JUSTIFICACIÓN

La obesidad representa en la actualidad un grave problema de salud pública a nivel mundial. En México, se estima que el 72% de las mujeres mayores de 20 años y 67% de los hombres tienen prevalencias combinadas de sobrepeso y obesidad, con una prevalencia combinada de obesidad mórbida de 2.5%.[48] Como enfermedad crónica, la obesidad forma parte del SM y su desarrollo dependerá de varios factores como son la RI, la secreción de adipocinas y susceptibilidad del individuo a expandir su TA o a presentar DM2. Por lo que es importante estudiar la funcionalidad del TA en sujetos con diferentes grados de

esta enfermedad con o sin RI debido a que los trabajos realizados en humanos son pocos y aún no queda el papel del adipocito en el desarrollo de la obesidad.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Es diferente la expresión del receptor de leptina y de genes adipogénicos como CEBP α y PPAR γ 2 en el TA y adipocitos viscerales de sujetos con y sin RI?

HIPÓTESIS ALTERNA

Los pacientes con RI tienen menor expresión del receptor leptina y menor expresión de genes adipogénicos como CEBP α y PPAR γ 2 en el TA y adipocitos viscerales.

5. OBJETIVOS

General

- Evaluar la asociación entre la RI con la expresión de genes asociados con la adipogénesis y la funcionalidad del adipocito en el TA y en adipocitos viscerales.

Específicos:

- Comparar a los pacientes de acuerdo a la presencia de RI y el diagnóstico de SM en los siguientes parámetros: antropométricos, bioquímicos, el área de los adipocitos y expresión de los genes de interés (PPAR γ 2, CEBP α , adiponectina, leptina y de su receptor; SREBP1, PPAR α , UCP1, TNF α) en el TA y adipocitos viscerales.

- Determinar la correlación de la expresión de los genes descritos con el IMC y HOMA.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Descripción de la población estudiada: La muestra estuvo integrada por pacientes que ingresaron al servicio de Cirugía endocrina del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) y que cumplieron con los siguientes:

6.2 Criterios de selección

Inclusión:

- Edad entre 18 y 60 años
- Ambos sexos
- Paciente, padres y abuelos nacidos en México
- Candidato a cirugía abdominal que involucre peritoneo
 - Pacientes con obesidad mórbida: cirugía bariátrica (bypass gástrico)
 - Enfermos que se someterían a: funduplicatura de Nissen, corrección de acalasia y colecistectomía
- Pacientes que aceptaron participar en el estudio previa firma del consentimiento informado

Exclusión:

- Presencia de sepsis o cáncer
- Embarazo

- Enfermedades que condicionen inmunocompromiso
- Uso de esteroides, inmunosupresores o fármacos que alteren las concentraciones de adiponectina (rimonabant y tiazolidinedionas), durante las seis semanas previas a la toma de muestras.

Eliminación:

- Pacientes en los que no se obtuvo grasa visceral (en caso de que no se realice la cirugía: suspensión, reprogramación o si no se presentó el paciente).
- Retiro del consentimiento informado.

Grupos:

- Sujetos con diferentes IMC: con RI y sin RI

6.3 Variables.

Tabla 4. Definición operativa de las variables de interés.

Variable	Definición	Escala de Medición
Variables dicotómicas		
Sexo	Características físicas, biológicas, anatómicas y fisiológicas de los seres humanos que los definen.	Mujer / hombre
Diagnóstico de RI	HOMA IR ≥ 2.5	Sí/No
Diagnóstico de SM	Presencia de ≥ 3 criterios de la definición armonizada.	Sí/No
Variables cuantitativas discretas		
Edad	Tiempo que ha transcurrido desde su nacimiento hasta la fecha de su inclusión.	años
Variables cuantitativas continuas		
Glucosa sérica	Concentración sérica de glucosa.	mg/dl
Insulina sérica	Medición de insulina plasmática mediante ensayo inmuno-enzimático.	μ U/ml
Colesterol total	Medición de colesterol sérico por medio de colorimetría enzimática.	mg/dl

Variable	Definición	Escala de Medición
HDL	Medición de lipoproteína de alta densidad de colesterol por método de inmuno inhibición.	mg/dl
LDL	Medición de la lipoproteína de baja densidad de colesterol con el método inmuno-químico directo.	mg/dl
TG	Medición de los triglicéridos séricos por el método de colorimetría enzimática.	mg/dl
Presión arterial sistólica	Corresponde al valor máximo de la presión arterial cuando el corazón está en sístole.	mm Hg
Presión arterial diastólica	Corresponde al valor mínimo de la presión arterial cuando el corazón está en diástole.	mm Hg
Adiponectina	Concentración de adiponectina en suero medida por ELISA.	ng/ml
Leptina	Concentración de leptina en suero medida por ELISA.	ng/ml
Proteína C reactiva	Medición en suero, usando el ensayo enzimático por inmuno-absorbancia	mg/dl
IMC	Peso (Kg)/ talla ² (m)	Kg/m ²
Estatura	Distancia entre el vértex y el plano de sustentación en un individuo. Medida con estadímetro.	cm
Peso corporal	Medida que ejerce la gravedad sobre el cuerpo de un individuo, medido mediante una báscula ajustada diariamente. (Detecto Medic Scales Inc. Brooklin NY, USA).	Kg
Circunferencia de cintura	Medida del punto medio entre la cresta iliaca y el arco subcostal, al final de una espiración normal mediante una cinta métrica (Metromex) ajustada milimétricamente.	cm
Masa grasa	Impedancia bioeléctrica con la técnica pie-pie en balanza digital calibrada (e-Body 205).	Porcentaje
Masa magra	Impedancia bioeléctrica con técnica pie-pie en balanza digital calibrada (e-Body 205).	Porcentaje
Expresión de genes	Expresión relativa respecto al gen estructural (LRP10).	Unidades relativas
Área de adipocitos	Usando un programa de análisis de imagen (Leica Q500-1W) que se adaptó a un microscopio (LeicaDMLS).	μm ²

6.4 Descripción de la maniobra

Una vez que se cumplan los criterios de selección:

Previo a la cirugía

- Los pacientes fueron invitados a participar en el protocolo, se les proporcionó la carta de consentimiento informado, se resolvieron sus dudas y en caso de aceptar participar en el estudio el paciente y sus testigos lo firmaron.
- Se obtuvieron los datos relevantes de la historia clínica, (antecedentes, patologías y tratamiento farmacológico), se midieron las variables antropométricas peso y talla con el paciente en posición vertical en el centro de la báscula con espiga de altura, sin zapatos (Báscula marca Detecto Medic Scales Inc. Brooklin NY, USA), calculo del IMC, circunferencia de cintura (medición con cinta métrica flexible marca metromex en el punto medio entre la costilla inferior y la cresta iliaca), y circunferencia de cadera (punto más ancho sobre los trocánteres mayores). A través de impedancia bioeléctrica la masa corporal fue registrada con una precisión de 100g en una balanza digital calibrada (Whole body composition analyzer [e-Body 205], Jawon Medical Co, Ltd.) para determinar el porcentaje de masa magra y grasa.

El mismo día de la intervención quirúrgica por la mañana:

- Se tomó una muestra de sangre de una vena periférica después de 12 horas de ayuno (aproximadamente 16 ml): para la determinación de parámetros bioquímicos (glucosa, insulina, leptina, adiponectina, TG, proteína C reactiva, LDL, HDL, apo A, apoB y colesterol total) y extracción de DNA a partir de sangre total.

Durante la cirugía

Toma de biopsias (≥ 1 g) de TA visceral (epiplón mayor) que fueron transportadas al departamento de fisiología de la nutrición para ser procesadas en un recipiente con solución buffer Krebs Ringer Hepes en frío.

6.5 Medición de parámetros bioquímicos: -Perfil de lípidos: las concentraciones séricas de colesterol total y TG fueron determinadas por métodos enzimáticos (Boehringer Mannheim). El colesterol HDL fue medido después de precipitación de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y LDL por el método de fosfotungstato (Boehringer Mannheim), este último determinado por medición con método inmunoquímico directo. Los coeficientes de variación intra ensayo de colesterol total, TG y colesterol HDL son de 3.5 y 5% respectivamente.

-Glucosa: se analizó por el método de glucosa-oxidasa (Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany).

-Insulina: se utilizó el inmunoensayo enzimático altamente específico (MEIA, Abbott Lab.) con niveles normales en ayuno proporcionados por el fabricante entre 7.1-15.6 $\mu\text{U/ml}$.

-HOMA IR: El modelo de homeostasis llamado HOMA IR (Homeostatic Model Assessment of insulin resistance), constituye una ecuación para evaluar los factores de riesgo para el desarrollo de DM2 y se basa en la premisa de que los niveles circulantes de glucosa e insulina son determinados por un sistema de retroalimentación entre el hígado y la célula β . Se consideran normales valores menores de 2.5.

HOMA = glucosa (mmol/L) x insulina (pg/mL) / 22.5. Al convertir mmol/L a mg/dl de glucosa y pg/ml a μ U/ml de insulina, el HOMA = glucosa ayuno (mg/dl) x insulina ayuno (μ U/ml) / 406.

-Adiponectina plasmática: se determinó su cuantificación mediante método de ELISA (EZHADP- 61K Millipore®, México). El ensayo tiene una sensibilidad de 0.78 ng/ml, coeficiente de variación interensayo de 1.8 a 6.1% e intraensayo de 3 a 8.8%. El anticuerpo usado en este ensayo es específico para adiponectina humana y no cruza con otras citocinas u hormonas.

-Leptina: Se cuantificó mediante método de ELISA (EZHL- 80SK Millipore®, México). La sensibilidad del ensayo es de 0.125 ng/ml, el coeficiente de variación intraensayo es de 2.6 a 6.2% y el coeficiente de variación interensayo de 2.6 a 4.6%.

-Proteína C Reactiva: se determinó mediante inmunonefelometría (CardioPhase hs PCR®). El principio del método se basa en las partículas de poliestireno recubiertas con un anticuerpo monoclonal específico, al mezclarse con muestras que contienen proteína C reactiva forman agregados, los cuales van a dispersar el rayo de luz incidente. La intensidad de la luz dispersada depende de la concentración de la correspondiente proteína en la muestra. Su límite de detección es de 0.175mg/l para una dilución de 1:20. Su coeficiente de variación intraensayo es de 3.1 a 4.4% e interensayo de 2.5 a 5.7%.

6.6 Análisis histológico y determinación dl área de los adipocitos

Posterior a la toma de biopsias (≥ 1 g) de TA visceral (epiplón mayor), se dividió en dos muestras.

- La primera muestra de 100 mg (0.1g) se colocó en un tubo falcon de 10ml con formalina al 10%, se deshidrato en sumergiéndose 3 veces en etanol 100%, 3 veces en xileno y se embebió en parafina. Se realizaron cortes de 4 μm y tiñeron con hematoxilina-eosina para su análisis histológico en el cual se determinó la cantidad, estructura y área de los adipocitos usando un programa de análisis de imagen (Leica Q500-1W) que se adaptó a un microscopio (LeicaDMLS).

6.7 Cuantificación de ARNm

-La segunda muestra de ≥ 900 mg (0.9 g) se utilizó para el aislamiento de adipocitos en presencia de colagenasa (tipo A Roche, Alemania).[49] De los adipocitos aislados y TA visceral restante, se extrajo el ARN (ácido ribonucleico o RNA por sus siglas en inglés) por el método de Chomczynsky y Sacchi[50] seguido de la medición de su concentración y pureza.

El RNA obtenido se sometió a la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR por sus siglas en inglés) en tiempo real de 2 pasos. El primer paso consistió en la síntesis de DNA complementario mediante un RT-PCR. En un volumen final de 22 μl se preparó la mezcla de la reacción la cuál contenía 187 ng de RNA, amortiguador para la transcriptasa reversa (50 mM de Tris HCl pH 8.3, 75 mM de KCl y 3 mM de MgCl_2), 0.4 mM de cada uno de los dNTPs, 0.01 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ de oligonuceótido dT, el cual contiene de 12 a 18 residuos de timina, 0.1M de ditiotreitól, 1 U/ μl de inhibidor de RNAasa y 5 U/ μl de transcriptasa reversa M/MULV. La amplificación se llevó a cabo por 1 hora a 42°C y la inactivación de la enzima se realizó a 94°C por 5 min.

En el segundo paso consistió en la amplificación de los genes de interés con la cuantificación respectiva. La amplificación de los genes se llevo a cabo en 25 μ l de una mezcla de reacción que contenía 1 μ l del RT obtenido anteriormente, 1X de la mezcla maestra (4304437, Applied Biosystems) y 1X del oligonucleótido respectivo (Applied Biosystems). La mezcla se colocó en tubos ópticos y estos en la placa termocicladora del sistema de detección ABI Prism 7000 (Applied Biosystems). La cuantificación del gen de interés tiene lugar gracias al uso de dos oligonucleótidos delimitantes de cierta frecuencia y a una sonda complementaria a una parte de la secuencia a amplificar; la sonda en uno de sus extremos tiene unido un fluoróforo y en el otro extremo un apagador que absorbe la energía emitida. Cuando la reacción de amplificación comienza, la acción exonucleasa de la polimerasa rompe la unión de cada nucleótido de la sonda separando el apagador, esto ocasiona que el fluoróforo comience a emitir su fluorescencia; por lo tanto, la acumulación del producto amplificado es detectada directamente monitoreando el aumento en la fluorescencia.

Se realizó el rango dinámico de concentración de RNA para cada gen para conocer la concentración óptima de RNA en la reacción al realizar la validación en TA (diluciones, curva estándar, delta CT) (Ver **gráficas 7-9** que muestra al gen estructural y CEBP α como ejemplo de los genes de interés). Se utilizaron concentraciones de RNA de 3000, 1500, 750, 375, 187, 93, 46, 23 y 11 ng. Para todos los genes se concluyo que la concentración óptima era la de 187 ng que fue utilizada en las determinaciones pues permitía detectar los cambios de expresión en un rango adecuado. El gen estructural usado fue LRP10 (Low-density lipoprotein receptor-related protein 10). Los receptores de lipoproteínas de baja

densidad (LDLR) relacionados con la proteína (LRP) sirven como correceptores de las proteínas Wnt, junto con los receptores Frizzled, lo que provoca la activación de la señalización de Wnt/beta-catenina. La vía de señalización Wnt desempeña un importante papel en la diferenciación, proliferación y en las funciones de muchas células; además en el desarrollo, crecimiento, y en los procesos homeostáticos en animales. [51]

En la curva de amplificación se determinó el ciclo al corte (Ct) y se determinó el valor de la expresión. Los valores obtenidos fueron normalizados dividiéndolos entre el valor de amplificación del gen estructural y se tomó como control al sujeto con IMC normal y sin ningún criterio de SM.

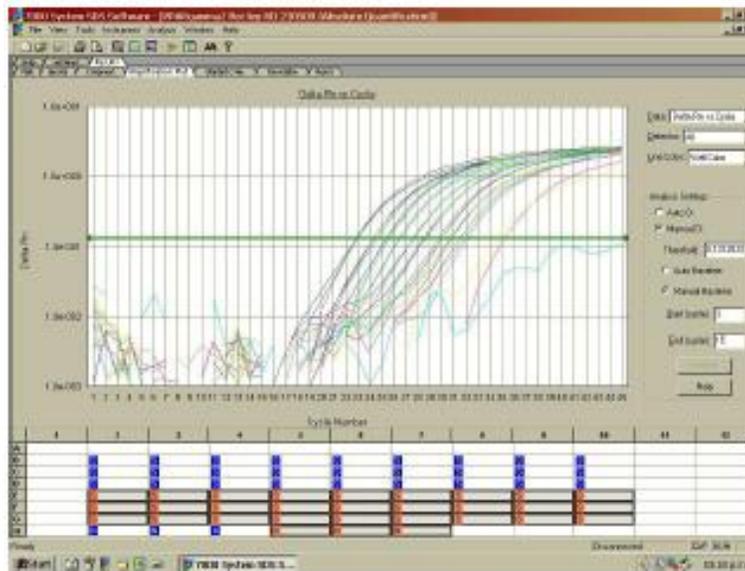
Expresión relativa=

$$\frac{[(E \text{ gen blanco})^{\Delta Ct1 (\text{control-muestra})}]}{[E \text{ gen referencia}]^{\Delta Ct2 (\text{control-muestra})}}$$

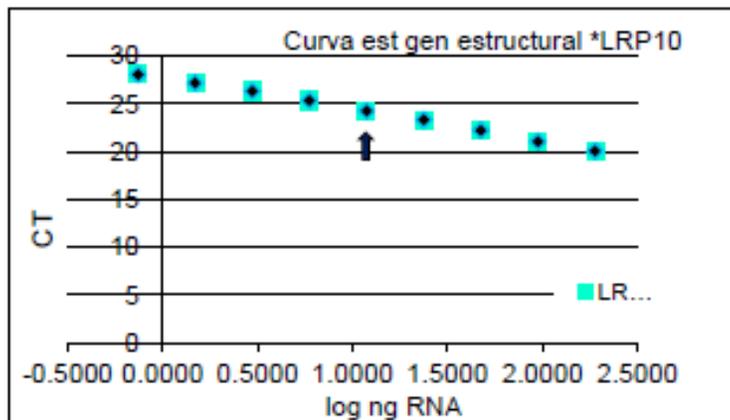
Los genes analizados y el número de ensayo TaqMan se enlistan a continuación:
LRP10 (Hs00204094_m1), SREBP1c (Hs01088691_m1), PPAR γ 2 (Hs01115510_m1), CEBP α (Hs00269972_s1), UCP1 (Hs00222453_m1), PPAR α (Hs00947539_m1), adiponectina (Hs00605917_m1), leptina (Hs0174877_m1), receptor de leptina (Hs00174497_m1) y TNF α (Hs0074128_m1).

Dilución	ng RNA	log ng RNA	CT gen	SD gen
3000	190	2.2788	20.0584	0.187
1500	95	1.9777	21.0681	0.027
750	47.5	1.6767	22.2355	0.058
375	23.75	1.3757	23.3234	0.062
➔ 187	11.875	1.0746	24.2615	0.055
93	5.9375	0.7736	25.3459	0.042
46	2.96875	0.4726	26.3273	0.071
23	1.484375	0.1715	27.1933	0.084
11	0.7421875	-0.1295	28.0681	0.174

A



B



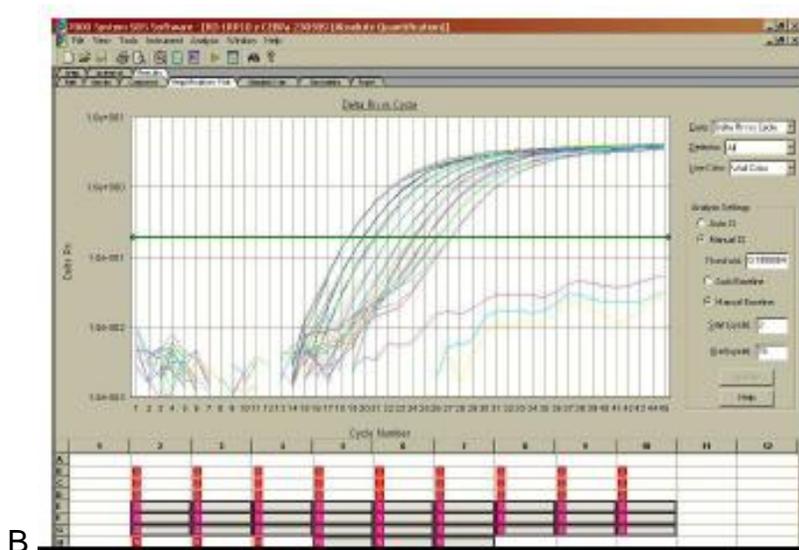
C

Figura 7. Validación en TA del gen LRP10 (estructural): rango dinámico.

En el panel A se muestran las diferentes diluciones que se utilizaron para elegir la concentración adecuada de ARN para el ensayo. Panel B Curva de rango dinámico. Panel C, curva estándar en la cual se muestra la relación del CT y las diferentes concentraciones de ARN.

Dilución	ng RNA	log ng RNA	CT gen	SD gen	CT estructural	SD estructural	delta CT
3000	190	2.2788	18.6149	0.006	20.0584	0.187	-1.4435
1500	95	1.9777	19.8824	0.03	21.0681	0.027	-1.1857
750	47.5	1.6767	20.7576	0.135	22.2355	0.058	-1.4779
375	23.75	1.3757	22.0434	0.021	23.3234	0.062	-1.28
➔ 187	11.875	1.0746	23.1583	0.016	24.2615	0.055	-1.1032
93	5.9375	0.7736	24.1029	0.106	25.3459	0.042	-1.243
46	2.96875	0.4726	25.1778	0.046	26.3273	0.071	-1.1495
23	1.484375	0.1715	26.0216	0.101	27.1933	0.084	-1.1717
11	0.7421875	-0.1295	27.2176	0.064	28.0681	0.174	-0.8505

A



B

Figura 8. Validación en TA del gen CEBP α : rango dinámico.

En el panel A se muestran las diferentes diluciones que se utilizaron para la obtención de la concentración adecuada de ARN para el ensayo del gen de interés (CEBP α) respecto al estructural (LRP10). Panel B Curva de rango dinámico.

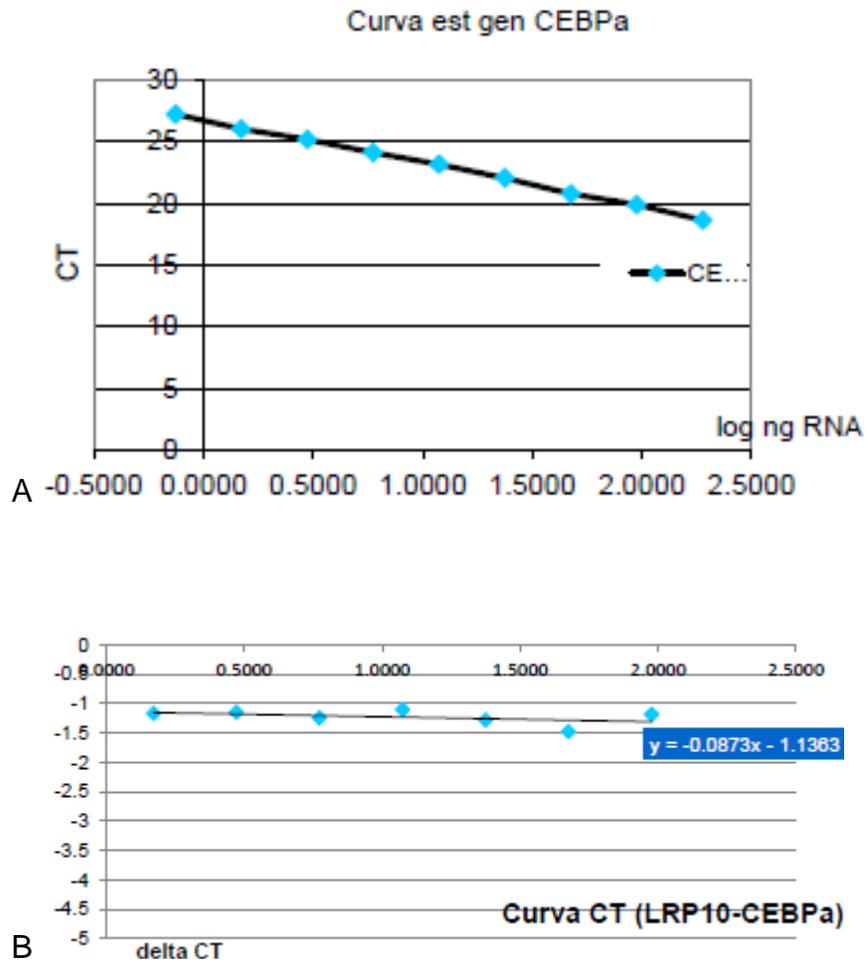


Figura 9. Validación en TA del gen CEBPα: curva estándar y delta CT.

Panel A, curva estándar en la cual se muestra la relación del CT y las diferentes concentraciones de ARN. Panel B, Curva CT en la que se observa que se mantiene la relación entre el gen estructural y gen de interés (CEBPα) al evaluarla con diferentes concentraciones de ARN.

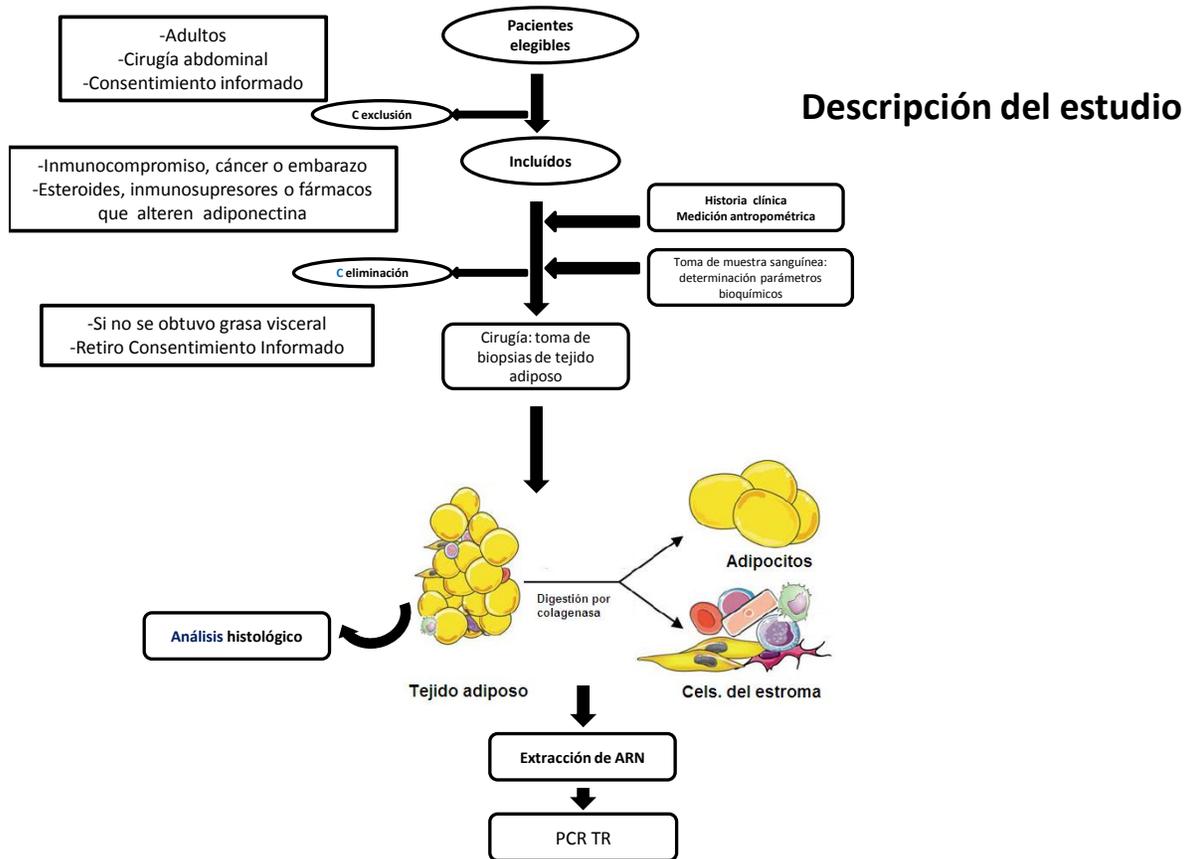


Figura 10. Esquema general del estudio.

6.8 Análisis del polimorfismo R230C en el gen ABCA1

El análisis de este polimorfismo se efectuó en muestras de sangre total que se colectaron utilizando como anticoagulante el ácido etilendiamino-tetra-acético (EDTA).

6.8.1 Aislamiento del ADN mediante el método de fenol-cloroformo

Se tomó 1ml de la muestra de sangre total congelada con EDTA a -80 °C. Se agregó 0.8ml de buffer SSC 1X y, luego, se puso en un tubo eppendorf de 1.5ml

para, finalmente, mezclarlo. Se centrifugó, durante 1 minuto, a 12 000 rpm en la microcentrífuga y se removió 1ml del sobrenadante.

Se añadió 1ml de buffer SSC 1X, se agitó con vortex y centrifugó a 12 000 rpm durante 1min. Se removió todo el sobrenadante.

Se agregó 375 µl de acetato de sodio 0.2M a cada tubo y se mezcló brevemente con vortex (30 segundos). Se añadió 25 µl de SDS al 10% y 5 µl de proteínasa K (20mg/ml H₂O) (Sigma P-0390). Se mezcló 30 segundos con vortex e incubó durante 1 hora a 55° C.

Después de esto, se agregó 150 µl de fenol cloroformo (alcohol isoamílico) y se mezcló durante 30 segundos con vortex. Centrifugó la muestra por 2 minutos a 12000 rpm.

Se removió cuidadosamente la fase acuosa y se colocó en un nuevo tubo eppendorf de 1.5 ml (el precipitado que se formó se desechó). Se Agregó 1ml de etanol frío al 100%, se mezcló por inversión e incubó por 15 minutos a – 20° C.

Una vez transcurrido dicho tiempo, se centrifugó durante 2 minutos a 12 000 rpm, se decantó el sobrenadante y se dejó escurrir unos segundos a fin de asegurarse que la pastilla quedará seca al descartar.

Posteriormente, se agregó 180 µl de buffer TE 10:1, se mezcló por inversión e incubó a 55° C por 10 minutos. Se añadió 20 µl de NaCl 5M y mezcló por inversión. Se agregó 1 ml de etanol absoluto frío, se mezcló y centrifugó durante 2 minutos a 12 000 rpm.

Se decantó el sobrenadante y se lavó la pastilla con 1 ml de etanol al 70%.

Se decantó nuevamente el sobrenadante, se secó la pastilla por 20 minutos en un termoblock a 55° C. Se resuspendió la pastilla agregando 200 µl de buffer TE 10:1

e incubó durante toda la noche a 55° C, mezclando por inversión periódicamente para disolver el ADN genómico. Posteriormente, luego de terminar el aislamiento de ADN, se efectuó la cuantificación de este y se determinó la pureza del ADN. Para finalizar se efectuó una dilución para alcanzar la concentración de 15 µg/ml.

6.8.2 Detección de polimorfismos por discriminación alélica en PCR TR

Para detectar la presencia de SNP en los genes, se utilizaron ensayos taqman de discriminación alélica *ABCA1* (rs9282541).

El PCR TR, permite discriminar dos secuencias SNP en una mezcla de ADN, utilizando fluoróforos anclados a una cadena corta de ADN complementaria (sonda). Esta es detectada por un láser que captura la intensidad de luz y la traduce en forma gráfica. La sonda se compone de dos fluoróforos diferentes y de un apagador (A) que captura la luz emitida específica por cada fluoróforo. Cuando la muestra de ADN posee solo el alelo 1, la sonda para el alelo 1 se une al gen y libera el fluoróforo uno; esto se traduce como homocigoto. Cuando la muestra de ADN posee solo el alelo 2, la sonda para el alelo 2 se une al gen y libera el fluoróforo dos; esto se traduce como homocigoto 2 (**figura 11-A y 11-B**). Si la muestra posee ambos alelos, las dos sondas se unen al gen y liberan ambos fluoróforos; esto se traduce como heterocigoto (**figura 11-C**).

Al final de la PCR, un láser recopila un espectro de fluorescencia, con las combinaciones de las emisiones de fluorescencia y algoritmos del software, y produce un diagrama de dispersión de componentes alélicos específicos de cada reacción (**figura 12**), en donde los cuadros grises representan al control o NTC,

los rombos azules a los homocigotos para el polimorfismo, los triángulos verdes a los heterocigotos y los círculos rojos: a los homocigotos para el alelo silvestre.

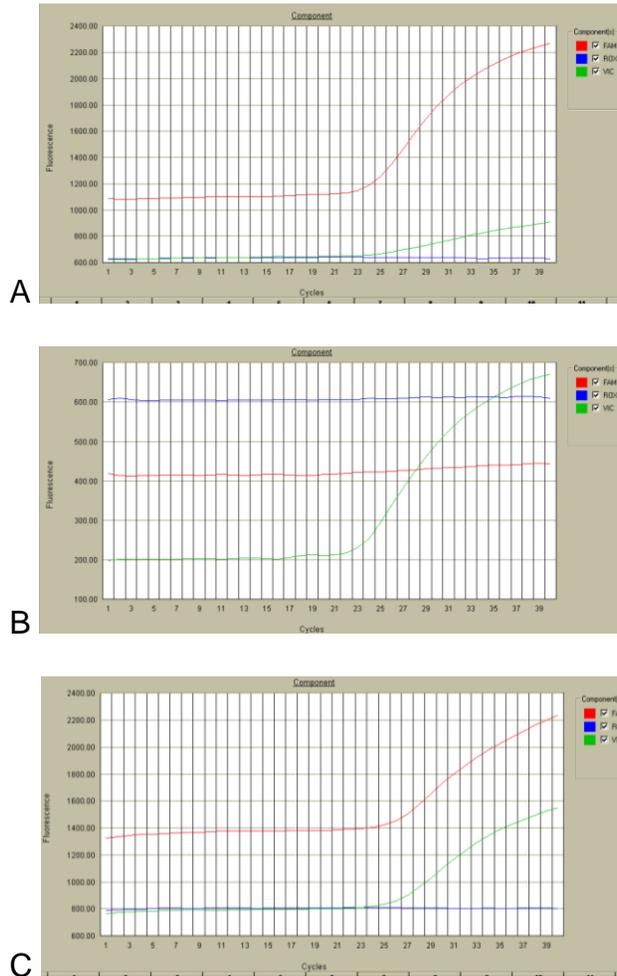


Figura 11. Análisis de discriminación alélica para la determinación del polimorfismo R230C del gen ABCA1.

La curva de amplificación se llevó a cabo por medio de ensayos Taqman en donde la curva de amplificación del alelo no común se identifica como la línea roja y la del alelo silvestre o común como la línea verde. En el panel A se observa sin detección del alelo común por lo que en este caso se concluye que se trata de un individuo homocigoto para el polimorfismo. En el panel B por el contrario no se

expresa el alelo de polimorfismo, sólo el silvestre lo que indica que es un sujeto homocigoto para el alelo común.

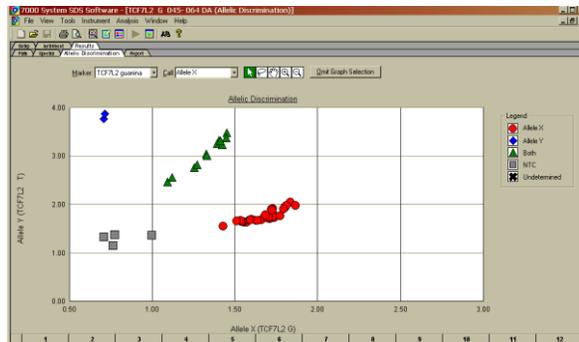


Figura 12. Detección del polimorfismo: discriminación alélica.

Se aprecia con los rombos azules un individuo (se realiza el ensayo por duplicado) homocigoto para el polimorfismo, con los círculos rojos individuos homocigotos para el alelo silvestre y con los triángulos verdes los heterocigotos.

6.8.3 Equilibrio de Hardy-Weinberg

Al evaluar polimorfismos es necesario conocer el principio de Hardy-Weinberg (H-W) que establece que, después de una generación de apareamientos al azar, las frecuencias genotípicas de un solo locus pueden ser representadas por una función binomial (2 alelos) o multinomial (varios alelos) de las frecuencias alélicas. Si no actúan las fuerzas evolutivas, las frecuencias alélicas se mantienen.

En consecuencia, se puede decir que una población se encuentra en equilibrio de H-W cuando las frecuencias alélicas de la siguiente generación no cambian; es decir, cuando permanecen en equilibrio constante. Este principio fue determinado por 'chi' cuadrada de bondad de ajuste para comprobar si los alelos observados

eran diferentes de los esperados y, de esta manera establecer el equilibrio de H-W.

6.9 Análisis estadístico

Se calcularon las medidas de tendencia central y dispersión en las variables continuas; en las nominales las frecuencias y proporciones. Para evaluar el tipo de distribución de las variables continuas se utilizaron las pruebas de sesgo, curtosis y Kolmogorov-Smirnov. Como medidas de asociación se obtuvieron los coeficientes de Spearman y Pearson entre variables ordinales y continuas respectivamente. Para comparar los grupos de variables categóricas se usaron como pruebas de hipótesis la ji cuadrada (X^2) y la de la probabilidad exacta de Fisher según el tipo de distribución; t de Student o la U de Mann-Whitney para comparar 2 grupos de datos cuantitativos y ANOVA o Kruskal Wallis para comparar más de 2 grupos. El nivel de significancia se consideró < 0.05 (dos colas). Se usó el paquete estadístico SPSS versión 12.0.

Tamaño de muestra: para estudiar la expresión génica de factores de transcripción y proteínas involucradas en la funcionalidad del adipocito se consideró un 30% de cambios de expresión génica global, un poder del 80% y un error alfa de 0.05 obteniendo una $n=23$ pacientes por grupo.[43]

6.10 Aspectos éticos del estudio

El protocolo de investigación fue aprobado por el Comité Institucional de Investigación Biomédica en humanos del INCMNSZ. Todos los pacientes incluidos

en el estudio firmaron el consentimiento bajo información previa, que al igual que el protocolo siguió los lineamientos de protección a pacientes que participan en estudios de investigación de acuerdo con la Ley General de Salud de la República Mexicana y la Declaración de Helsinki.

7. RESULTADOS

7.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES

Se incluyeron 115 pacientes, 68 mujeres (59%) y 47 hombres (41%); la edad promedio fue de 40 ± 10 años. Se sometieron a cirugía bariátrica (bypass gástrico) 59 de ellos (51%) y el resto fueron operados de funduplicatura tipo Nissen, cardiomiectomía tipo Heller y colecistectomía. En la **tabla 5** se aprecian las características demográficas, antropométricas y parámetros bioquímicos de todos los pacientes incluidos.

A continuación se describen los resultados del análisis de los pacientes basados en: 1) el IMC, y a la presencia o ausencia de 2) RI, 3) SM y 4) del polimorfismo R230C del gen *ABCA1*.

7.2 ÍNDICE DE MASA CORPORAL

Según la clasificación del estado de nutrición de la OMS acorde a su IMC, 22 (19%) pacientes tenían peso normal; 27 (24%) sobrepeso; 8 (7%) obesidad grado 1; 4 (3%) grado 2 y 54 (47%) obesidad mórbida.

En la **figura 13** se observa que existe una relación entre los terciles de IMC y el porcentaje de grasa y que hubo una diferencia significativa entre los grupos de pacientes. En la **figura 14** se observa que existe una asociación significativa entre

la circunferencia de cintura y los terciles según el IMC (<28.3 kg/m²: tercil 1, 28.3-44 kg/m²: tercil 2 y >44 kg/m²: tercil 3). Lo anterior muestra que al incrementar el IMC también lo hace el porcentaje de grasa y circunferencia de cintura que traduce el acúmulo visceral del TA.

Tabla 5. Características de los pacientes estudiados.

Variable	n= 115
Género (F/M)	68/47
Edad (años)	40 ± 10 (18 – 65)
IMC (kg/m²)	38.0 ± 13.4 (19.4 – 78.7)
Masa grasa (%)	41.8 ± 11.7 (13.2 – 61.1)
Área adipocitos (µm²)	3831 ± 3949 (1290 – 37970)
Glucosa (mg/dl)	97 ± 16 (63 – 155)
Insulina (µUI/ml)	16 ± 13 (1 –82)
HOMA IR	4.0 ± 3.2 (0.3 – 17.6)
Triglicéridos (mg/dl)	174 ± 92 (38 –513)
Colesterol total (mg/dl)	182 ± 37 (70 – 271)
HDL (mg/dl)	39 ± 12 (16 – 81)
LDL (mg/dl)	107 ± 30 (33 – 186)
Apo A (mg/dl)	133 ± 32 (60 – 273)
Apo B (mg/dl)	98 ± 24 (37 - 154)
Adiponectina (ng/ml)	9.0 ± 4.0 (4 – 28)
Leptina (ng/ml)	46 ± 4 (4 -28)
PCR (mg/dl)	5.0 ± 4.0 (0.1 – 19.3)
Media ± DE (min-max)	

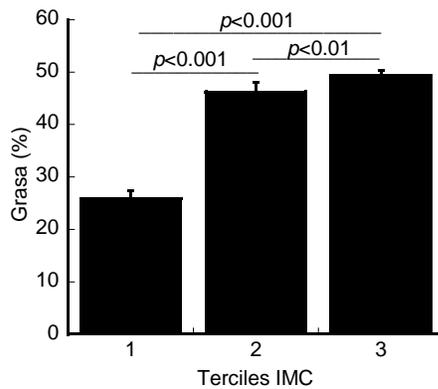


Figura 13. Comparación del porcentaje de grasa corporal de los grupos de pacientes de acuerdo a los terciles de IMC. Al aumentar el IMC existe un incremento en el porcentaje de grasa corporal entre los diferentes grupos.

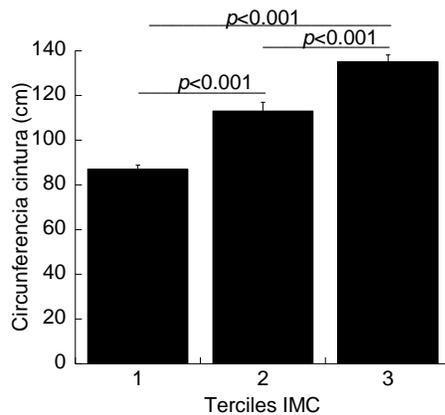


Figura 14. Comparación de la circunferencia de cintura de los grupos de pacientes de acuerdo a los terciles de IMC. Observamos que la circunferencia de cintura aumenta progresivamente al incrementar el IMC reflejando mayor adiposidad visceral.

En la **figura 15** se observa que existe correlación positiva ($\rho=0.64$, $p<0.001$) entre el IMC y el HOMA-IR, como se puede observar a mayor IMC incrementa el HOMA-IR que indica aumento en la RI. En la **figura 16** se observa que existe una correlación positiva entre el IMC y la insulina ($\rho=0.67$, $p<0.001$).

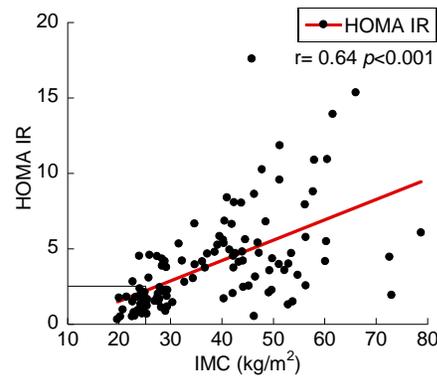


Figura 15. Correlación entre el IMC y HOMA-IR. En esta gráfica se aprecia que al aumentar el IMC lo hace también el valor de HOMA IR que expresa la pérdida de la acción de la insulina.

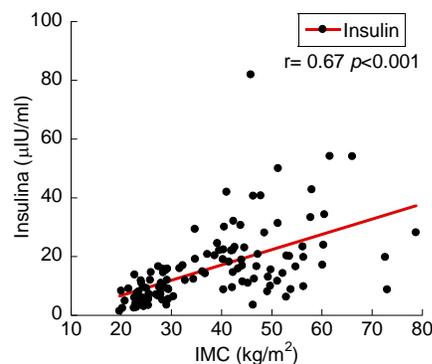


Figura 16. Correlación entre el IMC e insulina sérica. La gráfica muestra que el incremento en el IMC está relacionado con el aumento en la concentración de insulina sérica.

En la **figura 17**, se observa que al dividir a los pacientes en grupos según los terciles del IMC se corroboran las diferencias significativas entre el primero y segundo tercil, así como entre el primero y tercer tercil.

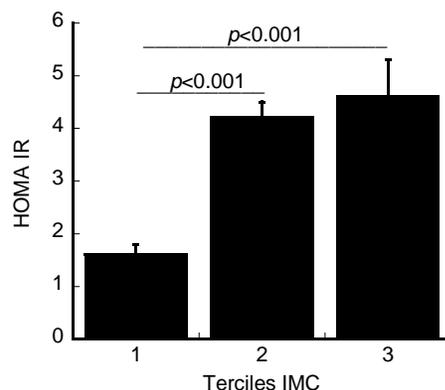


Figura 17. Comparación del valor de HOMA-IR de los grupos de pacientes de acuerdo a los terciles de IMC. En esta gráfica observamos claramente las diferencias que existen en el valor de HOMA IR entre los pacientes con $IMC < 28.3$ kg/m^2 que corresponde al tercil 1, y los pacientes con mayor IMC incluidos en el tercil 2 y 3.

En la **figura 18** también se observa que existe diferencia en la concentración de insulina sérica entre los pacientes divididos de acuerdo al IMC, entre el tercil 1 respecto al tercil 2 y 3. En la **figura 19**, se puede observar que existe una asociación entre las concentraciones de proteína C reactiva y el tercil 3 de IMC que corresponde a >44 kg/m^2 , lo que indica que la obesidad se asocia significativamente con la PCR.

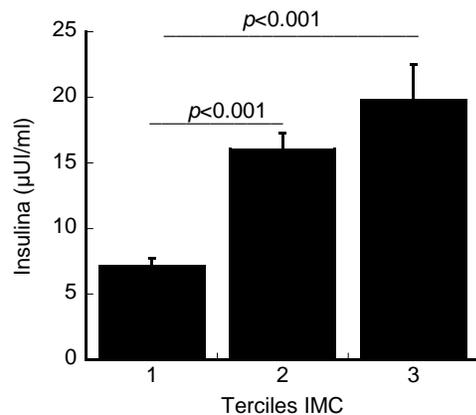


Figura 18. Comparación de insulina sérica de los grupos de pacientes de acuerdo a los terciles de IMC. Se aprecian las diferencias en la concentración de insulina sérica entre los pacientes del tercil 1 respecto al tercil 2 y 3.

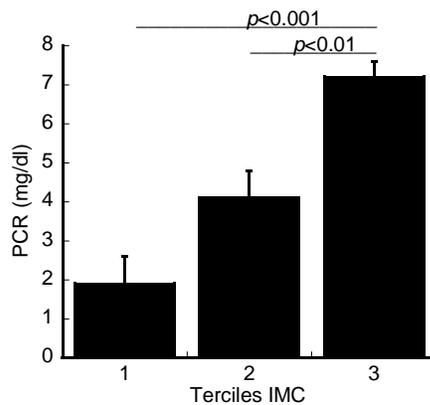


Figura 19. Comparación de la concentración de proteína C reactiva de los grupos de pacientes de acuerdo a los terciles de IMC. En esta gráfica apreciamos que los pacientes con mayor IMC tienen una concentración sérica de proteína C reactiva significativamente más alta respecto a los terciles 1 y 2.

En la **figura 20**, se aprecia la correlación positiva entre la concentración de leptina sérica y el IMC ($\rho=0.87$, $p<0.001$), con la consecuente diferencia entre los terciles de IMC y las concentraciones de leptina (**figura 21**).

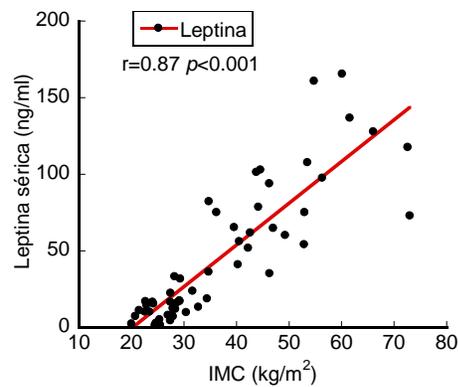


Figura 20. Correlación entre el IMC y la leptina sérica. En esta gráfica observamos que al incrementar el IMC lo hace también la concentración de leptina sérica con una muy buena correlación entre estos 2 parámetros.

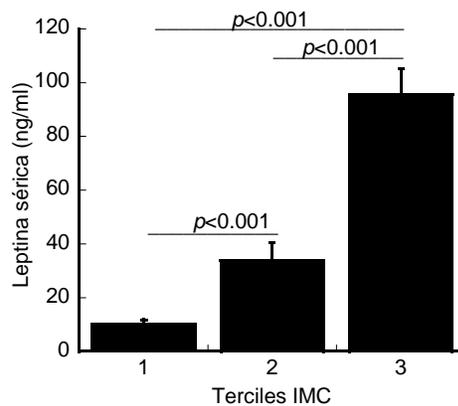


Figura 21. Comparación de la concentración de leptina sérica de los grupos de pacientes de acuerdo a los terciles de IMC. La gráfica muestra que es diferente la concentración sérica de leptina entre todos los grupos de pacientes cuando son agrupados según el tercil de IMC al que pertenezcan.

7.3 RESISTENCIA A LA INSULINA

Se clasificó a los pacientes de acuerdo al valor de HOMA-IR en resistentes o no resistentes a la insulina. Se considero sin RI o no-RI con un valor de menos de 2.5 y con RI con valor ≥ 2.5). El 42% (n=49) de los sujetos incluidos se consideraron no-RI, 27 mujeres y 22 hombres; 33 pacientes (67% de este subgrupo) presentaba obesidad y 16 tenían peso normal o sobrepeso. Del 58% restante (n=66) que se clasificaron como RI, 41 individuos fueron mujeres y 25 hombres; 59 pacientes (89% de este subgrupo) tenían obesidad y 7 peso normal o sobrepeso.

La **tabla 6** muestra la comparación de los parámetros bioquímicos y antropométricos de los pacientes sin y con RI. Existen diferencias significativas entre ambos grupos, aquellos pacientes con RI tuvieron mayor IMC (44.2 ± 11.8 vs 29.8 ± 10.9 kg/m²), porcentaje de grasa corporal (48.7 ± 6.5 vs 33.6 ± 11.2), concentraciones de glucosa (104 ± 16 vs 88 ± 11 mg/dl), insulina (23.2 ± 12.8 vs 6.8 ± 2.7 μ UI/ml) y leptina sérica (69.4 ± 45.4 vs 21.1 ± 24.8 ng/ml) ($p < 0.001$).

Se observa en la **figura 22** que este último parámetro es significativamente diferente entre los grupos 1 y 2, además entre el primero y segundo tercil del valor de HOMA-IR evaluado (<2.0: tercil 1, 2-4.5: tercil 2 y >4.5: tercil 3).

El área de los adipocitos viscerales de pacientes con RI es mayor respecto al grupo de sujetos sin RI como se aprecia en **la figura 23** (media 4769 ± 4390 vs 3061 ± 1506 μ m²) y la PCR también se encontró aumentada respecto al grupo sin RI (5.7 ± 3.0 vs 4.0 ± 4.4 mg/dl) ($p < 0.005$).

Tabla 6 .Comparación de las variables clínico antropométricas y bioquímicas de sujetos sin y con RI.

Variable	Sin resistencia a la insulina (n= 49)	Con Resistencia a la Insulina (n= 66)	Valor p
Género (F/M)	27/22	41/25	NS*
Edad (años)	41 ± 10 (34 – 49)	39 ± 11 (31 – 44)	NS
IMC (kg/m²)	29.8 ± 10.9 (23.5 –29.4)	44.2 ± 11.8 (35.8 – 51.5)	< 0.001
Masa grasa (%)	33.6 ± 11.2 (25 – 46.1)	48.7 ± 6.5 (45.5 – 53.7)	< 0.001
Área adipocitos (µm²)	3061 ± 1506 (1830 – 4064)	4769 ± 4390 (2871 – 5256)	< 0.005
Glucosa (mg/dl)	88 ±11 (63 – 135)	104 ± 16 (80 – 155)	< 0.001
Insulina (µUI/ml)	6.8 ± 2.7 (1.4 –12)	23.2 ± 12.8 (9.8 – 81.9)	< 0.001
HOMA IR	1.6 ± 0.6 (0.9 – 2.0)	5.4 ± 3.2 (4.0 – 6.7)	< 0.001
Triglicéridos (mg/dl)	183 ± 113 (38 –513)	167 ± 74 (54 – 459)	NS
Colesterol total (mg/dl)	189 ± 39 (70 – 271)	176 ± 34 (94 - 254)	NS
HDL (mg/dl)	41 ± 14 (16 – 81)	38 ± 10 (16 – 68)	NS
LDL (mg/dl)	110 ± 31 (39 – 186)	104 ± 30 (33 – 177)	NS
Apo A (mg/dl)	134 ± 36 (60 – 273)	133 ± 29 (83 -232)	NS
Apo B (mg/dl)	99 ± 27 (37 - 154)	97 ± 22 (47 – 147)	NS
Adiponectina (ng/ml)	9.6 ± 5.0 (6.3 – 11.6)	8.0 ± 2.3 (5.8 -9.7)	NS
Leptina (ng/ml)	21.1 ± 24.8 (7.1 -22.5)	69.4 ± 45.4 (26.6 –102.6)	< 0.001
PCR (mg/dl)	4.0 ± 4.4 (1.0 –5.9)	5.7 ± 3.0 (3.3 –8.3)	< 0.005

Media ± DE (rango IC)

t Student/U Mann Whitney, * χ^2

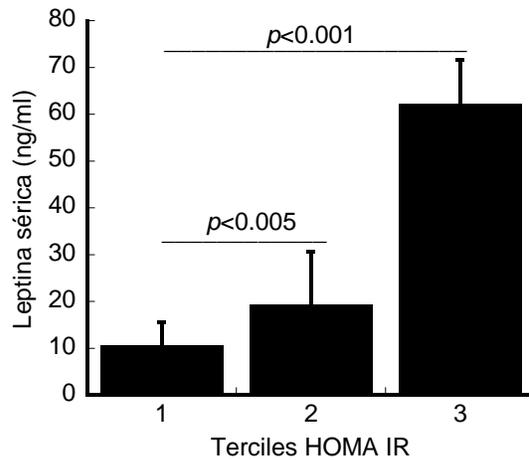


Figura 22. Comparación de la concentración de leptina sérica de los grupos de pacientes de acuerdo a los terciles del valor de HOMA-IR. En esta gráfica se aprecian las diferencias en la concentración de leptina entre los grupos cuando se dividen de acuerdo a los terciles del valor de HOMA-IR.

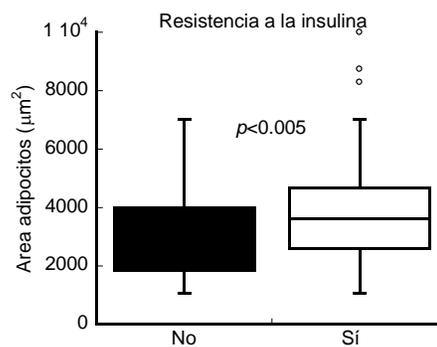


Figura 23. Comparación del área de los adipocitos viscerales entre los grupos de pacientes de acuerdo a la presencia de RI. En esta gráfica se aprecia la diferencia en el tamaño de los adipocitos entre los pacientes con y sin RI, siendo de menor tamaño en aquellos sujetos sin RI.

Las gráficas muestran estas diferencias entre los grupos de sujetos según los terciles de HOMA-IR en el área de los adipocitos (**figura 24**) y la concentración de PCR (**figura 25**), en ambos casos existen diferencias significativas entre los terciles 1 y 2, aunado a la existente entre el primero y tercer tercil. Estos datos demuestran que el aumento en el valor de HOMA-IR que traduce pérdida de la sensibilidad a la acción de la insulina se asocia con el incremento en el área de los adipocitos ($p=0.34$, $p<0.05$) y la concentración de proteína C reactiva.

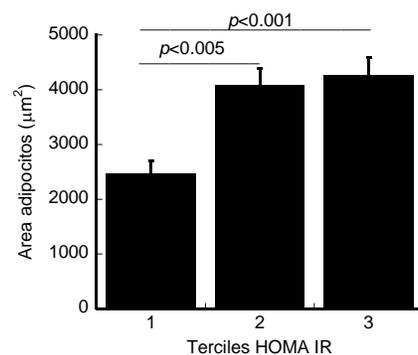


Figura 24. Comparación del área de los adipocitos viscerales entre los grupos de pacientes de acuerdo a los terciles de HOMA-IR. Podemos observar las diferencias en el área de los adipocitos entre los grupos de pacientes según el tercil del valor de HOMA IR al que pertenezcan.

Interesantemente al evaluar el área de los adipocitos viscerales de acuerdo a la presencia de obesidad y RI encontramos hallazgos importantes. No existen diferencias en esta variable de acuerdo a la presencia de IMC ≥ 30 kg/m² en los individuos sin RI [sin obesidad 2795 µm² (1888-4105) vs con obesidad 2339 µm²

(1778-3949)] o con RI [sin obesidad 5422 μm^2 (4308-8402) vs con obesidad 4113 μm^2 (2846-4726)].

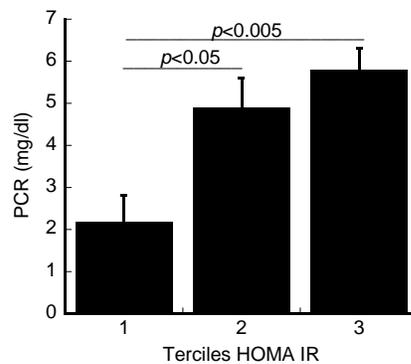


Figura 25. Comparación de la concentración de proteína C reactiva entre los grupos de pacientes de acuerdo a los terciles de HOMA-IR. Se aprecia que los individuos en el grupo con un valor de HOMA IR mayor tienen concentraciones de proteína C reactiva considerablemente más altas.

Sin embargo, en pacientes con obesidad es mayor el área de los adipocitos viscerales entre los pacientes con RI 4113 μm^2 vs sin RI 2339 μm^2 ($p < 0.05$) y se observa un fenómeno similar entre los individuos con peso normal o sobrepeso ya que los sujetos con RI tienen significativamente áreas mayores 5422 μm^2 vs 2795 μm^2 ($p < 0.05$) respecto a los pacientes sin RI. Lo anterior, lo podemos apreciar en la **figura 26** y confirma una vez más, la importante asociación del tamaño de los adipocitos con variables como el HOMA-IR independientemente del IMC. En otras variables bioquímicas no hubo diferencias entre los grupos (TG, colesterol total, colesterol LDL, colesterol HDL, Apolipoproteína A y B).

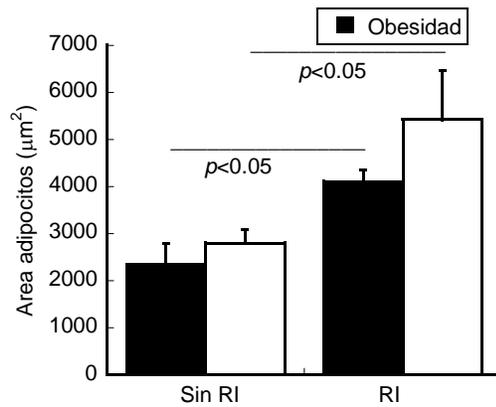


Figura 26. Comparación del área de los adipocitos viscerales en presencia de obesidad y RI. En esta gráfica notamos independientemente de la presencia de obesidad existen diferencias entre los individuos con RI que tienen un área de los adipocitos mayor respecto a los pacientes sin RI.

En la **figura 27**, se observa la distribución del área de los adipocitos viscerales de acuerdo a la presencia de RI, aquellos con RI presentan menos adipocitos pequeños, con una mayor proporción de adipocitos de tamaño mediano y grandes.

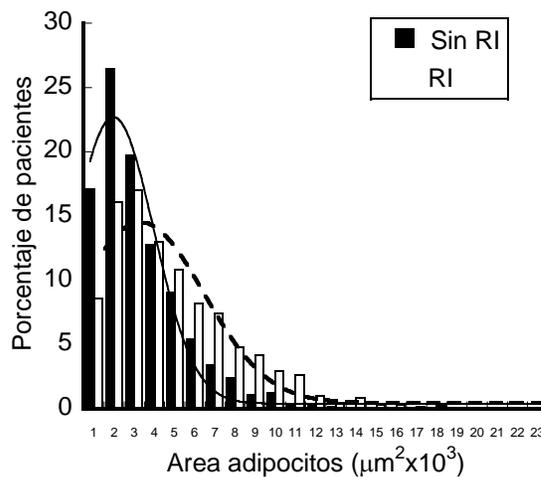


Figura 27. Distribución del área de los adipocitos viscerales de acuerdo a la presencia de RI. Notamos en esta gráfica de distribución que los pacientes con RI tienen adipocitos con áreas mayores respecto a aquellos sin RI.

Por ejemplo, en las fotografías que se muestran a continuación se observan notables diferencias morfológicas del TA visceral utilizando el mismo aumento en el microscopio (40x) entre dos individuos, uno sin y otro con RI en cortes histológicos teñidos con hematoxilina-eosina. Se observa que al comparar entre los 2 sujetos hay diferencias importantes: IMC 27.4 vs 34.7 kg/m², HOMA-IR 1.7 vs 6.7, y área de adipocitos 2480 vs 10000 μm² respectivamente (**figura 28**).

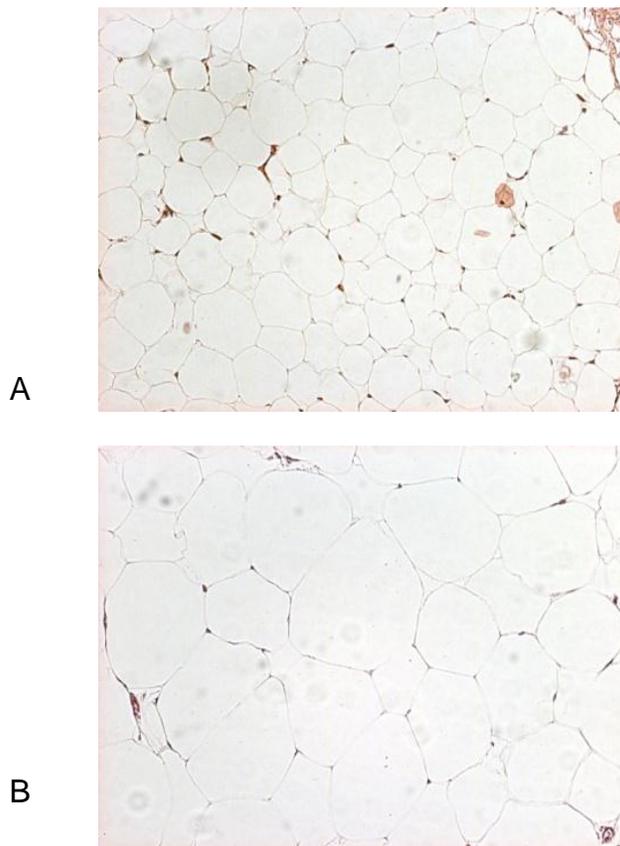


Figura 28. Comparación del tamaño de los adipocitos viscerales entre 2 sujetos. En esta figura observamos notables diferencias al comparar el tamaño de los adipocitos de 2 sujetos, en el panel A un individuo con sobrepeso sin RI, en el B con obesidad grado 1 y RI.

7.4 SÍNDROME METABÓLICO

Se clasificó a los pacientes de acuerdo al diagnóstico de SM con la presencia de 3 de los criterios descritos previamente. El 50.4% (n=58) de los sujetos incluidos se consideraron sin SM, 38 mujeres y 20 hombres. Del 49.6% restante (n=57) que se clasificaron con SM, 30 individuos fueron mujeres y 27 hombres. De toda la población de estudio, 7 pacientes no tuvieron ningún criterio, 18 presentaron uno, 33 sujetos dos, 26 tres, 23 cuatro y 8 los cinco factores. En **la tabla 7** se aprecia la comparación por género de la presencia de los criterios o factores de riesgo para SM según el género.

Los factores de riesgo que se encontraron en los pacientes en orden de aparición fueron: HDL bajo de acuerdo a su sexo en 74% de los pacientes, obesidad central en el 70% de los pacientes, hipertrigliceridemia en 50%, glucosa ≥ 100 mg/dl en el 35% y cifras tensionales elevadas en 30% (**tabla 7**).

Como se puede observar en la **tabla 8**, los pacientes que presentaban SM fueron los que presentaron significativamente mayor IMC (41.7 ± 12.2 vs 34.5 ± 13.8 kg/m², $p < 0.005$), mayor porcentaje de grasa corporal (46.2 ± 8.8 vs 38.7 ± 12 , $p < 0.05$), mayor área de los adipocitos viscerales (4441 ± 1817 vs 3076 ± 1401 μm^2), **figura 29**, mayores concentraciones de glucosa (105 ± 15 vs 90 ± 13 mg/dl), e insulina (19.8 ± 11.6 vs 12.6 ± 13 $\mu\text{UI/ml}$), mayores HOMA-IR (5.1 ± 3.0 vs $2.8 \pm$

3.0), mayores concentraciones de TG (204 ± 97 vs 143 ± 77 mg/dl) todos con $p < 0.001$ y mayor concentración PCR (5.5 ± 3.0 vs 4.5 ± 4.4 mg/dl, $p < 0.05$), menores concentraciones de apolipoproteína A (125 ± 23 vs 142 ± 37 mg/dl, $p < 0.005$) y menores concentraciones colesterol HDL (35 ± 8 vs 44 ± 13 mg/dl, $p < 0.001$).

También se puede observar en la **tabla 8** que no existen diferencias significativas entre los grupos con y sin SM en parámetros bioquímicos como la concentración de colesterol total, LDL, apolipoproteína B, adiponectina y leptina.

En la **figura 30** se muestra que a mayor número de factores de riesgo de SM mayor el índice HOMA. Interesantemente se puede observar que la presencia de dos factores del SM son suficientes para producir RI.

Tabla 7. Comparación de la presencia de factores de riesgo y diagnóstico de SM por género.

Factor de riesgo	Hombres (n=47)	Mujeres (n=68)	Total (n=115)
HDL bajo ♂ <50 y ♀ <40 mg/dl	35 (74%)	47 (69%)	82 (74%)
Obesidad por circunferencia de cintura: ♂ >90 cm y ♀ >80 cm	30 (64%)	50 (74%)	80 (70%)
Triglicéridos ≥150 mg/dl	33 (70%)	23 (34%)	56 (50%)
Glucosa ≥100 mg/dl	16 (34%)	25 (37%)	41 (35%)
Tensión arterial >130/85 mm Hg	14 (30%)	20 (29%)	34 (30%)
Diagnóstico de SM	27 (57%)	30 (44%)	57 (50%)

Tabla 8. Comparación de las variables clínico antropométricas y bioquímicas de sujetos sin y con diagnóstico de SM (n=115).

Variable	Sin síndrome metabólico (n= 58)	Con síndrome metabólico (n= 57)	Valor p
Género (F/M)	38/20	30/27	NS*
Edad (años)	39 ± 10 (17 – 65)	41 ± 11 (20 – 68)	NS
IMC (kg/m ²)	34.5 ± 13.8 (19.4 – 73)	41.7 ± 12.2 (21.5 – 78.7)	< 0.005
Masa grasa (%)	38.7 ± 12.5 (13.2 – 61.1)	46.2 ± 8.8 (21.3 – 59.9)	< 0.05
Área adipocitos (µm ²)	3076 ± 1401 (1069 – 6617)	4441 ± 1817 (1261 – 10005)	< 0.001
Glucosa (mg/dl)	90 ± 13 (63 – 155)	105 ± 15 (80 – 139)	< 0.001
Insulina (µUI/ml)	12.6 ± 13 (1.4 – 81.9)	19.8 ± 11.6 (4.7 – 54.1)	< 0.001
HOMA IR	2.8 ± 3.0 (0.3 – 17.6)	5.1 ± 3.0 (0.9 – 15.4)	< 0.001
Triglicéridos (mg/dl)	143 ± 77 (38 – 317)	204 ± 97 (54 – 513)	< 0.001
Colest total (mg/dl)	182 ± 37 (70 – 271)	181 ± 37 (94 - 263)	NS
HDL (mg/dl)	44 ± 13 (16 – 81)	35 ± 8 (16 – 59)	< 0.001
LDL (mg/dl)	109 ± 31 (39 – 186)	105 ± 30 (33 – 166)	NS
Apo A (mg/dl)	142 ± 37 (60 – 273)	125 ± 23 (82 -189)	< 0.005
Apo B (mg/dl)	95 ± 23 (37 - 152)	101 ± 25 (47 – 154)	NS
Adiponectina (ng/ml)	8.7 ± 3.0 (4.0 – 16.7)	8.9 ± 5.3 (3.8 -27.9)	NS
Leptina (ng/ml)	44.5 ± 47.9 (1.5 -165.4)	47.8 ± 35.8 (2.9 –127.8)	NS
PCR(mg/dl)	4.5 ± 4.4 (0.1 –19.3)	5.5 ± 3.0 (0.4 –10)	< 0.05

Media ± DE (min-max)

t Student/U Mann Whitney, * x2

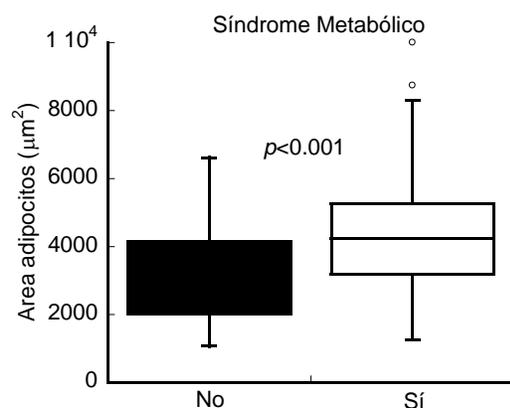


Figura 29. Comparación del área de los adipocitos viscerales entre los grupos de pacientes de acuerdo al diagnóstico de SM. En esta figura podemos observar que el área de los adipocitos es mayor en los pacientes con diagnóstico de SM.

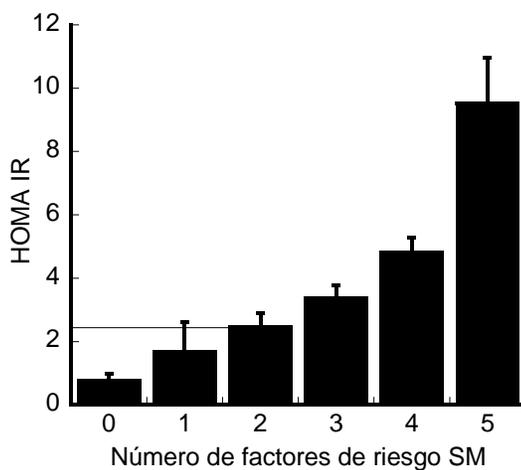


Figura 30. Comparación del valor de HOMA-IR según el número de criterios de SM presentes.

7.5 POLIMORFISMO R230C DEL GEN ABCA 1

En el presente trabajo se encontró que el 12% de los pacientes presentaba el polimorfismo R230C ABCA-1, donde se evaluó el equilibrio de H-W sin ser significativo, lo que indica que la distribución de esta variante esta en equilibrio en nuestra muestra y por lo tanto los resultados son válidos (**tabla 9**). Estos resultados concuerdan con los resultados reportados previamente.[11]

Tabla 9. Evaluación del equilibrio Hardy-Weinberg en nuestra muestra.

Genotipos	No Observado	No esperado
Homocigoto silvestre	102	102.4
Heterocigoto	13	12.3
Homocigoto polimorfismo	0	0.4
Frec var alelo	0.06	

$\chi^2 = 0.41$ $p = 0.52$

Como se puede observar en la **figura 31**, los pacientes con el polimorfismo R230C ABCA1 presentan mayor IMC y porcentaje de grasa corporal, con tendencia a la significancia. Sin embargo, interesantemente los pacientes con el polimorfismo R230C ABCA1 presentaban mayores concentraciones de insulina y HOMA ($p < 0.05$), **figura 32**.

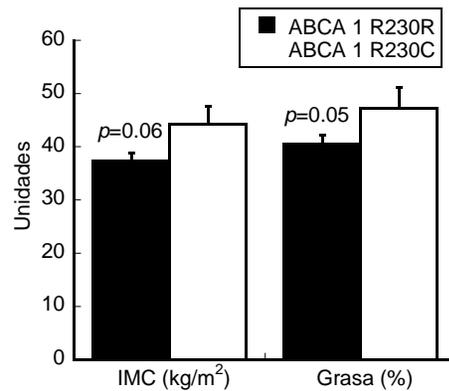


Figura 31. Comparación del IMC y el porcentaje de grasa corporal entre los grupos de pacientes ante la presencia del polimorfismo R230C del gen *ABCA1*. Se observa que los pacientes con el polimorfismo tienen mayor porcentaje de grasa e IMC (tendencia a la significancia).

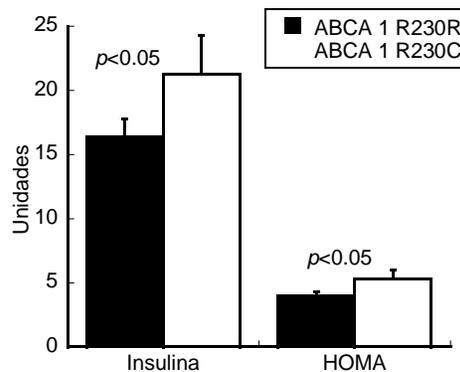


Figura 32. Comparación de la insulina sérica y el valor de HOMA-IR entre los grupos de pacientes ante la presencia del polimorfismo R230C del gen *ABCA1*. En esta gráfica se aprecia que tanto la insulina como el HOMA-IR son más altos en los pacientes que presentan el polimorfismo.

7.6 EXPRESIÓN DE GENES INVOLUCRADOS EN LA FUNCIONALIDAD DEL ADIPOCITO EN PACIENTES CON DIFERENTES IMC.

Se selecciono una submuestra de 51 pacientes para evaluar este objetivo: 27 mujeres (53%) y 24 hombres (47%), con una mediana de edad de 41 (18-67) años. De esta submuestra, 16 pacientes (37%) se sometieron a bypass gástrico (cirugía bariátrica) y 35 pacientes (63%) a otros procedimientos quirúrgicos (funduplicatura tipo Nissen, cardiomiectomía de Heller por acalasia y colecistectomía). En la **tabla 10** se muestran las características de los pacientes.

7.6.1 Índice de masa corporal

En este grupo de pacientes 16 tuvieron peso normal, 12 sobrepeso y 23 obesidad (16 de los cuales era mórbida). En este grupo de pacientes también existe correlación alta y significativa ($p < 0.001$) entre las siguientes variables: IMC-insulina ($\rho = 0.64$, $p < 0.001$, **figura 33**), IMC-HOMA-IR ($\rho = 0.61$, $p < 0.001$, **figura 34**), IMC-leptina sérica ($\rho = 0.85$, $p < 0.001$, **figura 35**). Lo anterior significa que al incrementar el IMC de los individuos existe un aumento progresivo también en la insulina, HOMA-IR que se traduce como pérdida de la sensibilidad a la acción de la insulina con un crecimiento en el valor de la leptina sérica.

Al dividir a los pacientes en grupos de acuerdo a los terciles de IMC (<27.4 kg/m²: tercil 1, 27.4-35.7 kg/m² tercil 2 y >35.7 kg/m²: tercil 3) se observan diferencias significativas ($p < 0.05$) en la expresión de CEBP α en el TA visceral entre los grupos de pacientes que corresponden al primero respecto del segundo y tercer tercil (**figura 36**), con mayor expresión en los pacientes con IMC más bajo.

Tabla 10. Características de 51 pacientes en los que se evaluó la expresión génica en tejido adiposo y adipocitos.

Variable	n= 51
Género (F/M)	27/24
Edad (años)	41 (34 – 50)
IMC (kg/m²)	29.2 (25.4 – 44.2)
Masa grasa (%)	37.1 (25.6 – 48.3)
Área adipocitos (µm²)	3617 (2480 - 5420)
Glucosa (mg/dl)	91 (85 – 105)
Insulina (µUI/ml)	11.5 (7.1 –16.6)
HOMA IR	2.5 (1.6 – 4.5)
Triglicéridos (mg/dl)	136 (113 –221)
Colesterol total (mg/dl)	183 (160 – 205)
HDL (mg/dl)	35 (30 - 44)
LDL (mg/dl)	110 (87 – 137)
Apo A (mg/dl)	130 (110 – 142)
Apo B (mg/dl)	97 (82 - 112)
Adiponectina (ng/ml)	8.3 (6.2 - 10.5)
Leptina (ng/ml)	70 (15 -85)
PCR(mg/dl)	4.9 (1.9 - 10)

Mediana (rango intercuartilar)

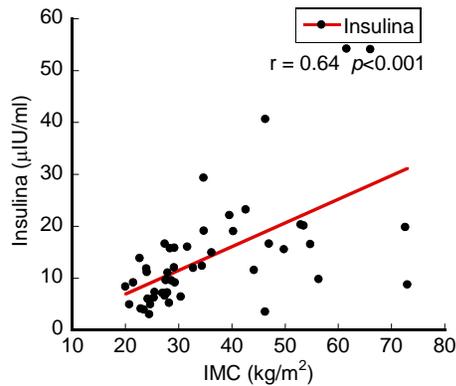


Figura 33. Correlación entre insulina sérica y el IMC. En esta gráfica se aprecia que al incrementar el IMC lo hace también la concentración de insulina sérica.

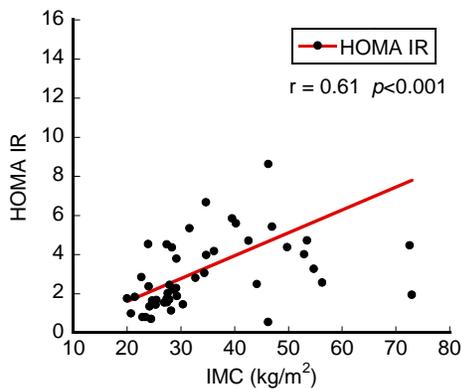


Figura 34. Correlación entre el valor de HOMA-IR y el IMC. En esta gráfica observamos que al incrementar el IMC lo hace también la concentración de HOMA-IR.

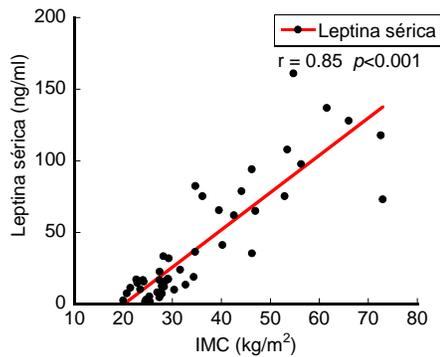


Figura 35. Correlación entre leptina sérica y el IMC. Podemos apreciar en esta figura que al aumentar el IMC también se eleva la concentración de leptina sérica.

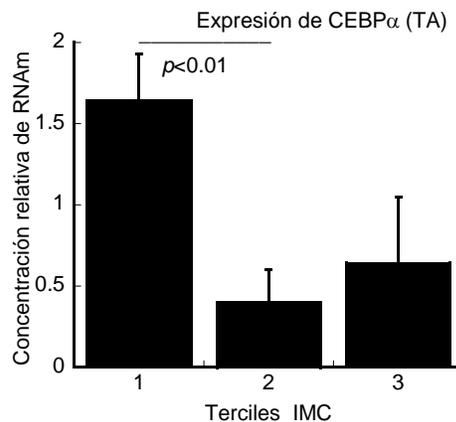


Figura 36. Comparación de la expresión de CEBP α en TA entre los grupos de acuerdo a los terciles de IMC. Esta gráfica muestra que los pacientes en el tercil con menor IMC tienen mayor expresión de CEBP α .

Además, se encontró que la expresión del gen de la adiponectina en el TA también era diferente entre el primero y tercer tercil. A menor IMC mayor

expresión de adiponectina (**figura 37**). Mientras que la expresión de leptina en adipocitos aumenta al aumentar el IMC entre el primero y segundo tercil (**figura 38**).

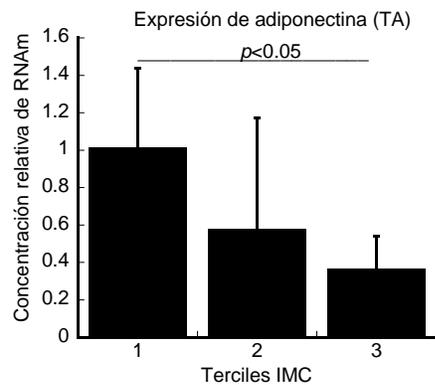


Figura 37. Comparación de la expresión de adiponectina en TA entre los grupos de acuerdo a los terciles de IMC. Se aprecia que al incrementar el IMC disminuye notablemente la expresión de adiponectina en el TA.

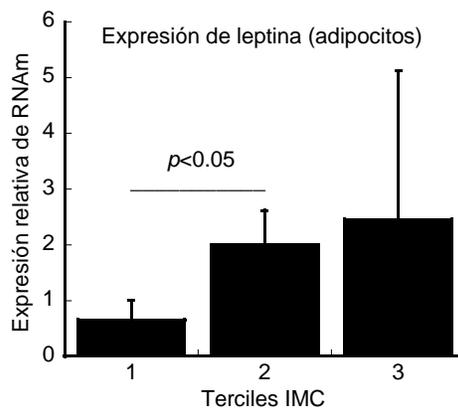


Figura 38. Comparación de la expresión de leptina en adipocitos viscerales entre los grupos de acuerdo a los terciles de IMC. En esta figura notamos que al incrementar el IMC también aumenta la expresión de leptina en adipocitos.

En el caso de TNF α , es evidente (**figura 39**) que en el TA visceral a mayor IMC existe un incremento en la concentración de su RNAm, con diferencias entre el primero respecto al tercer tercil, asimismo entre el 2 y 3.

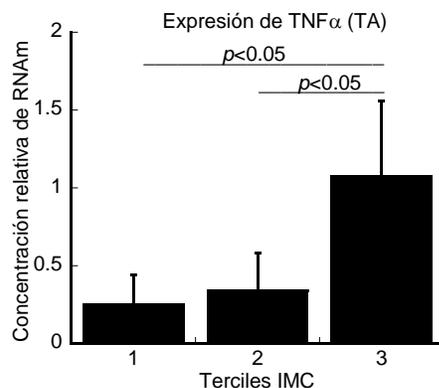


Figura 39. Comparación de la expresión de TNF α en TA entre los grupos de acuerdo a los terciles de IMC. Podemos observar en la gráfica que al aumentar el IMC incrementa significativamente la expresión de TNF α en el TA.

7.6.2 Resistencia a la insulina

Se encontró 26 pacientes (50.4%: 13 hombres y 13 mujeres) que no presentaban RI y 25 con RI (14 mujeres y 11 hombres), sin encontrar diferencias en la edad de los sujetos.

En la **tabla 11** podemos observar la comparación entre ellos, además de las variables bioquímicas como insulina (7.1 vs 16.6 μ UI/ml, $p < 0.001$), glucosa (87 vs 102 mg/dl, $p < 0.005$) o el HOMA (1.7 vs 4.5, $p < 0.001$) que se utilizaron para definir los grupos, existen claras diferencias entre la concentración de PCR (8.0 vs 2.6, $p < 0.05$) y las variables antropométricas como IMC (27.2 vs 39.6 kg/m², $p < 0.001$),

porcentaje de grasa (28.0 vs 50.3, $p < 0.005$) y en el área de los adipocitos viscerales (2869 vs 4680 μm^2 , $p < 0.05$).

Tabla 11. Comparación de las variables entre los pacientes con y sin RI (n=51).

Variable	Sin resistencia a la insulina (n= 26)	Con resistencia a la insulina (n= 25)	p
Género (F/M)	13/13	14/11	NS*
Edad (años)	43 (38 – 50)	40 (32 – 46)	NS
IMC (kg/m^2)	27.2 (23.9 – 28.8)	39.6 (30.7 – 53.3)	< 0.001
Grasa corporal (%)	28.0 (24.3 – 37.3)	50.3 (43.3 – 56.4)	< 0.005
Area adipocitos (μm^2)	2869 (1933 – 4361)	4680 (2895 – 6157)	< 0.05
Glucosa (mg/dl)	87 (83 – 93)	102 (87 – 114)	< 0.005
Insulina ($\mu\text{UI}/\text{ml}$)	7.1 (5.1 – 9.3)	16.6 (15.1 – 21.7)	< 0.001
HOMA	1.7 (1.2 – 2.0)	4.5 (3.8 – 5.5)	< 0.001
Triglicéridos (mg/dl)	178 (114 – 286)	132 (104 – 203)	NS
Colesterol total (mg/dl)	186 (170 – 212)	172 (145 -197)	NS
HDL (mg/dl)	36 (29 – 48)	34 (30 – 41)	NS
LDL (mg/dl)	115 (95 – 135)	105 (83 – 118)	NS
Apo A (mg/dl)	131 (110 – 140)	128 (112 -145)	NS
Apo B (mg/dl)	99 (86 -118)	92 (79 – 108)	NS
Adiponectina (ng/ml)	7.3 (5.9 - 9.0)	5.5 (5.2 -8.2)	NS
Leptina (ng/ml)	16 (6.8 -82.4)	75 .2 (42.6 -93.7)	NS
PCR (mg/dl)	2.6 (0.4 -5.6)	8.3 (2.7 -10)	< 0.05

Mediana (rango Inter cuartilar)
U Mann Whitney, * χ^2

7.6.2.1 Genes involucrados en la diferenciación y lipogénesis en adipocitos y TA visceral.

Se estudiaron genes involucrados en la diferenciación de adipocitos como son CEBP α , PPAR γ 2 y SREBP-1 entre pacientes con RI y sin RI en adipocitos viscerales (**figura 40**) y TA (**figura 41**). Se encontró que el único gen que se vio modificado por la presencia de RI fue SREBP-1 en los adipocitos, indicando que el aumento en las concentraciones de insulina incrementa también la expresión de SREBP-1 en el adipocito. Estos datos son congruentes con el importante papel de SREBP-1 en la expresión de genes involucrados en la síntesis de AG, también concuerda con el aumento significativo del área de los adipocitos (4680 μm^2) con respecto a los pacientes sin RI (2869 μm^2).

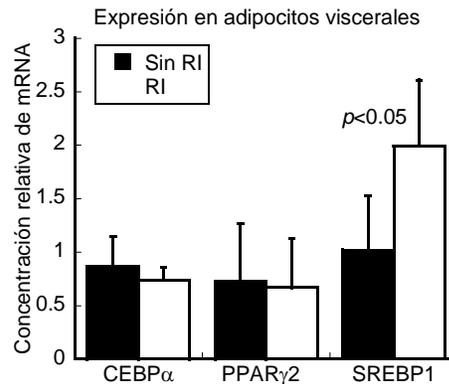


Figura 40. Comparación de la expresión de genes involucrados en la diferenciación y lipogénesis en adipocitos viscerales entre los grupos de acuerdo a la presencia de RI. En esta figura se aprecia que existe mayor expresión de SREBP1 en los adipocitos de los pacientes con RI.

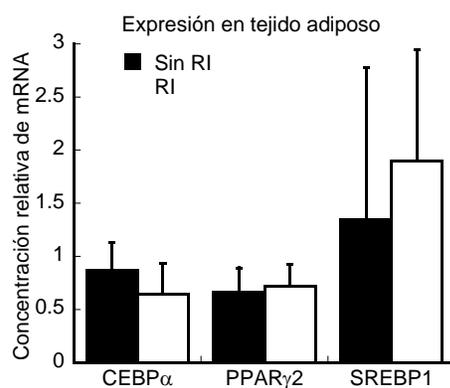


Figura 41. Comparación de la expresión de genes involucrados en la diferenciación y lipogénesis en TA visceral entre los grupos de acuerdo a la presencia de RI.

7.6.2.2 Genes involucrados en la oxidación y termogénesis en adipocitos y TA visceral.

En los genes relacionados con la oxidación de lípidos como PPAR α y UCP1 no se documentaron diferencias debido a la dispersión de los valores, aunque como se puede ver en la **figura 42** en los adipocitos parece ser mayor la expresión de PPAR α y de UCP1 en el TA en individuos con RI respecto en comparación de los que no la presentan (**figura 43**).

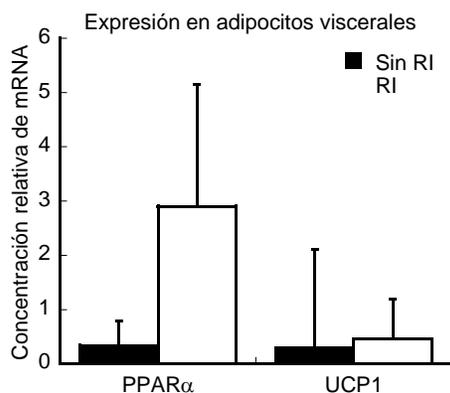


Figura 42. Comparación de la expresión de genes relacionados con la oxidación de lípidos y termogénesis en adipocitos viscerales entre los grupos de acuerdo a la presencia de RI.

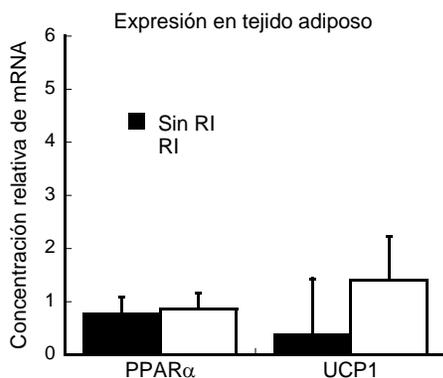


Figura 43. Comparación de la expresión de genes relacionados con la oxidación de lípidos y termogénesis en TA visceral entre los grupos de acuerdo a la presencia de RI.

7.6.2.3 Genes involucrados en la función endocrina e inflamación.

Se comparo la expresión de genes involucrados en la función endocrina e inflamatoria de los adipocitos (**figura 44**) y TA (**figura 45**). La expresión del gen de la leptina fue significativamente más elevada en el TA de sujetos con RI y al mismo tiempo presentaron una menor expresión de adiponectina en adipocitos. El propio adipocito es capaz de detectar la leptina liberada a través de receptores que tiene en su membrana para esta adipocina. Sin embargo en nuestros resultados, aunque parece existir diferencia en la expresión del receptor de leptina entre sujetos con y sin RI, siendo más alta en los pacientes sin RI, no alcanzó diferencia significativa. Respecto a la expresión del TNF α tanto en adipocitos como en el TA esta fue mayor en los pacientes con RI y en la **figura 46** observamos estas diferencias al dividir a los pacientes en terciles.

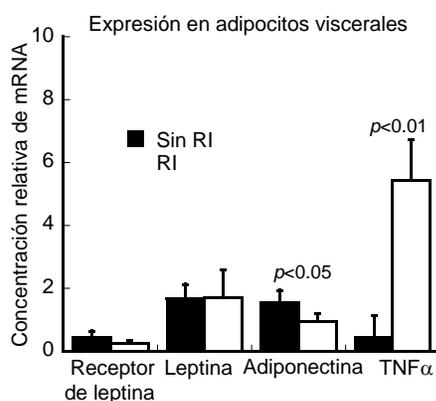


Figura 44. Comparación de la expresión de genes relacionados con la función endocrina e inflamación en adipocitos viscerales entre los grupos de acuerdo a la presencia de RI. Podemos observar que es menor la expresión de adiponectina y mayor la de TNF α en los adipocitos de pacientes con RI.

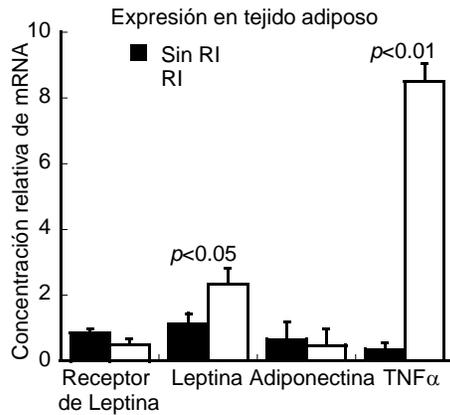


Figura 45. Comparación de la expresión de genes relacionados con la función endocrina e inflamación en TA visceral entre los grupos de acuerdo a la presencia de RI. Se aprecia que en los individuos con RI existe mayor expresión de leptina y TNF α en el TA.

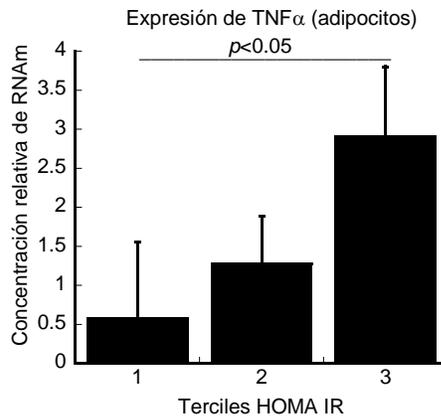


Figura 46. Comparación de la expresión de TNF α en adipocitos viscerales entre los grupos de acuerdo a los terciles de HOMA-IR. En esta gráfica notamos que es mayor la expresión de TNF α al aumentar la RI.

7.6.3 Síndrome metabólico

Acorde al diagnóstico de SM los 51 individuos en los que se evaluó la expresión génica se dividieron en aquellos que si presentaban SM y aquellos que no lo tenían de acuerdo con los criterios establecidos: 33 de ellos (64.7%: 19 mujeres y 14 hombres) no cumplieron con los criterios de diagnóstico de SM y en los 18 sujetos restantes si se determinó que presentaban SM (8 mujeres y 10 hombres).

Del total de pacientes estudiados (51) se demostró la presencia de algunos criterios del SM los cuales se pueden dividir de la siguiente manera: 3 pacientes ninguno, 10 con uno, 20 con dos, 6 con tres, 11 con cuatro y 1 paciente cumplió con 5 criterios.

Se encontró que el 78% de los pacientes presentaban HDL bajo de acuerdo a su género, obesidad central en el 57% de los pacientes, hipertrigliceridemia en 45%, hipertensión en 29% y glucosa ≥ 100 mg/dl en el 26%.

Aquellos pacientes con SM tuvieron mayor IMC (35.5 vs 27.9 kg/m², $p < 0.05$), área de los adipocitos (4970 vs 2915 μm^2 , $p < 0.05$), concentraciones de glucosa (109 vs 88 mg/dl, $p < 0.005$), insulina (15.9 vs 9.5 $\mu\text{UI/ml}$, $p < 0.05$), HOMA (4.3 vs 2.0, $p < 0.005$), TG (200 vs 123 mg/dl, $p < 0.05$) y PCR (8.2 vs 3.6 mg/dl, $p < 0.05$) y menores concentraciones de HDL (30 vs 36 mg/dl, $p < 0.05$) (**tabla 12**).

7.6.3.1 Genes involucrados en la diferenciación, lipogénesis en adipocitos y TA visceral.

Respecto a estos genes involucrados en la adipogénesis se observa que la expresión de CEBP α es muy similar en los pacientes con y sin SM tanto en adipocitos (**figura 47**) como en TA (**figura 48**).

Tabla 12. Comparación de las variables entre los pacientes con y sin diagnóstico de SM (n=51).

Variable	Sin síndrome metabólico (n= 33)	Con síndrome metabólico (n= 18)	p
Género (F/M)	19/14	8/10	NS*
Edad (años)	40 (35 – 49)	43 (34 – 57)	NS
IMC (kg/m ²)	27.9 (24.2 – 38.7)	35.5 (28.4 – 47.7)	< 0.05
Grasa corporal (%)	31.6 (25.1 – 47.7)	47.1 (42 – 52.1)	NS
Area adipocitos (µm ²)	2915 (2373 – 4613)	4970 (3708 – 6928)	< 0.05
Glucosa (mg/dl)	88 (83 – 95)	109 (90 – 116)	< 0.005
Insulina (µUI/µl)	9.5 (6.6 – 13.8)	15.9 (9.6 – 20.8)	< 0.05
HOMA	2.0 (1.5 – 3.3)	4.3 (2.4 – 5.7)	< 0.005
Triglicéridos (mg/dl)	123 (98 – 192)	200 (134 – 286)	<0.05
Colesterol total (mg/dl)	180 (168 – 200)	189 (149 -213)	NS
HDL (mg/dl)	36 (31 – 49)	30 (29 – 36)	<0.05
LDL (mg/dl)	107 (85 – 134)	113 (86 – 120)	NS
Apo A (mg/dl)	137 (119 – 151)	124 (107 -132)	NS
Apo B (mg/dl)	95 (81 – 103)	104 (88 – 118)	NS
Adiponectina (ng/ml)	6.9 (5.4 – 8.7)	5.5 (5 - 8)	NS
Leptina (ng/ml)	16.6 (10.4 – 88.1)	75.2 (50.0 -86.4)	NS
PCR (mg/dl)	3.6 (0.8 -7.5)	8.2 (1.0 -10)	<0.05

Mediana (rango intercuartilar)
U Mann Whitney, * χ^2

Respecto a PPAR γ existe una mayor concentración de RNAm en los individuos sin SM en adipocitos (**figura 47**) y TA (**figura 48**) aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa. En el caso de la expresión de SREBP1 presento

una dispersión muy grande en su grado de expresión en el TA y adipocitos (**figura 48 y 47**), y en consecuencia no se encontró una diferencia significativa en la concentración de su RNAm.

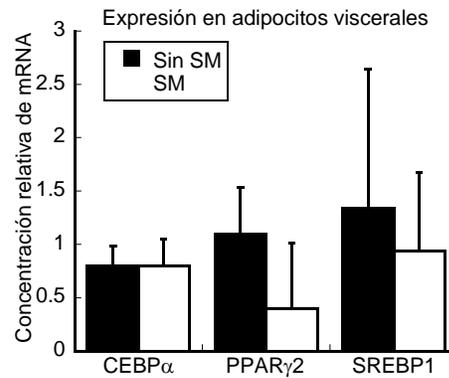


Figura 47. Comparación de la expresión de genes involucrados en la diferenciación y lipogénesis en adipocitos viscerales entre los grupos de acuerdo a la presencia de SM.

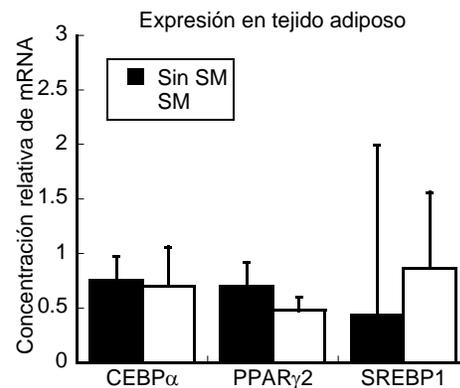


Figura 48. Expresión de genes involucrados en la diferenciación y lipogénesis en TA visceral entre los grupos de acuerdo a la presencia de SM.

7.6.3.2 Expresión de genes involucrados en la oxidación y termogénesis en adipocitos y TA visceral.

En el caso de PPAR α la concentración de su RNAm fue mayor en individuos sin SM en adipocitos (**figura 49**) y TA (**figura 50**), aunque no alcanza significancia estadística. La expresión de UCP1 fue muy similar en adipocitos y en el TA, y aunque parece ser ligeramente mayor en sujetos sin SM no alcanzo significancia por su dispersión.

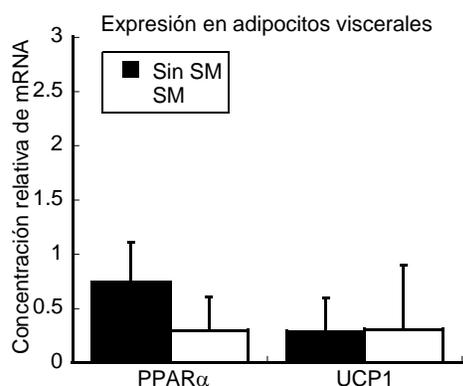


Figura 49. Comparación de la expresión de genes involucrados en la oxidación de lípidos y termogénesis en adipocitos viscerales entre los grupos de acuerdo a la presencia de SM.

7.6.3.3 Expresión de genes involucrados en la función endocrina e inflamación en el tejido adiposo.

En la **figura 51** se aprecia que la expresión del receptor de leptina y adiponectina en adipocitos viscerales fue mayor en los pacientes sin SM respecto a aquellos que lo presentan y por el contrario, en el caso de TNF α la concentración de RNAm

fue significativamente menor ($p < 0.05$). La expresión de leptina fue muy similar en los 2 grupos tanto en adipocitos como en TA (**figura 52**).

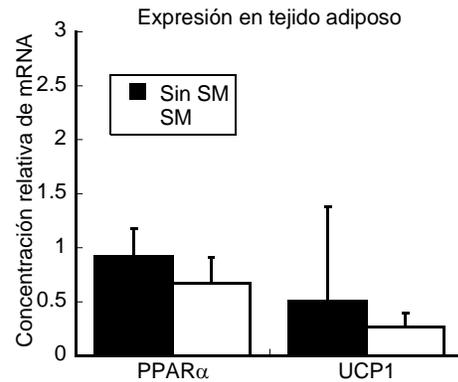


Figura 50. Comparación de la expresión de genes involucrados en la oxidación de lípidos y termogénesis en TA visceral entre los grupos de acuerdo a la presencia de SM.

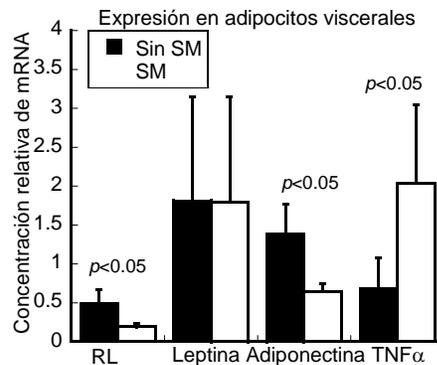


Figura 51. Comparación de la expresión de genes relacionados con la función endocrina e inflamación en adipocitos viscerales entre los grupos de acuerdo a la presencia de SM. Notamos que los pacientes con SM tienen menor expresión en adipocitos del receptor de leptina, adiponectina e incrementado considerablemente la de TNF α .

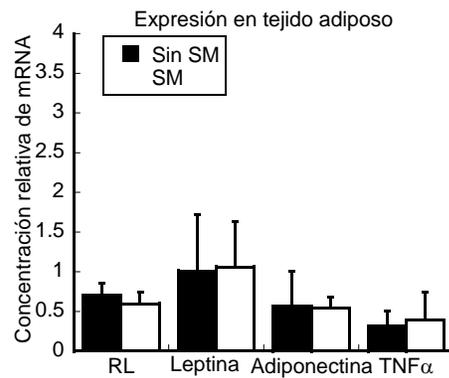


Figura 52. Comparación de la expresión de genes relacionados con la función endocrina e inflamación en TA visceral entre los grupos de acuerdo a la presencia de SM.

8. DISCUSIÓN

El incremento en la frecuencia de la obesidad y del SM es un fenómeno mundial y México no es la excepción ocupando los primeros lugares en su prevalencia. Ambos son factores de riesgo importantes para el desarrollo de DM2, la enfermedad arterial coronaria y cerebrovascular por arteriosclerosis, que son las principales causas de muerte en nuestro país. [52] El termino SM agrupa varios factores de riesgo cardiovascular, siendo el principal la RI aunque la obesidad parece ser uno de los factores desencadenantes más importantes entre las otras alteraciones metabólicas que lo caracterizan. La obesidad y el SM como fenómenos independientes, hacen necesario identificar los mecanismos responsables de la asociación entre estas condiciones. Es importante comprender los mecanismos del SM que propician la enfermedad en individuos no obesos; en

el caso de la obesidad, importa dilucidar los que los protegen contra alteraciones metabólicas.[53]

Uno de los factores responsables del desarrollo de la obesidad es el adipocito. El adipocito actualmente se considera como un órgano endocrino en el cual se llevan a cabo varios procesos como la lipogénesis, la lipólisis, la oxidación de AG y termogénesis.[54] En la **figura 53** se resumen las principales funciones del adipocito.

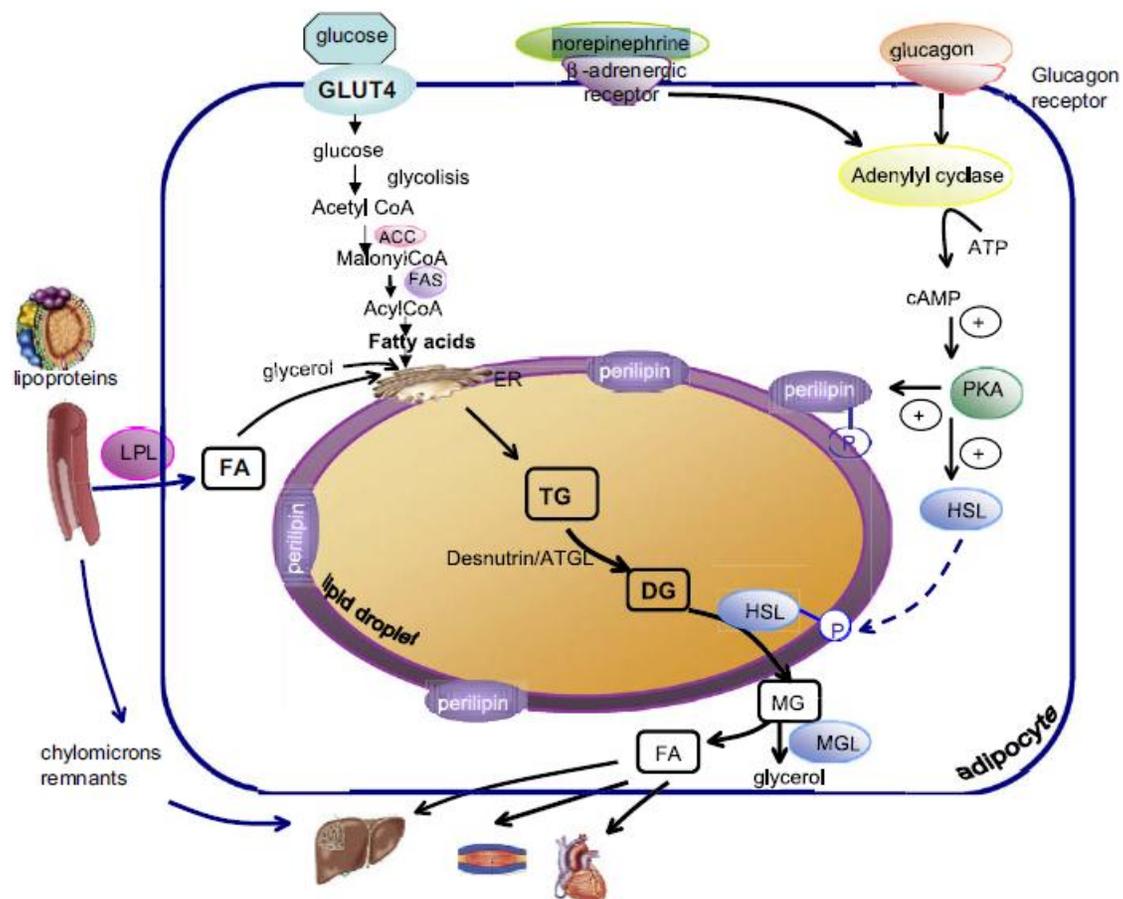


Figura 53. Funcionalidad del adipocito.

Cuando existe un desequilibrio entre estos procesos, el adipocito se vuelve disfuncional y desencadena una serie de eventos que se desarrollan durante la obesidad. Por eso es importante el conocimiento del papel que juegan diferentes receptores, proteínas y factores de transcripción durante el desarrollo de la obesidad tomando en cuenta la presencia de SM, la RI y la presencia de variantes genéticas características de nuestro país.

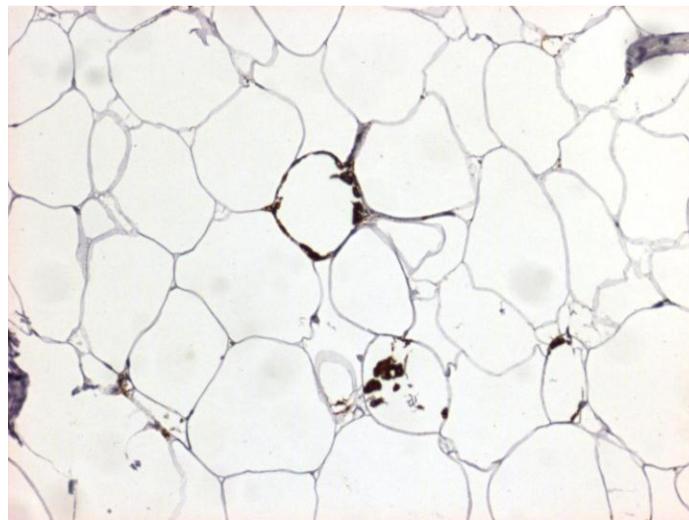
Los resultados del presente estudio demuestran una asociación entre el aumento en el IMC y la RI (**figura 15**). Estos resultados indican que IMC arriba de 25 kg/m² están asociados fuertemente con RI.

Interesantemente, la prevalencia (%) de HDL bajo en esta población fue del 74%, siendo el factor que ocupa el primer lugar en los factores del SM seguido por una circunferencia elevada de cintura en el 70% de la población, hipertrigliceridemia con un 50%, hiperglucemia en un 35% e hipertensión en el 20%. Estas cifras difieren ligeramente a las previamente reportadas en la ENSANUT 2006 probablemente debido a que sólo el 19% de nuestros pacientes tenían peso normal y el 47% presentaba obesidad mórbida.

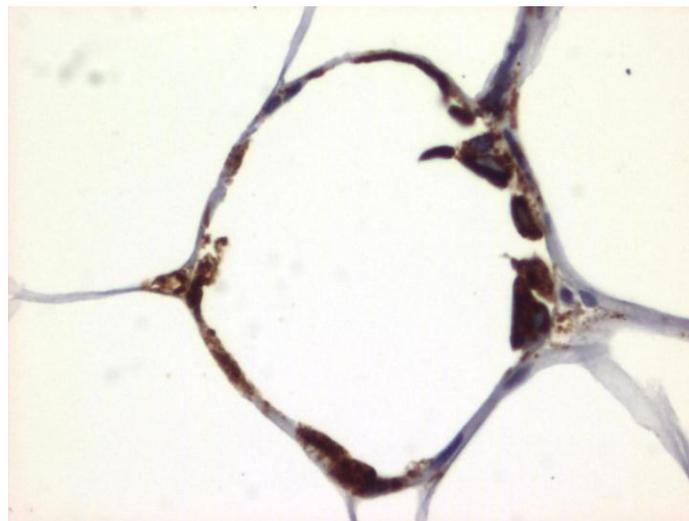
Cuando se evaluaron los participantes en base a la presencia de Ri, los pacientes que la presentaban tenían un IMC más alto, mayor grasa corporal, tamaño de adipocitos, glucosa, insulina, factor HOMA IR, mayores concentraciones de leptina y de proteína C reactiva.

Un hallazgo interesante fue que los pacientes con RI tienen menor cantidad adipocitos de menor tamaño ya que tienen un área media 4769 ± 4390 vs $3061 \pm 1506 \mu\text{m}^2$ respecto a los que no tienen RI que nos puede indicar que tienen un mayor contenido de grasa y probablemente en un futuro se vuelvan

disfuncionales. En algunos pacientes con adipocitos hipertróficos (la mayoría con obesidad mórbida: el 47% de nuestros pacientes se encontraron en esta categoría con IMC 40-78.7 kg/m²) se observaron estructuras semejantes a una corona (crown like structures) que son una agregación de macrófagos alrededor de un adipocito. En la **figura 54** observamos los adipocitos y dicha estructura en un paciente con HOMA IR: 13.9 e IMC 61.6 kg/m². Estas estructuras están típicamente asociadas con obesidad, disfunción del TA e inflamación crónica. [55]



A



B

Figura 54. Microscopia de luz de tejido adiposo. Podemos observar los adipocitos hipertróficos y estructuras semejantes a coronas que corresponden a macrófagos (Anti CD68+) alrededor de algunos de ellos, panel A 10x y panel B 40x.

Cuando se evaluaron a los pacientes en base a la presencia de factores de riesgo de SM, se encontró que la presencia de solamente dos factores se encontró asociado con RI (**figura 30**). Estos resultados indican que la susceptibilidad de esta población de desarrollar diabetes es más alta.

Con esta clasificación se encontró que además de todos los parámetros bioquímicos que se ven significativamente afectados por la RI, las concentraciones de HDL, Apo A estuvieron significativamente más bajas en los pacientes que presentaban SM (**tabla 8**).

También se evaluaron los pacientes en base a la presencia del polimorfismo en ABCA en la posición R230C. La presencia del polimorfismo R230C del gen ABCA1 parece ser un marcador de nuestra herencia Amerindia relacionado con bajas concentraciones de colesterol HDL, obesidad y DM2, en Mexicanos mestizos[11] [56]. Esta variante se ha demostrado que tiene un efecto funcional *in vitro*. Interesantemente encontramos que el 12% de los pacientes presentaban el polimorfismo y esto concuerda con lo previamente reportado. [11]. En este estudio encontramos que la presencia del polimorfismo se asocia con concentraciones más altas de insulina y el factor HOMAIR (**figura 32**). Estos resultados vuelven a mostrar que la presencia de este polimorfismo tiene un efecto en la salud y una gran predisposición a desarrollar diabetes.

En la submuestra de 51 pacientes en los que se pudo obtener TA y adipocitos, se corroboró que el IMC, el porcentaje de grasa, el tamaño de los adipocitos, la glucosa, la insulina, el HOMA-IR y la PCR fueron significativamente mayores en los pacientes con RI respecto a los que no la presentaban.

El adipocito juega un papel muy importante en el balance entre la lipólisis, la oxidación y síntesis de AG que se lleva a cabo dentro de estas células. Un desequilibrio en este delicado balance ocasiona la aparición de la obesidad. Al inicio del desarrollo de ésta, existen diferentes adipocinas, factores de transcripción y proteínas tanto anti como pro-inflamatorias tratando de mantener este balance; pero, con el paso del tiempo, la predisposición genética, el consumo crónico y excesivo de hidratos de carbono, grasa y proteína de origen animal, y la falta de actividad física condicionan que la funcionalidad del TA se empiece a deteriorar con la incapacidad subsecuente para almacenar esa energía.

El control transcripcional de la adipogénesis involucra a una serie de factores de transcripción como CEBPs y PPARs. La inducción de la transcripción del gen de PPAR γ durante la diferenciación de pre-adipocitos a adipocitos se lleva a cabo en la fase inicial de la proliferación celular y requiere de C/EBP α para el establecimiento del transportador de glucosa sensible a la insulina en adipocitos. Es probable que ésta sea la razón por la que no encontramos diferencias en la expresión de estos genes entre los grupos estudiados, ya que se trata de adipocitos maduros predominantemente.

Se pudo observar que el único gen que se vio modificado por la presencia de RI fue SREBP-1 en los adipocitos (**figura 40**). Lo que indica primero que la

lipogénesis se lleva a cabo principalmente en el adipocito. Estos hallazgos son interesantes ya que el factor de transcripción SREBP-1 esta encargado de regular la lipogénesis a través de la síntesis de AG. [44] En un adipocito funcional está activada la lipogénesis y la oxidación de AG para mantener una homeostasis en el metabolismo de lípidos; sin embargo, los pacientes con RI tienen aumentada la lipogénesis pero no hay un aumento en la oxidación de AG mediada por PPAR α lo que ocasiona una acumulación de lípidos en el interior de la vacuola lipídica del adipocito. Esto se vio reflejado en un aumento en el tamaño de los adipocitos en los pacientes con RI (**tabla 6**). Según la hipótesis del “genotipo ahorrador”[57] el aumento en la actividad de SREBP1 podría dar una ventaja evolutiva en el pasado, favoreciendo el balance energético positivo, pero no con un estilo de vida sedentario como el actual. La sobre expresión de SREBP1c se ha asociado con esteatosis hepática, lipodistrofia, enfermedad renal asociada a diabetes, lipotoxicidad en modelos animales de DM2 como los ratones IRS-2 $^{-/-}$. [58]

SREBP1c puede integrar la información del estado nutricional y metabólico para controlar la formación de nuevos adipocitos, el metabolismo de lípidos, sensibilidad a la insulina y a través de las adipocinas contribuir con la homeostasis de energía y control del apetito. Se ha demostrado que la familia de CEBPs tiene un papel fundamental en la inducción temprana de SREBP1c y el mantenimiento de su expresión en adipocitos maduros. [59]

Con respecto al receptor de leptina hubo una tendencia a estar disminuido en los pacientes con RI pero esto no fue estadísticamente diferente. Con respecto a la leptina hubo un aumento en su expresión en el TA de los pacientes con RI, pero no en adipocitos lo que indica que quizá un aumento en la expresión génica de

leptina es capaz de regular la oxidación de AG en el TA probablemente por la presencia de otros factores o células en el TA, aunque en los adipocitos no hubo diferencia entre los pacientes con o sin RI y no hubo modificación en la oxidación de AG.

Otras proteínas involucradas en la funcionalidad del adipocito son la adiponectina que es una citocina anti-inflamatoria mientras que el TNF α es una citocina inflamatoria. Cuando el adipocito esta funcional existe un aumento en la adiponectina y una disminución en la expresión de TNF α ; sin embargo, al aumentar el tamaño del adipocito hay un aumento en la producción de la MCP (proteína que atrae a los macrófagos) y hay un aumento en la producción de TNF α tanto en el adipocito como en los macrófagos que trae como consecuencia un aumento en la resistencia a la acción de la insulina. TNF α es un potente inhibidor de las fosforilaciones de la tirosina de la cadena beta del receptor de insulina y del sustrato para el receptor de la insulina IRS-1. [60] Estos resultados sugieren que TNF α puede jugar un papel crucial en la RI sistémica. Existe evidencia que identifica a la inflamación como el nexo potencial entre la expansión del TA y las complicaciones cardiovasculares.[61] La obesidad es considerada como una condición que facilita el desarrollo de inflamación de bajo grado caracterizada por el incremento en las concentraciones plasmáticas de citocinas proinflamatorias, TNF α , interleucinas y adipocinas secretadas por los adipocitos que interfieren con la señalización de la insulina [62] o por los macrófagos infiltrados en el TA.[63] En nuestros resultados, esta asociación se identifica con las diferencias que existen en la concentración plasmática de adipocinas como leptina y de proteína C

reactiva tanto al aumentar el IMC como el HOMA-IR como fue descrito previamente. [64]

Como se puede observar a lo largo de este trabajo, la obesidad es un fenómeno muy complejo en el cual están involucrados una serie de citocinas,[62] factores de transcripción y hormonas que hacen que el adipocito así como el TA se comporte de una manera específica. Existen individuos que a pesar de tener obesidad no cumplen con el diagnóstico de SM por lo que se consideran metabólicamente sanos, aunque ya muestran algunos de sus criterios (dislipidemia, hipertensión, RI, etc) representando un punto intermedio entre individuos sanos con peso normal y obesos con riesgo cardiometabólico.

Es importante reconocer que la historia natural de la obesidad coincide con la presencia de SM y las patologías asociadas, por lo que si no se toman medidas para revertirlo sólo será cuestión de tiempo para identificar sus complicaciones.[65]

La evidencia hasta el momento muestra que la acumulación de grasa visceral, el peso al nacimiento, el tamaño de los adipocitos y genes que codifican la expresión de marcadores de diferenciación de estas células pueden favorecer el desarrollo de un perfil metabólico desfavorable, la comprensión de estos factores o mecanismos que predisponen, retardan o protegen de las complicaciones metabólicas ayudará para poder desarrollar intervenciones efectivas para su prevención y tratamiento.[66] La RI ocurre en los sujetos obesos por su incapacidad para responder al almacenamiento de AG incrementando el número de adipocitos maduros, remodelar el TA disfuncional o generar tejido sano puede ser una opción en el tratamiento de la obesidad que ya ha sido comprobada en

humanos con el uso de las tiazolinedionas, asociada con el incremento en la adiponectina[26, 67, 68] y activación por lo tanto de los PPAR γ con la mejoría clínica de estos individuos.[69]

9. CONCLUSIONES

En este trabajo además de demostrar una estrecha asociación entre el IMC, la RI y los marcadores de inflamación, se demostró que la hipertrofia de los adipocitos viscerales tiene una importante relación con la sensibilidad a la acción de la insulina y la presencia de SM. A pesar de esto, no se evidenció relación con el IMC lo que podría explicar la existencia de sujetos obesos metabólicamente sanos o individuos con peso normal y alteraciones metabólicas graves.

Encontramos que existe un desequilibrio entre los genes relacionados con la funcionalidad del adipocito: la expresión de CEBP α y adiponectina disminuye al incrementar el IMC mientras que, por otro lado incrementa la de leptina y TNF α . Los individuos con RI tienen mayor expresión de genes involucrados en la lipogénesis y aquellos que favorecen la inflamación, este último hallazgo también lo documentamos en pacientes con diagnóstico de SM que además tienen reducida la expresión del receptor de leptina favoreciendo la resistencia a su acción.

La presencia en esta muestra de pacientes del polimorfismo R230C del gen *ABCA1* que ha sido propuesto como un marcador de nuestra herencia Amerindia relacionado con el SM, se encontró asociada con mayor IMC, porcentaje de grasa, insulina y HOMA-IR.

10. REFERENCIAS

1. García-García, E. and R. Violante-Ortíz, *¿Cómo se diagnostica la obesidad y quién debe hacerlo? Posición de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología. Obesidad, Diagnóstico y Tratamiento. Rev Endocrinol Nutr* 2004. 12(4 supl 3): p. S91-S95.
2. Barquera-Cervera, S., et al., *Obesidad en Mexico: epidemiología y políticas de salud para su control y prevención. Gaceta Médica de México*, 2010. 146: p. 397-407.
3. WHO, *Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic 2000. Report of a WHO consultation, in WHO technical report series*2000. p. 894.
4. *Norma Oficial Mexicana NOM-008-SSA3-2010, Para el tratamiento integral del sobrepeso y la obesidad.*
5. *World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of Diabetes Mellitus and its complications: Report of a WHO Consultation. Geneva, World Health Org 1999. .*
6. *Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). Jama*, 2001. 285(19): p. 2486-97.
7. Alberti, K.G., et al., *Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International*

- Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. Circulation, 2009. 120(16): p. 1640-5.*
8. Lerman, I., et al., *El síndrome metabólico. Posición de la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología, sobre la definición, fisiopatología y diagnóstico. Características del síndrome metabólico en México. Rev Endocrinol Nutr 2004 12 (9): p. 109-22.*
 9. Curti, M.L., et al., *Studies of gene variants related to inflammation, oxidative stress, dyslipidemia, and obesity: implications for a nutrigenetic approach. J Obes, 2011. 2011: p. 497401.*
 10. P, P., *Do DNA sequence variants in ABCA1 contribute to HDL cholesterol levels in the general population? J Clin Invest, 2004. 114(9): p. 1244-7.*
 11. Villarreal-Molina, M.T., et al., *Association of the ATP-binding cassette transporter A1 R230C variant with early-onset type 2 diabetes in a Mexican population. Diabetes, 2008. 57(2): p. 509-13.*
 12. Unger, R.H., *Minireview: weapons of lean body mass destruction: the role of ectopic lipids in the metabolic syndrome. Endocrinology, 2003. 144(12): p. 5159-65.*
 13. Mechanick, J.I., et al., *American Association of Clinical Endocrinologists, The Obesity Society, and American Society for Metabolic & Bariatric Surgery Medical guidelines for clinical practice for the perioperative nutritional, metabolic, and nonsurgical support of the bariatric surgery patient. Endocr Pract, 2008. 14 Suppl 1: p. 1-83.*

14. Lee, Y., et al., *Beta-cell lipotoxicity in the pathogenesis of non-insulin-dependent diabetes mellitus of obese rats: impairment in adipocyte-beta-cell relationships*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1994. 91(23): p. 10878-82.
15. Shimomura, I., et al., *Decreased IRS-2 and increased SREBP-1c lead to mixed insulin resistance and sensitivity in livers of lipodystrophic and ob/ob mice*. Mol Cell, 2000. 6(1): p. 77-86.
16. Unger, R.H., *Reinventing type 2 diabetes: pathogenesis, treatment, and prevention*. Jama, 2008. 299(10): p. 1185-7.
17. Ruderman, N., et al., *The metabolically obese, normal-weight individual revisited*. Diabetes, 1998. 47(5): p. 699-713.
18. Aguilar-Salinas, C.A., et al., *High adiponectin concentrations are associated with the metabolically healthy obese phenotype*. J Clin Endocrinol Metab, 2008. 93(10): p. 4075-9.
19. Pataky, Z., et al., *Metabolic normality in overweight and obese subjects. Which parameters? Which risks?* Int J Obes (Lond), 2011. 35(9): p. 1208-15.
20. Pataky, Z., E. Bobbioni-Harsch, and A. Golay, *Open questions about metabolically normal obesity*. Int J Obes (Lond), 2010. 34 Suppl 2: p. S18-23.
21. Stefan, N., et al., *Identification and characterization of metabolically benign obesity in humans*. Arch Intern Med, 2008. 168(15): p. 1609-16.
22. Gauthier, M.S. and N.B. Ruderman, *Adipose tissue inflammation and insulin resistance: all obese humans are not created equal*. Biochem J, 2010. 430(2): p. e1-4.

23. Abate, N., et al., *Relationships of generalized and regional adiposity to insulin sensitivity in men*. J Clin Invest, 1995. 96(1): p. 88-98.
24. Spalding, K.L., et al., *Dynamics of fat cell turnover in humans*. Nature, 2008. 453(7196): p. 783-7.
25. Bluher, M., *Adipose tissue dysfunction in obesity*. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 2009. 117(6): p. 241-50.
26. Kadowaki, T., et al., *Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome*. J Clin Invest, 2006. 116(7): p. 1784-92.
27. Kovacova, Z., et al., *The impact of obesity on secretion of adiponectin multimeric isoforms differs in visceral and subcutaneous adipose tissue*. Int J Obes (Lond), 2011.
28. Procaccini, C., E. Jirillo, and G. Matarese, *Leptin as an immunomodulator*. Mol Aspects Med, 2012. 33(1): p. 35-45.
29. Park, B.H., et al., *Combined leptin actions on adipose tissue and hypothalamus are required to deplete adipocyte fat in lean rats: implications for obesity treatment*. J Biol Chem, 2006. 281(52): p. 40283-91.
30. Gunawardana, S.C. and D.W. Piston, *Reversal of type 1 diabetes in mice by brown adipose tissue transplant*. Diabetes, 2012. 61(3): p. 674-82.
31. Danforth, E., Jr., *Failure of adipocyte differentiation causes type II diabetes mellitus?* Nat Genet, 2000. 26(1): p. 13.
32. MacDougald, O.A. and M.D. Lane, *Transcriptional regulation of gene expression during adipocyte differentiation*. Annu Rev Biochem, 1995. 64: p. 345-73.

33. Cawthorn, W.P., et al., *Tumour necrosis factor-alpha inhibits adipogenesis via a beta-catenin/TCF4(TCF7L2)-dependent pathway*. *Cell Death Differ*, 2007. 14(7): p. 1361-73.
34. Farmer, S.R., *Transcriptional control of adipocyte formation*. *Cell Metab*, 2006. 4(4): p. 263-73.
35. Kim, J.Y., et al., *Obesity-associated improvements in metabolic profile through expansion of adipose tissue*. *J Clin Invest*, 2007. 117(9): p. 2621-37.
36. Unger, R.H., *Lipid overload and overflow: metabolic trauma and the metabolic syndrome*. *Trends Endocrinol Metab*, 2003. 14(9): p. 398-403.
37. Huan, J.N., et al., *Adipocyte-selective reduction of the leptin receptors induced by antisense RNA leads to increased adiposity, dyslipidemia, and insulin resistance*. *J Biol Chem*, 2003. 278(46): p. 45638-50.
38. Wang, M.Y., et al., *Adipogenic capacity and the susceptibility to type 2 diabetes and metabolic syndrome*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008. 105(16): p. 6139-44.
39. Kloting, N., et al., *Insulin-sensitive obesity*. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 299(3): p. E506-15.
40. Barbarroja, N., et al., *The obese healthy paradox: is inflammation the answer?* *Biochem J*. 430(1): p. 141-9.
41. Dubois, S.G., et al., *Decreased expression of adipogenic genes in obese subjects with type 2 diabetes*. *Obesity (Silver Spring)*, 2006. 14(9): p. 1543-52.

42. Isakson, P., et al., *Impaired preadipocyte differentiation in human abdominal obesity: role of Wnt, tumor necrosis factor-alpha, and inflammation*. *Diabetes*, 2009. 58(7): p. 1550-7.
43. Tinahones, F.J., et al., *Obesity and insulin resistance-related changes in the expression of lipogenic and lipolytic genes in morbidly obese subjects*. *Obes Surg*. 20(11): p. 1559-67.
44. Im, S.S., et al., *Regulation of GLUT4 gene expression by SREBP-1c in adipocytes*. *Biochem J*, 2006. 399(1): p. 131-9.
45. Collins, S., E. Yehuda-Shnaidman, and H. Wang, *Positive and negative control of Ucp1 gene transcription and the role of beta-adrenergic signaling networks*. *Int J Obes (Lond)*, 2010. 34 Suppl 1: p. S28-33.
46. Enerback, S., *Brown adipose tissue in humans*. *Int J Obes (Lond)*, 2010. 34 Suppl 1: p. S43-6.
47. Wang, Q., et al., *Brown adipose tissue in humans is activated by elevated plasma catecholamines levels and is inversely related to central obesity*. *PLoS One*, 2011. 6(6): p. e21006.
48. Olaiz-Fernández, G., et al., *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006* Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca, México, 2006.
49. Smith, U., L. Sjostrom, and P. Bjornstorp, *Comparison of two methods for determining human adipose cell size*. *J Lipid Res*, 1972. 13(6): p. 822-4.
50. Chomczynski, P. and N. Sacchi, *Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction*. *Anal Biochem*, 1987. 162(1): p. 156-9.

51. Gabrielsson, B.G., et al., *Evaluation of reference genes for studies of gene expression in human adipose tissue*. *Obes Res*, 2005. 13(4): p. 649-52.
52. R Rojas-Martínez, et al., *Prevalence of obesity and metabolic syndrome components in Mexican adults without type 2 diabetes or hypertension*. *Salud Publica Mex* 2012. 54: p. 7-12.
53. García-García, E., et al., *La obesidad y el síndrome metabólico como problema de salud pública. Una reflexión. Primera parte* *Salud Mental* 2008. 31 p. 489-496.
54. Frigolet-Vázquez-Vela ME, Torres N, and T. AR, *White Adipose Tissue as Endocrine Organ and Its Role in Obesity*. *Arch Med Res*, 2008. 39(8): p. 715-28.
55. Kalupahana N, Moustaid-Moussa N, and C. KJ, *Immunity as a link between obesity and insulin resistance*. *Mol Aspects Med.*, 2012. 33(1): p. 26-34.
56. M Guevara-Cruz, et al., *Increase in HDL-C concentration by a dietary portfolio with soy protein and soluble fiber is associated with the presence of the ABCA1R230C variant in hyperlipidemic Mexican subjects..* *Mol Genet Metab* 2010. 101(2): p. 268-72.
57. Neel, J.V., *Diabetes mellitus: a "thrifty" genotype rendered detrimental by "progress"?* *Am J Hum Genet*, 1962. 14: p. 353-62.
58. Ide, T., et al., *SREBPs suppress IRS-2-mediated insulin signalling in the liver*. *Nat Cell Biol*, 2004. 6(4): p. 351-7.
59. Payne, V.A., et al., *C/EBP transcription factors regulate SREBP1c gene expression during adipogenesis*. *Biochem J*, 2010. 425(1): p. 215-23.

60. Hotamisligil, G. and B. Spiegelman, *Tumor necrosis factor alpha: a key component of the obesity-diabetes link..* Diabetes, 1994. 43(11): p. 1271-8.
61. Hotamisligil, G.S., *Inflammation and metabolic disorders.* Nature, 2006. 444(7121): p. 860-7.
62. Ouchi, N., et al., *Adipokines in inflammation and metabolic disease.* Nat Rev Immunol, 2011. 11(2): p. 85-97.
63. Bhargava, P. and C.H. Lee, *Role and function of macrophages in the metabolic syndrome.* Biochem J, 2012. 442(2): p. 253-62.
64. Visser, M., et al., *Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults.* Jama, 1999. 282(22): p. 2131-5.
65. Cameron, A.J., *Metabolically normal obesity: a misnomer?* Int J Obes (Lond), 2012. 36(1): p. 164; author reply 165.
66. Clement, K., *Bariatric surgery, adipose tissue and gut microbiota.* Int J Obes (Lond), 2011. 35 Suppl 3: p. S7-15.
67. Yamauchi, T. and T. Kadowaki, *Physiological and pathophysiological roles of adiponectin and adiponectin receptors in the integrated regulation of metabolic and cardiovascular diseases.* Int J Obes (Lond), 2008. 32 Suppl 7: p. S13-8.
68. Ziemke, F. and C.S. Mantzoros, *Adiponectin in insulin resistance: lessons from translational research.* Am J Clin Nutr, 2010. 91(1): p. 258S-261S.
69. Primeau, V., et al., *Characterizing the profile of obese patients who are metabolically healthy.* Int J Obes (Lond), 2011. 35(7): p. 971-81.