



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE MEDICINA

BIOMEDICINA

CORRELACIÓN DE CAMBIOS PROINFLAMATORIOS Y METABÓLICOS EN NIÑOS CON

OBESIDAD

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

CECILIA ROSEL PECH

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS:DR. FELIPE VADILLO ORTEGA

FACULTAD DE MEDICINA, UNAM

COMITÉ TUTOR:DR. JULIO ISRAEL PÉREZ CARREÓN

INSTITUTO NACIONAL DE MEDICINA GENÓMICA

DR. ALEJANDRO ZENTELLA DEHESA

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM

MÉXICO D.F., AGOSTO 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE MEDICINA

BIOMEDICINA

CORRELACIÓN DE CAMBIOS PROINFLAMATORIOS Y METABÓLICOS EN NIÑOS CON

OBESIDAD

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

CECILIA ROSEL PECH

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. FELIPE VADILLO ORTEGA

FACULTAD DE MEDICINA, UNAM

COMITÉ TUTOR: DR. JULIO ISABEL PÉREZ CARREÓN

INSTITUTO NACIONAL DE MEDICINA GENÓMICA

DR. ALEJANDRO ZENTELLA DEHESA

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS, UNAM

MÉXICO D.F., AGOSTO 2015

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que el Subcomité de Biología Experimental y Biomedicina del Posgrado en Ciencias Biológicas, en su sesión ordinaria del día 11 de mayo de 2015, aprobó el jurado para la presentación de su examen para obtener el grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna **ROSEL PECH CECILIA** con número de cuenta **514012520**, con la tesis titulada **"CORRELACIÓN DE CAMBIOS PROINFLAMATORIOS Y METABÓLICOS EN NIÑOS CON OBESIDAD"**, realizada bajo la dirección del **DR. FELIPE VADILLO ORTEGA**:

Presidente: DRA. MARCIA HIRIART URDANIVIA
Vocal: DR. ARMANDO ROBERTO TOVAR PALACIO
Secretario: DR. JULIO ISABEL PÉREZ CARREÓN
Suplente: DR. OSCAR FLORES HERRERA
Suplente: DR. ALEJANDRO ZENTELLA DEHESA

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 04 de agosto de 2015

M. del Coro Arizmendi Arriaga
DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA



AGRADECIMIENTOS

A) Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM; por permitirme continuar mi formación académica, y de esta manera permitir contribuir al conocimiento científico de mi país

b) Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el otorgamiento del apoyo económico (N°CVU/becario 545509/292762) que me fue asignado durante mis años de estudio.

c) A los miembros del Comité Tutor:

A MÍ TUTOR EL Dr. Felipe Vadillo Ortega por sus enseñanzas, tiempo y dedicación a mi formación científica así como el haberme brindado la oportunidad de pertenecer a su equipo de trabajo.

COMITÉ TUTOR: Dr. Julio Pérez Carreón y Dr. Alejandro Zentella Dehesa por sus observaciones, enseñanzas y consejos brindados durante mi formación académica.

AGRADECIMIENTOS

A mi familia

Por todo su amor, guiarme y demostrarme las bases que rigen a una persona con principios, valores y respeto; pero sobre todo por estar siempre conmigo, escucharme y apoyarme a cada instante.

A mis amigos

Por esta siempre para escucharme, aconsejarme y enseñarme a comprender que la vida es divertida e incierta y se disfruta a cada momento, pero sobre todo que los amigos pueden llegar a ser como una familia, Dians, Yun... muchas gracias!

A mis compañeros del laboratorio

Por enseñarme y siempre acompañarme en cada paso de este proyecto pues cada uno apporto algo siendo de gran apoyo para mi formación académica y personal, gracias

A la Dra. Marcela Vela Amieva jefa del laboratorio de Errores Innatos del Metabolismo y Tamiz Neonatal en el Instituto Nacional de Pediatría, por su contribución para la cuantificación del perfil de aminoácidos y acilcarnitinas.

A la M en C. Isabel Ibarra González por su contribución para la cuantificación del perfil de aminoácidos y acilcarnitinas, así como apoyo técnico en el análisis de dichos resultados, en el laboratorio de Errores Innatos del Metabolismo y Tamiz Neonatal del Instituto Nacional de Pediatría y la Unidad de Genética de la Nutrición del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM.

Índice

Lista de abreviaturas	I
Lista de figuras	III
Lista de tablas	III
Lista de gráficas	IV
Resumen	1
Abstract	3
Introducción	5
Antecedentes	6
Capítulo I Obesidad	6
1.1 Definición de obesidad.....	6
1.2 Epidemiología de la obesidad en México.....	6
1.3 Impacto económico de la obesidad en México.....	6
1.4 Obesidad infantil.....	7
1.5 Prevalencia de sobrepeso y obesidad en niños escolares.....	7
1.6 Diagnóstico clínico de la obesidad infantil.....	8
Capítulo II Generalidades del tejido adiposo y su papel en la fisiopatología de la obesidad	10
2.1 Generalidades del tejido adiposo.....	10
2.2 Adipogénesis.....	10
2.3 Tejido adiposo blanco y su papel en la fisiopatología de la obesidad.....	11
Capítulo III Resistencia a la insulina inducida por la obesidad	15
3.1 Señalización de insulina.....	15
3.2 Alteraciones específicas del tejido en la señalización de la insulina.....	16
Capítulo IV Mecanismos moleculares involucrados en el daño metabólico, intermediarios lipídicos y la disfunción mitocondrial	18
4.1 Daño metabólico, intermediarios lipídicos y la disfunción mitocondrial.....	18
4.2 Formación de acilcarnitinas.....	19
4.2.1 La lanzadera de carnitina.....	19
4.2.2 Descripción general de la β -oxidación mitocondrial.....	19
4.3 El metaboloma y su método de análisis.....	21
4.4 Procedencia de las acilcarnitinas.....	22

4.5 El catabolismo de los aminoácidos de cadena ramificada y su relación con la resistencia a la insulina.....	22
4.6 Acilcarnitinas, resistencia a la insulina y su posible relación con la inflamación	26
Capítulo V La obesidad como inductor de procesos inflamatorios.....	27
5.1 Generalidades de la inflamación.....	27
5.2 Tejido adiposo blanco como principal inductor de inflamación y resistencia a la insulina en otros tejidos.....	28
5.3 El papel de las células inmunes como inductoras de inflamación y resistencia a la insulina.....	28
Problema de investigación.....	34
Hipótesis.....	35
Objetivos.....	35
Métodos.....	35
Diseño de estudio.....	35
Procedimiento.....	38
Análisis estadístico.....	41
Estrategia experimental.....	41
Resultados.....	44
Discusión.....	66
Conclusiones.....	76
Literatura citada.....	77
Anexos.....	84
Anexo 1. Carta de consentimiento informado.	
Anexo 2. Ficha técnica de antropometría	
Literatura citada	

Lista de abreviaturas

AA	Aminoácidos	IKKB	Inhibidor del factor kappa B
AC	Acilcarnitinas	INF γ	Interferón γ
AC2	Acetilcarnitinas	IL1- α	Interleucina 1- α
AC3	Propionilcarnitina	IL1- β	Interleucina 1- β
AC4	Butirilcarnitina	IL-2	Interleucina 2
AC5	Isovalerilcarnitina	IL-6	Interleucina 6
AC6	Hexanoilcarnitina	IL-10	Interleucina 10
AC8	Octanoilcarnitina	IL-12P40	Interleucina 12P40
AC10	Decanoilcarnitina	IL-17	Interleucina-17
AC12	Dodecanoilcarnitina/Lauroilcarnitina	IP10	Quimiocina IP10
AC14	Tetradecanoilcarnitina/Miristoilcarnitina	IMC	Índice de Masa Corporal
AC16	Palmitoilcarnitina	IMC/E	Indice de Masa Corporal para la Edad
AC18	Octadecanoilcarnitina	IRS	Sustrato del Receptor de Insulina
AGL	Ácidos grasos libres	JNK	Cinasa C-Jun N terminal
Ala	Alanina	LDL	Lipoproteína de baja densidad
Arg	Arginina	Leu	Leucina
BCAA	Aminoácidos de cadena ramificada Branched chain amino acid	LPL	Lipoproteína lipasa
C0	Carnitina libre	MTA	Macrófagos del tejido adiposo
CACT	Carnitina acilcarnitina translocasa	MIP1 α	Quimiocina proteína inflamatoria de macrófagos
CC	Circunferencia de Cintura	MIP1 β	Quimiocina proteína inflamatoria de macrófagos
Cit	Citrulina	M1 o M2	Macrófagos 1 / 2
CT	Colesterol Total	Met	Metionina
CD	Marcadores de superficie celular	NFKB	Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas
	Cluster of differentiation	OCDE	Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico
CDC	Centro para el control y prevención de enfermedades.	OCTN2	Transportador orgánico de cation/carnitina2
	Center for Disease Control and Prevention	OMS	Organización Mundial de la Salud
CEBP	Proteína de unión al potenciador CCAAT	Orn	Ornitina
C-Th1	Células colaboradoras1	PAD	Presión arterial diastólica
C- Th2	Células colaboradoras 2	PAS	Presión arterial sistólica
C-HDL	Colesterol- HDL	Phe	Fenilalanina
C-LDL	Colesterol-LDL	PPAR- γ	Proliferador de peroxisoma activador de receptores γ
Co A	Coenzima A	Pro	Prolina
COX-2	Ciclooxigenasa 2	PCR	Proteína C reactiva
		PI3K	Fosfoinositol 3 cinasa

CPT1	Carnitina palmitoiltransferasa 1	PKB	Proteina Cinasa B
CPT2	Carnitina palmitoiltransferasa 2	PKC	Proteina Cinasa C
CrAT	Carnitina acetiltransferasa	SIL-1ra	Quimiocina SIL-1ra
CrOT	Carnitina octanoiltransferasa	SLC16A 9	Transportador monocarboxilato 9
DAG	Diacylgliceroles	SOCS	Supresor de la señalización de quinasas
DM2	Diabetes Mellitus 2	TA	Tejido adiposo
ENN	Encuesta Nacional de Nutrición	TAB	Tejido adiposo blanco
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición	TAG	Triacylglicerol
FAS	Sintasa de ácidos grasos Fatty acid synthase	TCA	El ciclo de los ácidos tricarboxílicos
Gly	Glicina	Tyr	Tirosina
HDL	Lipoproteína de alta densidad High density lipoprotein	TNF α	Factor de necrosis tumoral alfa
ICT	Índice cintura talla	Val	Valina
IDF	Federación Internacional de Diabetes International Diabetes Federation	VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular Vascular Endotelial Growth Factor

Lista de figuras

Figura 1. El desarrollo de los adipocitos

Figura 2. Obesidad, resistencia a la insulina e inflamación

Figura 3. Mecanismo de señalización implicado en la activación de la vía PI3K/AKT mediado por la insulina

Figura 4. Representación esquemática del ciclo de la carnitina

Figura 5. La vía del catabolismo de los aminoácidos de cadena ramificada

Figura 6. Mecanismos de resistencia a la insulina inducida por los lípidos

Figura 7. El tejido adiposo como inductor de inflamación y alteraciones metabólicas en condiciones de obesidad

Figura 8. Esquema de la metodología

Figura 9. Técnica de espectrometría de masas en tándem

Lista de tablas

Tabla 1. Clasificación por índice de masa corporal para la edad con base en los criterios de la OMS

Tabla 2. Variables antropométricas, clínicas y bioquímicas

Tabla 3. Variables del perfil metabólico

Tabla 4. Variables del perfil inflamatorio

Tabla 5. Características generales de la población de estudio

Tabla 6. Características generales de la muestra de estudio

Tabla 7. Prevalencia de los marcadores bioquímicos por grupo de estudio

Tabla 8. Concentración sérica de marcadores bioquímicos por grupo de estudio

Tabla 9.0 Porcentaje de contribución de varianza por dimensión en la concentración de acilcarnitinas

Tabla 9.1 Porcentaje de contribución de varianza por dimensión en la concentración de aminoácidos

Tabla 9.2. Porcentaje de contribución de varianza por dimensión en la concentración de citocinas

Tabla 10.0 Valor de significancia en la diferencia de concentración de acilcarnitinas por grupo de estudio

Tabla 10.1 Concentración sérica de acilcarnitinas por grupo de estudio

Tabla 11.0 Valor de significancia en la diferencia de concentración de aminoácidos por grupo de estudio

Tabla 11.1 Concentración sérica de aminoácidos por grupo de estudio

Tabla 12.0 Asociación de aminoácidos y marcadores bioquímicos

Tabla 12.1 Valores de asociación entre aminoácidos y acilcarnitinas de cadena corta

Tabla 13.0 Valor de significancia en la diferencia de concentración de citocinas por grupo de estudio

Tabla 13.1 Concentración sérica de citocinas proinflamatorias por grupo de estudio

Tabla 13.2 Concentración sérica de citocinas antiinflamatorias por grupo de estudio

Tabla 13.3 Concentración sérica de quimiocinas por grupo de estudio

Tabla 14. Porcentaje de incremento en la concentración glucosa y triacilgliceroles correspondientes al aumento de grasa corporal

Tabla 15. La presión arterial por grupo de estudio

Lista de gráficas

- Gráfica 1.** Cambio en la prevalencia nacional de sobrepeso y obesidad por género en niños de 5 a 11 años en México
- Gráfica 2.** Distribución de la población general y su clasificación por el IMC/E
- Gráfica 3.** Asociación entre el IMC/E y el índice cintura-talla
- Gráfica 4.** Asociación entre el IMC/E y el percentil cintura/edad
- Gráfica 5.** Distribución de la muestra de estudio clasificada por el IMC/E
- Gráfica 6.** Concentración de marcadores bioquímicos por grupo de estudio
- Gráfica 7.** Asociación entre el IMC/E por marcador bioquímico
- Gráfica 8.** Representación gráfica del análisis de componentes principales de las acilcarnitinas
- Gráfica 9.** Representación gráfica del análisis de componentes principales de los aminoácidos
- Gráfica 10.** Representación gráfica del análisis de componentes principales de las citocinas
- Gráfica 11.** Concentración sérica de acilcarnitinas por grupo de estudio
- Gráfica 12.** Concentración sérica de aminoácidos por grupo de estudio
- Gráfica 13.** Asociación entre los aminoácidos y el IMC/E
- Gráfica 14.** Concentración sérica de citocinas por grupo de estudio
- Gráfica 15.** Concentración sérica de citocinas por grupo de estudio

RESUMEN

Antecedentes: La obesidad es una condición en la cual el exceso de tejido adiposo afecta de manera adversa la salud. México ocupa el primer lugar en obesidad infantil a nivel mundial. La correlación positiva del aumento del tejido adiposo con cambios metabólicos asociados a resistencia a la insulina y el aumento de la concentración de mediadores inflamatorios, sugiere un comienzo temprano y complejo de los mecanismos fisiopatogénicos que conducen a las comorbilidades de la obesidad. Sin embargo, se desconoce si estos cambios son sucesivos, simultáneos o se sinergizan para la producción de daño. Propusimos un modelo de estudio para la caracterización del problema conformado por niños en edad escolar que fueron clasificados de acuerdo a su porcentaje de grasa corporal y analizamos en ellos de manera simultánea el daño metabólico y el daño inflamatorio.

Objetivo: Describir los cambios en el perfil metabólico y de mediadores proinflamatorios en niños con diferente proporción de grasa corporal.

Métodos: estudio en escolares de 6 a 11 años de edad, estratificados con base en el IMC/E en un gradiente de composición de grasa corporal en cuatro grupos: peso normal, sobrepeso, obesidad y obesidad grave. Se midió la adiposidad por el IMC/E, el ICT y la CC. Se obtuvieron muestras de suero que fueron procesadas para la cuantificación de la glucosa, los TAG, el CT, el C-HDL y el C-LDL. Asimismo se determinó el perfil metabólico (12 AC y 11 AA) mediante la técnica de espectrometría de masas en tándem y el perfil inflamatorio (14 citocinas) a través del análisis múltiple de citocinas. Se realizaron análisis de datos descriptivos y análisis de correlación. La significancia estadística se consideró con valores de $p < 0.05$.

Resultados: Se analizaron 169 niños de ambos géneros, siendo la edad promedio de 8.8 años ± 1.3 , el peso de 32.38 ± 10 kg, la talla de 131.6 ± 9.9 cm, la CC de 65.5 ± 11.7 cm, el ICT de 0.49 ± 0.07 cm, la PAS/PAD de $106 / 63 \pm 12 / 11$ mmHg. La distribución de la población de estudio de acuerdo a la clasificación de la OMS, señaló que los niños con peso normal fueron 45.8% (n=78), con sobrepeso 26.5% (n=45), con obesidad 20.6% (n=34) y con obesidad extrema 7% (n=12). De acuerdo a la IDF la prevalencia de obesidad abdominal fue en los niños con sobrepeso de 17.8% (n=8), con obesidad el 48.6% (n=17) y obesidad extrema 100% (n=12). La prevalencia de riesgo cardiometabólico, fue en los niños con peso normal el 5.1% (n=4), con sobrepeso 71.1% (n=32), con obesidad 91.4% (n=32) y con obesidad extrema el 100% (n=12). Los resultados de los datos bioquímicos indicaron que la concentración de glucosa promedio fue de 96 ± 9 mg/dl, los TAG de 104.8 ± 46 mg/dl, el CT de 144.8 ± 30 mg/dl, el C-LDL de 69.7 ± 20 mg/dl, el C-HDL de 44.5 ± 12.8 mg/dl. Las concentraciones de glucosa, TAG, CT y C-LDL estuvieron significativamente aumentadas en los grupos con obesidad en comparación con el grupo con normopeso. Con respecto al perfil metabólico se encontró significativamente la concentración elevada de C0, AC3, AC5, AC6, AC14, AC16, Arg, Val y Tyr en los grupos con obesidad. Se encontraron asociaciones positivas entre las concentraciones incrementadas de TAG, AC y AA con la ganancia de masa grasa. Con respecto al perfil inflamatorio se encontró disminuida significativa la concentración de IL1 β e IL1Ra en el grupo con obesidad y por el contrario un incremento significativo en la concentración de MIP1 β en el mismo grupo.

Conclusiones Conforme aumenta el almacenamiento de grasa corporal en escolares, es posible encontrar alteraciones metabólicas progresivas y significativas lo que incluye mayor concentración de glucosa, TAG, AC y AA circulantes como producto de la saturación en la capacidad oxidativa mitocondrial. Proponemos que el exportar metabolitos del espacio intracelular podría ser un mecanismo de regulación homeostática por parte de los tejidos para mantener los límites fisiológicos antes del establecimiento de daño metabólico. La evidencia de inducción de la respuesta proinflamatoria sistémica apenas comienza a manifestarse en los niños con obesidad grave. Por tanto sugerimos que el mecanismo de daño metabólico asociado a la obesidad en los niños se manifiesta primero, y el mecanismo de daño inflamatorio aparece de manera más tardía.

Abstract

Background:

Obesity is a condition in which excess of adipose tissue adversely affects health. Mexico, ranks first in childhood obesity. The positive correlation of increased adipose tissue given by metabolic changes associated with insulin resistance and the increased concentrations of inflammatory mediators, suggest an early and complex onset of pathogenic mechanisms leading to obesity comorbidities. However, it is unknown whether these changes are consecutive, simultaneous or synergize to produce damage; we proposed a model study for the characterization of the problem formed by schoolchildren who were classified according to their percentage of body fat and also we analyzed simultaneously their metabolic and inflammatory profiles.

Aims: To describe the changes in the metabolomic profile and proinflammatory mediators in children with different proportion of body fat.

Method of study: The present study was conducted in school children of 6-11 years old, classified in four groups according to composition of body fat: normal weight, overweight, obesity and severe obesity based on the BMI. Adiposity by BMI, ICT and CC was measured. Serum samples were processed for quantification of glucose, TAG, TC, HDL-C, LDL-C. Also the metabolomic profile (12 AC and 11 AA) was measured by tandem mass spectrometry technique and inflammatory profile (14 cytokines) through Multiplex technique. Descriptive data analysis and correlation analysis were performed. Statistical significance was considered at $p < 0.05$.

Results: 169 children of both genders were analyzed, obtaining average age of 8.8 ± 1.33 years, weight 32.38 ± 10.12 kg, height 131.6 ± 10 cm, CC 65.5 ± 11.7 cm, ICT 0.49 ± 0.07 cm, SAP/DAP $106/63 \pm 13/11$ mmHg. The distribution of the study population according to the WHO classification was: children with normal weight 45.8% (n=78), 26.5% overweight (n=45), obesity, 20.6% (n=34) and obese extreme 7% (n=12). According to the IDF, abdominal obesity prevalence was in overweight children 17.8% (n=8), obese 48.6% (n=17) and in extreme obesity 100% (n=12).

The prevalence of cardiometabolic risk in children with normal weight was 5.1% (n=4), overweight 71.1% (n=32), obese 91.4% (n=32) and extreme obesity 100% (n=12). Mean values of biochemical data measured in the study population were glucose 96 ± 9 mg/dl, TAG 104.8 ± 46 mg/dl, TC 144.8 ± 30 mg/dl, LDL-C 69.7 ± 20 mg/dl, HDL-C 44.5 ± 13 mg/dl. The concentrations of glucose, TAG, TC and LDL-C were significantly increased in the obese group compared to the group with normal weight. Metabolomic profile revealed high concentrations of C0, AC3, AC5, AC6, AC14, AC16, Arg, Val and Tyr, being significantly higher concentrations in obese groups. Positive associations between increased concentrations of TAG, AC and AA to gain fat mass were found. In the inflammatory profile, a significant decrease in IL1 β and IL1ra concentrations in the obese group was found and instead a significant increase in MIP1 β concentration in the same group was found.

Conclusions.

With increasing deposition of body fat in schoolchildren, its possible to find progressive and significant metabolic abnormalities including higher concentration of glucose, TAG, AC and AA as a result of saturation in mitochondrial oxidative capacity. We propose that the output of intracellular metabolites to circulation could be a homeostatic regulatory mechanism by the tissues to maintain physiological limits before the establishment of metabolic damage. Evidence of the induction of systemic proinflammatory response just starts to manifest in children with severe obesity. We therefore suggest that the mechanism of metabolic damage associated with obesity onset first and inflammatory damage mechanism appears later.

Introducción

La obesidad es una condición en la cual la acumulación excesiva de tejido adiposo afecta de manera adversa a la salud y el bienestar. México ocupa el primer lugar en obesidad infantil a nivel mundial, el grado y la duración de la condición de obesidad incrementa el riesgo de desarrollar una gran variedad de condiciones patológicas, que tienen en común complicaciones metabólicas e inflamatorias, que desembocan principalmente en desenlaces cardiovasculares. El crecimiento exponencial en la prevalencia de esta enfermedad, el costo económico, los riesgos para la salud y el impacto en la calidad de vida, justifican la imperiosa necesidad de conocer los mecanismos de daño implicados a lo largo del desarrollo de la fisiopatología de la obesidad en niños de edad escolar. Dichos mecanismos se explican a partir de dos enfoques principales:

1. La obesidad como inductor de daño metabólico asociado al incremento en la concentración de ácidos grasos libres e intermediarios lípidicos circulantes, los cuales interfieren en la señalización de insulina. Esto ocasiona la pérdida en la transición gradual del intercambio y utilización de sustratos disponibles conocida como inflexibilidad metabólica; la cual puede inducir a través de la alteración en diversos mecanismos y puntos de control en el flujo de las vías metabólicas resistencia a la insulina (RI), glucotoxicidad y lipotoxicidad sistémica.
2. La obesidad como inductor de daño inflamatorio sistémico por el aumento en las concentraciones de mediadores proinflamatorios (TNF α , IL6, IL1 β , entre otras), secretados principalmente por el tejido adiposo.

La correlación positiva del aumento del tejido adiposo con los cambios metabólicos asociados a resistencia a la insulina y el aumento de la concentración de mediadores inflamatorios, sugiere un comienzo temprano y complejo de los mecanismos fisiopatogénicos que conducen a las comorbilidades de la obesidad. Sin embargo, se desconoce si estos cambios son sucesivos o simultáneos, por lo que se propone estudiar la secuencia temporal de estos cambios. Para este objetivo propusimos un modelo de estudio conformado por estratos de niños en edad escolar que fueron clasificados de acuerdo a su porcentaje de grasa corporal en los que se analizaron de manera simultánea el daño metabólico y el daño inflamatorio. Este modelo permitió un acercamiento a la caracterización de diferentes fenotipos y la respuesta metabólica que presentan durante la ganancia de grasa corporal.

Por tanto fue posible proponer con este enfoque la identificación de cuál de estos mecanismos de daño aparece primero, conforme aumenta la adiposidad en los niños.

Antecedentes

Capítulo I Obesidad

1.1 Definición de obesidad

La obesidad es una enfermedad de etiología multifactorial, desarrollada por la interrelación entre el genotipo y el ambiente, en la cual interactúan factores biológicos, psicológicos, sociales, culturales, políticos, económicos y ambientales. Esta serie de factores interaccionan de forma compleja dentro del estilo de vida en las diferentes poblaciones y se manifiestan por el desequilibrio entre la ingestión y el gasto energético, que tiene como resultado la acumulación de tejido adiposo (Campbell., 2000; Friedman, 2000; National Institutes of Health, 2000).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define a la obesidad como la acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud (World Health Organization, 2009). Además la obesidad incrementa el riesgo de desarrollar una gran variedad de condiciones patológicas, que desembocan principalmente en desenlaces cardiovasculares.

1.2 Epidemiología de la obesidad en México

México ocupa los primeros lugares a nivel mundial en obesidad tanto en niños como en adultos. La prevalencia de obesidad a nivel mundial ha incrementado de forma exponencial, de acuerdo a la OMS entre 1980 y el 2008 más del 10% de los adultos mayores de 20 años tenían obesidad. Según en la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) en la actualidad más del 70% de los adultos padecen sobrepeso en México, una proporción mayor que en cualquier otro país (World Obesity Federation, 2014).

Con respecto al ámbito nacional, en la población adulta de acuerdo con la Encuesta Nacional de Nutrición (ENN) en 1999 la prevalencia de sobrepeso fue de 38.4% y la de obesidad de 23.7%; En el año 2006 de acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) la prevalencia de sobrepeso fue de 39.8% y la de obesidad de 30.8%; En el año 2012 la prevalencia conjunta de sobrepeso y obesidad fue de 71.28%, siendo el 32.43% en obesidad y 38.8% en sobrepeso (Instituto Nacional de Salud Pública, 2012).

1.3 Impacto económico de la obesidad en México

La prevalencia incrementada de obesidad y sus comorbilidades tiene repercusiones sociales y económicas muy fuertes. La evaluación del impacto económico en la salud de la población mexicana derivado de la obesidad y el sobrepeso de acuerdo a la unidad de análisis económico de la Secretaría de Salud en México, el costo público directo de cuatro enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) seleccionadas vinculadas con la obesidad (diabetes mellitus tipo 2, enfermedades cardiovasculares, cáncer de mama y osteoartritis) se estimó en \$42 mil millones de pesos en el año 2008 y se prevé que podría ascender, de no intervenir más, a casi \$78 mil millones de pesos para el años 2017 .

La atención médica de las ECNT relacionadas con la obesidad representan el 13% del gasto total en salud y el costo indirecto por muerte prematura de las ECNT relacionadas con la

obesidad se estimó en \$25 mil millones de pesos en el año 2008, y de no intervenir alcanzará los \$73 millones de pesos en el 2017; afectando 68 mil familias por año (Gutiérrez, 2009).

Por tanto, se resalta el impacto que la obesidad y las ECNT tienen en la economía general del país y a distintos niveles en el capital humano, ya que a nivel individual disminuye la calidad y la esperanza de vida. A nivel grupal o familiar la muerte prematura de algún miembro en el hogar en edad productiva, generará empobrecimiento a las familias y a nivel global se afectará la productividad y la economía en general del país (Campbell, 2000; Kopelman, 2000).

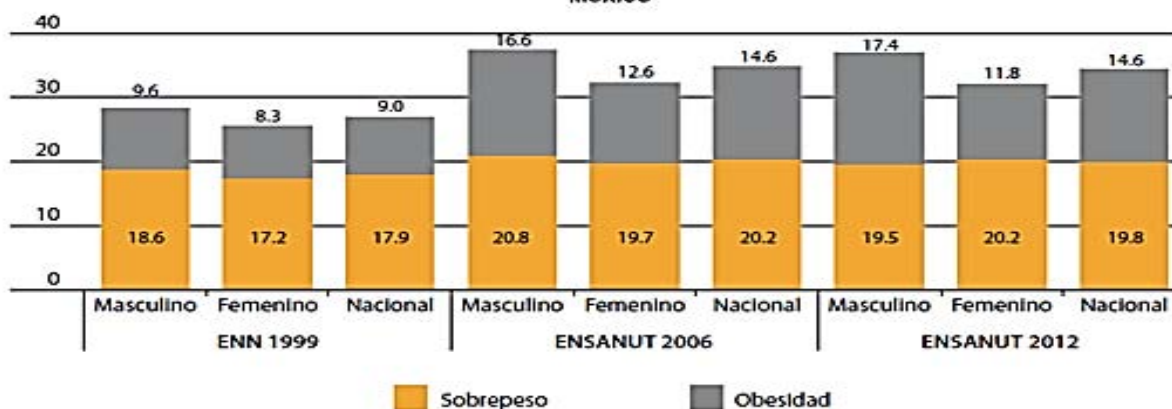
1.4 Obesidad infantil

La obesidad infantil es uno de los problemas de salud pública más graves del siglo XXI, el origen de esta patología es complejo y sólo puede ser entendido considerando un número importante de variables interactivas que desembocan en un factor común que se manifiesta por el desequilibrio en la ingesta y el gasto energético, que tiene como resultado la acumulación de tejido graso (Balas-Nakash, Perichart-Perera, Tolentino-Dolores, & Mier-Cabrera, 2013). La obesidad infantil tiene como consecuencias un gran número de complicaciones ortopédicas, respiratorias, cardiovasculares, digestivas, dermatológicas, neurológicas, endocrinas e incluso ciertas formas de cáncer, todas estas alteraciones en general condicionan a una menor esperanza de vida.

1.5 Prevalencia de sobrepeso y obesidad en niños escolares

De acuerdo a la Encuesta Nacional de Nutrición (ENN) en el año de 1999 la prevalencia nacional conjunta de sobrepeso y obesidad fue de 26.9%; en el año 2006 de acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2006 la prevalencia fue de 34.8% y en la última ENSANUT 2012 la prevalencia nacional de sobrepeso y obesidad fue de 34.4%, representando estas cifras alrededor de 5, 664,870 niños en el país con sobrepeso y obesidad. (Instituto Nacional de Salud Pública, 2012), gráfico 1.

Gráfica 1. Cambio en la prevalencia nacional de sobrepeso y obesidad por género en niños de 5 a 11 años en México



Tomada de ENSANUT 2012 (Instituto Nacional de Salud Pública, 2012)

1.6 Diagnóstico clínico de obesidad infantil

La antropometría es un conjunto de técnicas que permiten medir y evaluar las dimensiones físicas y el crecimiento lineal en niños, mediante una serie de medidas, incluyendo el peso, la talla y las circunferencias. Asimismo los indicadores permiten asociar datos y brindarles una interpretación biológica, así como el establecimiento de puntos de corte y límites (Gibson, 2005).

Se usan varias escalas en la población pediátrica para describir y evaluar los indicadores antropométricos y clínicos siendo los más comunes el Z score y los percentiles. El Z score denota unidades de desviación estándar (DE) con respecto a la media de un conjunto de datos y permite localizar una observación o individuo sobre la curva normal en términos del valor de DE, detectando de esta forma la dispersión en referencia a la media poblacional. Por su parte los percentiles califican la posición del niño en el contexto poblacional, lo cual indica qué porcentaje de la población es menor o mayor al individuo en cuestión (Hedricks D., 2007). Los patrones de crecimiento son instrumentos que se utilizan extensamente en salud pública para evaluar y vigilar el crecimiento en niños; los puntos de corte usados para definir el crecimiento normal en niños por el centro para el control y prevención de enfermedades (CDC) y por la OMS, están fundamentados en constructos estadísticos (Onis, Garza, Onyango, & Borghi, 2007). En el 2006, la OMS publicó sus tablas y curvas de crecimiento que documentan el crecimiento de niños sanos bajo condiciones nutricionales y ambientales óptimas y en el ámbito internacional son las más utilizadas (Onis, Garza, Onyango, Martorell, & World Health Organization, 2006).

Por tanto los indicadores antropométricos utilizados para evaluar el crecimiento en población pediátrica, son una herramienta sencilla que permite identificar a los niños con riesgo de padecer alguna enfermedad cardiometabólica. Los indicadores más utilizados en la práctica clínica son:

Índice de Masa Corporal (IMC)

El IMC o índice Quetelet ($\text{peso}/\text{talla}^2$) es un indicador del contenido corporal de grasa. Se determina dividiendo el peso en kilogramos entre su talla en metros al cuadrado ($\text{peso (kg)}/\text{talla (m}^2\text{)}$). Este índice se reconoce como un indicador de delgadez, sobrepeso, obesidad y obesidad grave en niños y adolescentes. Se ha correlacionado positivamente con grasa corporal estimada con densitometría y resonancia magnética. La categorización de sobrepeso y obesidad ha sido limitada, así como la validación para establecer curvas y puntos de corte de IMC para niños ha sido muy complicada a lo largo de la historia, pues este indicador cambia sustancialmente con la edad. No obstante hasta el momento el IMC es la mejor herramienta para monitorizar el progreso de los programas e intervenciones contra el sobrepeso y la obesidad infantil. Varios grupos han recomendado al IMC como indicador por elección para evaluar obesidad en niños y adolescentes de 2 a 19 años de edad; sin embargo, hay que considerar que en población pediátrica para obtener la clasificación con base en este indicador además del peso y la talla también se considera la edad y el género. Entonces debido a que este indicador expresa una correlación fuerte con el porcentaje de grasa corporal, permite identificar correctamente a los individuos con mayor adiposidad (Drife, 1999; Maffei, Banzato, & Talamini, 2008; Manios et al., 2008), tabla 1.

Tabla 1. Clasificación por índice de masa corporal para la edad con base en los criterios de la OMS

Grupos de estudio	Valor de Zscore (Z)
IMC normal para la edad	($\leq 1 z$ a $\geq -2 z$)
Sobrepeso	(> $1 z$ a $\leq 2 z$)
Obesidad	(> $2 z$ a $\leq 3 z$)
Obesidad grave	(> $3 z$)

Tomado de (World Health Organization, 2009)

Circunferencia de cintura (CC)

La distribución superior de tejido adiposo, visceral o central es considerada como un factor de riesgo en niños y en adultos. Un exceso de grasa abdominal está asociada a dislipidemia, factores de riesgo cardiovascular, DM2 y otras morbilidades. Una medición exacta de la grasa total y su distribución regional es fundamental para detectar obesidad en niños (Fernández, 2004).

En 2004, Fernández y cols., desarrollaron la distribución de circunferencia de cintura (CC) acorde a los percentiles 10, 25, 50, 75 y 90 en relación a la raza; una regresión percentilar fue utilizada para describir los cambios en la estimación de percentiles como una función de edad para grupo étnico (africano, europeo, americano y mexico-americano). Los datos para realizar este estudio fueron tomados de la Tercera Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Estados Unidos (NHANES III), la muestra evaluada incluyó individuos de 2 a 18 años de edad. Para diagnosticar obesidad abdominal el punto de corte a tomar es el correspondiente a un percentil >90 (Fernández JR., Redden DT., Pietrobelli A., 2004).

La CC se ha asociado con la grasa visceral en niños y algunos autores mencionan que es un predictor independiente de resistencia a insulina (RI) y obesidad abdominal, razón por la cual la Federación Internacional de Diabetes (IDF, por sus siglas en inglés) la ha considerado como componente principal para la definición de síndrome metabólico (SM) en población pediátrica (Manios et al., 2008; Brambilla et al., 2006).

Índice Cintura Talla

Es un indicador antropométrico que permite identificar el riesgo cardiometabólico independiente del género y la edad, no requiere de tablas antropométricas para su interpretación y se ve menos afectado por la maduración sexual. Para este indicador se ha propuesto que el punto de corte 0.5 es un predictor de riesgo cardiovascular (Maffeis et al., 2008; Savva, Lamnisis, & Kafatos, 2013).

Cuando se relacionan dos o más indicadores antropométricos tienden a aumentar su sensibilidad y especificidad, por tanto en el estudio realizado por Maffeis y cols., se encontró que cuando la relación del IMC de niños obesos con el índice cintura/talla (IC/T) > a 0.5, el riesgo de presentar riesgo cardiometabólico fue 12.11 veces más alto, en comparación con IMC normal y una relación IC/T < a 0.5 (Maffeis et al., 2008).

Por tanto la IC/T y CC son indicadores complementarios junto con el IMC en la identificación de obesidad en población pediátrica, dado que se asocian con riesgos cardiometabólicos futuros (Manios et al., 2008; Li, Ford, Mokdad, & Cook, 2006).

Capítulo II Generalidades del tejido adiposo y su papel en la fisiopatología de la obesidad

2.1 Generalidades del tejido adiposo

El tejido adiposo (TA) es un órgano dinámico que participa en procesos fisiológicos muy importantes para el mantenimiento de la homeostasis energética. Comprende una gran variedad de tipos celulares incluyendo células endoteliales, fibroblastos, células sanguíneas, preadipocitos, macrófagos y otras células del sistema inmune; siendo predominantes los adipocitos maduros (Sarjeant & Stephens, 2012). Integra una amplia variedad de procesos homeostáticos, ya que además de regular y almacenar los lípidos en forma de TAG, está involucrado en la respuesta inmune, el control de la presión arterial, la masa ósea, la tiroides y la función reproductiva (Rosen & Spiegelman, 2006).

El TA se ha clasificado principalmente como el tejido adiposo blanco (TAB) y tejido adiposo marrón (TAM), sus principales características son:

El TAB es el mayor reservorio de energía en forma de grasa en el cuerpo humano y es crítico para la homeostasis energética, debido a su función endócrina. Generalmente un adipocito del TAB es de forma esférica con diámetro menor a 10 μm que puede incrementar hasta 200 μm . Su reordenamiento interno es muy estrecho debido a que posee una vacuola lipídica que ocupa la mayor parte del citosol; el núcleo está comprimido entre la membrana plasmática y la vacuola; las mitocondrias, el retículo endoplásmico liso y rugoso, el aparato de Golgi y los demás organelos con una distribución dispersa.

El TAM tiene como principal función la termogénesis, la cual es mediada por la proteína desacoplante UCP1 en la mitocondria. El TAM juega un papel muy importante como depósito de grasa en los primeros meses de vida en gran variedad de mamíferos. En los últimos años se ha visto que el TAM también está presente en regiones torácicas y supraclaviculares en adultos (Sarjeant & Stephens, 2012).

2.2 Adipogénesis

La adipogénesis es la secuencia de acontecimientos que conduce al desarrollo de adipocitos completamente diferenciados, a partir de progenitores pluripotenciales no diferenciados y el proceso es distinto en el TAM y el TAB. En este trabajo nos enfocaremos a la descripción del TAB por su implicación directa en la fisiopatología de la obesidad (Martos-Moreno, Kopchick, & Argente, 2013).

Con respecto a la adipogénesis del TAB, los precursores embrionarios pluripotenciales dan lugar a células mesenquimatosas pluripotentes que, tras su reclutamiento hacia la línea adipocitaria determinan, secuencialmente la aparición de adipoblastos, preadipocitos tipo I y tras su expansión clonal a preadipocitos tipo II, siendo estos últimos los que acumularán vacuolas lipídicas para la conformación de adipocitos maduros. El TA como órgano endocrino sintetiza una gran cantidad de proteínas llamadas adipocinas de modo parácrino, autócrino y endócrino que llevan a cabo un gran número de funciones metabólicas. Además tiene efectos

en la función de órganos distantes como el músculo, el páncreas, el hígado y el cerebro (Martos-Moreno et al., 2013; Sarjeant & Stephens, 2012).

El desarrollo de los adipocitos es una progresión de la activación secuencial de una gran número de factores de transcripción. En el TAB esta secuencia comienza con la activación de miembros de la familia de factores de transcripción de la proteína de activación 1 (AP1) y continúa con la inducción y expresión de PPAR γ , un receptor nuclear crítico pro adipogénico. Otro factor de transcripción que induce la maduración del adipocito es el SREBP-1 (proteínas de unión a elementos de respuesta de esteroides 1), la familia de miembros C/EBP (CCAAT-Enhancer Binding Protein) y otra familia de factores de transcripción CCAAT/ enhancer binding proteins (C/EBPs) transductores de señales y activadores de transcripción (STATs, por sus siglas en inglés) y (LXR α , por sus siglas en inglés) (Otto & Lane, 2005; Sarjeant & Stephens, 2012), figura 1.

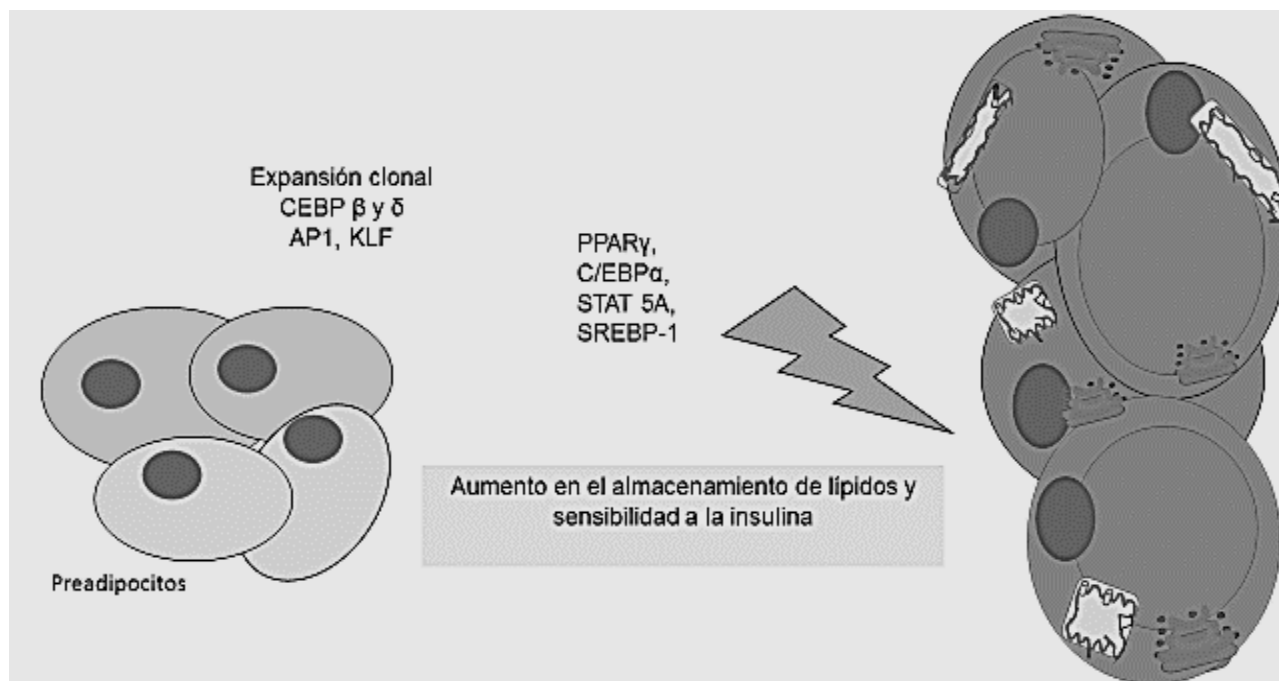


Figura 1. El desarrollo de los adipocitos. Los inductores de la adipogénesis C/EBP β , C/EBP δ , AP1 y KLF, estimulan a los preadipocitos a llevar a cabo su expansión clonal. Conforme incrementa la acumulación de lípidos, la activación transcripcional mediada por los factores de transcripción PPAR γ , C/EBP α , STAT 5A, SREBP-1, inducen la diferenciación de los adipocitos. Abreviaturas: AP1 (proteína de activación 1), C/EBP β y C/EBP δ (CCAAT/ proteína de unión al potenciador β), STAT5 (señales y activadores de transcripción), SREBP-1 (proteínas de unión a elementos de respuesta de esteroides 1) KLF (factor de transcripción de la familia Krüppel) PPAR γ (Proliferador de peroxisoma activador de receptores γ).

Los factores de transcripción que establecen las directrices del proceso son C/EBP α , β y δ y el PPAR γ .

C/EBPs: esta familia de proteínas se une al DNA en la secuencia CCAAT contenida en las regiones promotoras de varios genes. C/EBP β y δ son reguladores tempranos de la diferenciación de preadipocitos (Otto & Lane, 2005). Asimismo C/EBP α es activado transcripcionalmente por C/EBP β y δ , durante la diferenciación, C/EBP α estimula la

transcripción de genes como GLUT-4, PEPCK (fosfoenol piruvato carboxicinasa), leptina y el receptor de insulina.

PPAR γ : es un factor perteneciente a la superfamilia de receptores nucleares, se expresa como dos isoformas, PPAR γ 1 se expresa en casi todos los tejidos y PPAR γ 2 es la isoforma específica de adipocitos (Otto & Lane, 2005). Los ligandos naturales de PPAR γ son los ácidos grasos libres (AGL) y sus derivados. PPAR γ controla la expresión de varios genes necesarios en la fisiología del adipocito, como aP2/FABP4 (por sus siglas en inglés), LPL (lipoproteína lipasa), acetil coenzima A sintasa, sintasa de ácidos grasos (FAS, por sus siglas en inglés) y PEPCK. Todas ellas implicadas en la coordinación de la captación y almacenamiento de AGL (Otto & Lane, 2005; Sarjeant & Stephens, 2012).

Entonces la adipogénesis se da mediante la interacción entre distintos factores, se propone que los factores iniciales activados principalmente por acción de la insulina son C/EBP β y δ , ambos controlan la expresión de PPAR γ y C/EBP α que una vez expresados mantiene el fenotipo de adipocito diferenciado (Sarjeant & Stephens, 2012; Ahima, 2011).

2.3 Tejido adiposo blanco y su papel en la fisiopatología de la obesidad

El TAB consta de 2 componentes esenciales, los adipocitos y la matriz estromo vascular:

1. Los adipocitos tienen como característica principal la capacidad para el almacenamiento de lípidos. Los adipocitos liberan los AGL a la circulación, los cuales son utilizados por muchos órganos como fuente de energía cuando hay concentraciones bajas de glucosa en sangre. Los AGL se generan a partir de la ruptura de los TAG, los cuales contiene mayor cantidad de energía por unidad de masa.

2. La fracción estromovascular está compuesta por una matriz de colágena, terminales nerviosas, vasos sanguíneos y vasos linfáticos; en ésta se encuentran múltiples subpoblaciones celulares como los fibroblastos, los preadipocitos, las células endoteliales, las células dendríticas, los mastocitos, los granulocitos y los macrófagos embebidos en la matriz extracelular (Martos-Moreno et al., 2013).

En condiciones de obesidad el control de la homeostasis energética se va perdiendo gradualmente como consecuencia del balance energético positivo crónico, que resulta en un incremento exacerbado de la síntesis de lípidos que va acompañado del aumento en el tamaño (hipertrofia) y número (hiperplasia) de células del tejido adiposo.

El cambio hacia el almacenamiento de energía en forma de lípidos durante el comienzo de la obesidad es exacerbado por la retroalimentación positiva que los AGL ejercen sobre la lipogénesis. Esta retroalimentación positiva se basa en la habilidad de los AGL para estimular a PPAR γ , el cual es un factor de transcripción que regula los componentes responsables para la entrada de AGL y su conversión a triacilglicerol (TAG). El incremento en la síntesis y concentración de lípidos, inducen la activación de PPAR γ , el cual estimula la diferenciación de células del tejido adiposo blanco, que da lugar a la aparición de nuevas células de grasa, que se suman al desarrollo de la obesidad (Campbell., 2000; Singla, Bardoloi, & Parkash, 2010).

La ganancia de masa grasa ocasiona cambios histológicos, metabólicos y endocrinos en el TAB, siendo estos determinados por distintos factores como:

La capacidad del TAB para el reclutamiento de nuevos adipocitos desde los preadipocitos, una vez que los adipocitos preexistentes han alcanzado un tamaño crítico mediante la modificación de las secreciones paracrinas.

La capacidad del TAB para producir proteínas de quimioatracción (quimiocinas), que determinan modificaciones en la secreción del componente estromal favoreciendo subtipos de citocinas proinflamatorias por parte de los monocitos y macrófagos. Por tanto, conforme incrementa la masa grasa existe un cambio en el patrón de secreción endocrina de adipocinas en los adipocitos hipertróficos, en comparación con aquellos más pequeños (B.-C. Lee & Lee, 2014a; Martos-moreno et al., 2013).

Los niños y adolescentes incrementan el número de adipocitos de su TAB con una tasa de proliferación superior en los pacientes obesos en comparación con sujetos delgados, (Arner et al., 2011) lo que podría indicar que la obesidad de instauración precoz induce una tasa de reclutamiento de preadipocitos acelerada (Martos-Moreno et al., 2013), que determina un incremento de la población celular adipocitaria, lo que posiblemente atenuaría la hipertrofia adipocitaria y la afectación del patrón de secreción de adipocinas así como el inmunofenotipo de citocinas liberadas por las células inmunes del estroma vascular del TAB durante la infancia. Esto podría ser debido a que es la hipertrofia de adipocitos lo que determina el perfil de su secretoma, es decir el conjunto global de biomoléculas (por ejemplo metabolitos y proteínas) que son secretados por la célula, siendo dichos metabolitos los que pueden controlar y regular un gran número de procesos biológicos y fisiológicos que podrían favorecer el desarrollo de comorbilidades asociadas a la obesidad en edades más tempranas (Hathout Yetrib, 2007; McArdle, Finucane, Connaughton, McMorrow, & Roche, 2013).

El equilibrio entre la secreción y la sensibilidad a la insulina mantiene la glucemia en concentraciones normales; Sin embargo, en condiciones de obesidad la hiperinsulinemia y la RI son el eje principal en el desarrollo de estados patológicos como intolerancia a la glucosa, el desarrollo de DM2, SM, entre otras comorbilidades (Yeste & Carrascosa, 2011).

La RI se caracteriza por la ausencia en tejidos periféricos diana de una respuesta normal a la acción de dicha hormona. La RI tiene como mecanismo compensatorio la hiperproducción de insulina (hiperinsulinismo), dicho estado puede ser compatible con una glucemia normal, debido a que la disminución en la sensibilidad de los tejidos dependientes de insulina, se acompaña de un incremento compensatorio de la secreción de esta hormona lo que permite la normogluceemia; Sin embargo, cuando la hiperinsulinemia compensatoria resulta insuficiente para mantener la homeostasis en la glucemia, ésta comenzara a incrementarse, lo cual desembocara en hipergluceemia, intolerancia a la glucosa y finalmente en DM (Yeste & Carrascosa, 2011).

Durante las fases tempranas del desarrollo de la obesidad, la síntesis de proteínas musculares se ha asociado con el incremento de la masa muscular y la masa grasa; sin embargo, a largo plazo se ha reportado que la obesidad ocasiona pérdida de masa muscular asociada a disminución en la síntesis de proteínas (Guillet, Masgrau, Walrand, & Boirie, 2012; Masgrau et al., 2012). La insulina y los aminoácidos son reguladores clave del metabolismo de proteínas en el músculo esquelético, inhiben la proteólisis muscular y estimulan la síntesis de proteínas; sin embargo, en condiciones de obesidad y de RI se altera la capacidad de esta hormona para estimular la síntesis de proteínas o inhibir su degradación en el músculo esquelético, por consecuencia se presentan concentraciones plasmáticas elevadas de aminoácidos, siendo los aminoácidos de cadena ramificada (BCAA, por sus siglas en inglés), los que más se han asociado con el desarrollo de diabetes (Guillet et al., 2012).

Con base en todo lo mencionando es claro que a nivel celular la RI inducida por obesidad tiene dos enfoques;

1. La RI asociada a la obesidad desde la perspectiva del daño metabólico es ocasionada principalmente por intermediarios lipídicos que alteran la vía de señalización de insulina repercutiendo en la función de sus órganos blanco y conforme va incrementando la masa grasa existen más alteraciones a nivel sistémico. Por otra parte existen muchos estudios que señalan a los intermediarios lipídicos (AGL, DAG, AC) como inductores de inflamación a través de la vía de señalización que induce el factor de transcripción Factor Nuclear Potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NFkB)(B.-C. Lee & Lee, 2014b; McArdle et al., 2013).
2. La inflamación inducida por la obesidad, se ha planteado que ocurre principalmente por la inducción de células inmunes del estroma vascular del TAB con un inmunofenotipo inflamatorio determinado por el microambiente. Dichas células inmunes pueden activar o comunicar vías de señalización alternas o pueden producir mediadores, como las citocinas que pueden interaccionar con otras vías e inducir RI en células dependientes de insulina o activar otras vías de señalización inflamatorias como IKKb/NFkB y Cinasa C-Jun N-terminal (JNK)(B.-C. Lee & Lee, 2014b; McArdle et al., 2013).

Para poder comprender la interacción entre los cambios en el perfil metabólico o el perfil inflamatorio que se dan durante el desarrollo de la obesidad infantil es necesario estudiar el proceso secuencial de los mecanismos moleculares y sistémicos involucrados en la obesidad como potencial inductor de daño, figura 2.

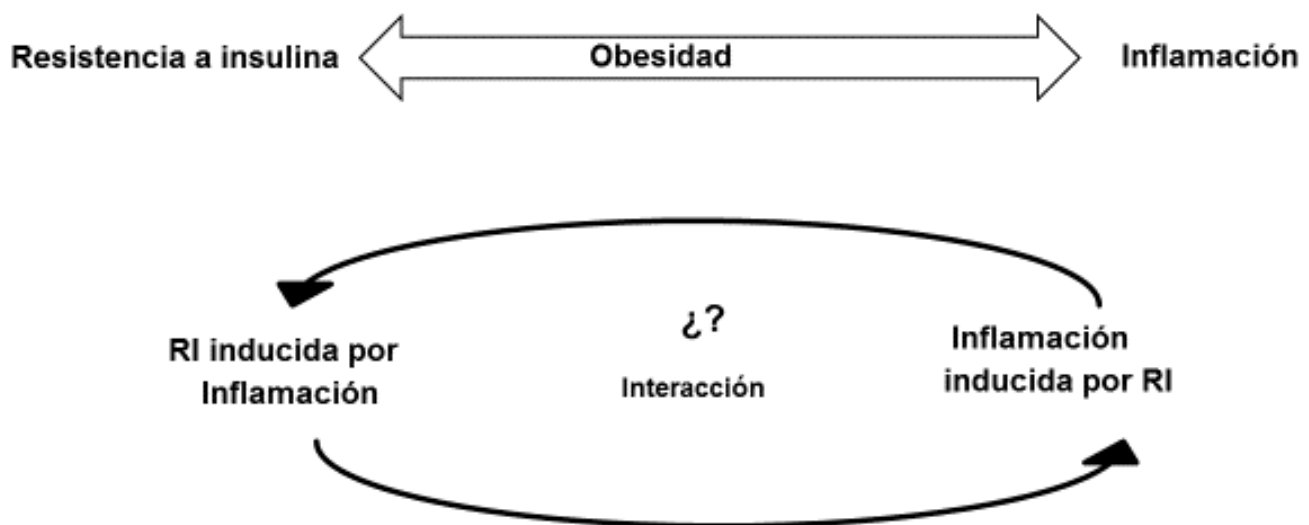


Figura 2. Obesidad, resistencia a la insulina e inflamación

Capítulo III Resistencia a insulina inducida por la obesidad

3.1 Señalización de insulina

El equilibrio entre la secreción y la sensibilidad a la insulina mantiene la glucemia en condiciones normales. Por su parte para que las células del tejido adiposo y el músculo esquelético sean capaces de transportar glucosa a su interior, es necesaria la translocación del transportador de glucosa GLUT4 de compartimentos intracelulares a la membrana plasmática. El mecanismo de señalización de la insulina se lleva a cabo cuando la hormona se une a la subunidad α de su receptor, ocasionando la activación de la subunidad β y su auto fosforilación, creando un sitio de unión para el sustrato del receptor de insulina (IRS, por sus siglas en inglés), el cual activa a fosfo inositol 3 cinasa (PI3K), que consta de 2 subunidades p85 y p110. La activación de PI3K se da por la interacción entre p85/IRS-1 ocasionando la activación de p110, que cataliza la fosforilación de fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PI (4,5)P 2) a fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato (PI3) y activa a proteína cinasa B o AKT (PKB)(Hotamisligil, 2006; Oliveres Reyes Jesús Alberto, 2008; Varman T. Samuel, 2013), figura 3.

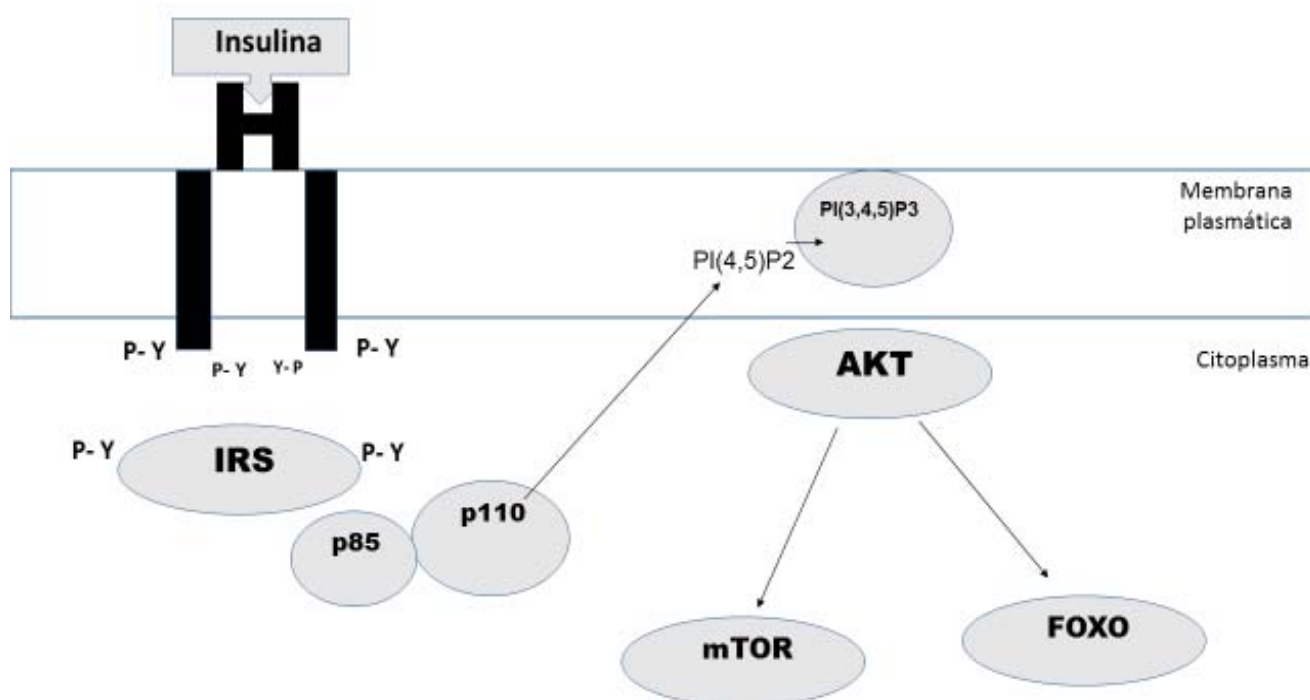


Figura 3. Mecanismo de señalización implicado en la activación de la vía PI3K/Akt mediado por la insulina. El receptor de insulina activo es autofosforilado, activa a IRS (sustrato receptor de insulina), el cual contiene varios sitios de fosforilación en residuos de Tyr (Y) que al ser fosforilados por el receptor de insulina, se convierten en sitios de unión y activación de PI3K. La PI3K consta de una subunidad reguladora (p85) y de una subunidad catalítica (p110). La interacción entre p85/IRS-1 da por resultado la activación de p110, este fosforila a su sustrato el PI (4,5)P2, el cual es fosforilado en la posición 3 del inositol, generando PI(3,4,5)P3, que sirve como sitio de unión para cinasas de Ser como PDK1 y Akt, regula varios de los efectos metabólicos de la insulina a través de la activación de diferentes sustratos que propagan la respuesta. Abreviaturas: foxo (proteína Forkhead box), mTOR (proteína diana de rapamicina en células de mamífero, por sus siglas en inglés)

En condiciones de RI existe disminución en el transporte de glucosa al interior de las células en adipocitos y músculo esquelético, un aumento de la producción de glucosa hepática y alteraciones en el metabolismo de lípidos en tejido adiposo y hepático. A nivel molecular, los mecanismos descritos para la generación de la RI pueden ser múltiples y variar de un individuo a otro, ya sea por mutaciones o modificaciones postraduccionales del receptor o de moléculas efectoras río abajo del mismo, como la disminución en el número de receptores y de su actividad de cinasa. En la alteración de la vía de señalización de la insulina intervienen los miembros de la familia de proteína cinasa C (PKC), los cuales sensan la concentración de Ca^{+} o de intermediarios lipídicos y a través de su actividad cinasa ocasionan una respuesta celular. Estas cinasas fosforilan los residuos de Serina (Ser) o Treonina (Thr), existen varias isoformas y se clasifican dependiendo de su ligando activador. Por tanto se podría sugerir que el mecanismo molecular que ocasiona la RI es tejido específico, es decir depende del tipo de célula la isoforma de la familia de PKC que fosforila al IRS1 o IRS2, así como del sitio de fosforilación en cinasas de Ser/Thr como la c-Jun NH terminal cinasa (JNK), subunidad β de la cinasa que inhibe el factor nuclear κB (IKK), S6 cinasa 1 (S6K1) y proteína cinasa C- Θ (PKC- Θ) en la molécula de IRS. Entonces la RI además de afectar el metabolismo de los lípidos, carbohidratos y proteínas, también puede activar otras vías de señalización inflamatorias como la de NF κ B o JNK induciendo la producción de mediadores proinflamatorios (Varman T. Samuel, 2013; Zhang, Keung, Samokhvalov, Wang, & Lopaschuk, 2010).

3.2 Alteraciones específicas del tejido en la señalización de la insulina

El tejido adiposo visceral posee una alta actividad lipolítica con incremento de la liberación de AGL y glicerol, los cuales son transportados directamente de la vena porta al hígado. El principal mecanismo por el cual el tejido adiposo visceral causa RI se atribuye a la lipotoxicidad que se define como la elevación de lípidos y/o intermediarios lipídicos en sangre o tejidos con subsecuente alteración metabólica. La acumulación de lípidos intracelulares o intermediarios lipídicos como diacilgliceroles (DAG), acil-CoAs de cadena larga (LC-acil-CoAs) interfieren con la actividad de la insulina, ya que alteran su vía de señalización y bloquean su efecto en la translocación de los transportadores como el Glut 4, disminuyendo la captación de glucosa extracelular e incrementando por consecuencia las concentraciones de glucosa a nivel periférico (Yeste & Carrascosa, 2011).

En el músculo esquelético el aumento de lípidos intramiocelulares o sus intermediarios como de acil-CoAs y DAG, son ligandos de la PKC- Θ , la cual fosforila en Ser a IRS-1, inhibiendo la actividad de PI3k y disminuyendo la actividad de AKT2 afectando la translocación de GLUT4 y otras funciones río debajo de AKT2. Por consecuencia disminuye la entrada de glucosa y la síntesis de glucógeno (por que la glucogeno sintasa esta inhibida). Incrementa además la oxidación de lípidos y en obesidad grave puede existir proteólisis muscular por consecuencia de la RI (Kewalramani, Bilan, & Klip, 2010; McArdle et al., 2013; Morino, Petersen, & Shulman, 2006).

En el hígado el mecanismo por el cual se da la RI es muy similar; siendo los mismos ligandos los que activan a PKC ϵ , la cual fosforila a IRS-2 alterando la señalización y disminuyendo la actividad de AKT2. Por consecuencia hay reducción en la actividad de la glucógeno sintasa y reducción en la producción de glucógeno hepático. También disminuye la fosforilación del factor de transcripción Forkhead box protein (FOXO, por sus siglas en inglés) que al estar desfosforilado entra al núcleo y activa la transcripción de enzimas gluconeogénicas como fosfoenolpiruvato carboxicinas y glucosa 6 fosfato fosfatasa; el incremento de la

gluconeogénesis exagerba la RI hepática y resulta en hiperglucemia en ayuno(Morino et al., 2006).

Conforme aumenta el depósito de masa grasa en los adipocitos y se presenta la RI hay un aumento en la lipólisis con una liberación exacerbada de ácidos grasos o intermediarios lipidicos que pueden alterar la señalización de insulina afectando la translocación de los transportadores de glucosa y otras funciones dependientes de insulina. Asimismo se ha descrito que el adipocito puede activar vías inflamatorias a través de mediadores proinflamatorios, que potencializan a su vez la resistencia a insulina creándose un fenómeno de retoalimentación positiva entre ambos (Yeste & Carrascosa, 2011). .

Por tanto el adipocito es el principal inductor de los mecanismos de daño metabólico e inflamatorio que caracterizan a la obesidad (Hotamisligil, 2006; McArdle et al., 2013).

Capítulo IV Mecanismos moleculares involucrados en el daño metabólico, intermediarios lipídicos y la disfunción mitocondrial

4.1 Daño metabólico, intermediarios lipídicos y la disfunción mitocondrial

La flexibilidad metabólica es la capacidad del organismo de intercambiar y utilizar los sustratos disponibles como fuente de energía en diversas condiciones; sin embargo la sobrealimentación crónica puede ocasionar perturbación en diversos mecanismos y puntos de control en el flujo de las vías metabólicas, lo que puede llevar a una condición denominada “inflexibilidad metabólica” y RI (Kelley & Mandarino, n.d.; Newgard, 2012).

Randle mostró que el aumento de la lipólisis y el resultante incremento de los AGL circulantes en el estado de ayuno, contribuye a una mayor dependencia de las células a la oxidación de AGL para la obtención de energía (con algunas excepciones como las neuronas o los eritrocitos). La oxidación de la glucosa se reduce bajo estas condiciones en parte por la generación de subproductos de la oxidación de AGL que suprimen pasos clave del metabolismo de la glucosa. Asimismo, McGarry demostró que el aumento de la disponibilidad de la glucosa y la insulina en estado posprandial conduce a la producción de malonil CoA, un inhibidor alostérico potente de la oxidación de ácidos grasos. Sin embargo, el incremento crónico de grasa corporal, como es el caso de las personas con obesidad, podría alterar la vía de oxidación de ácidos grasos en la mitocondria, ocasionando acumulación de especies de “lípidos activados” como acil-CoA e intermediarios lipídicos que interfieren en la señalización de la insulina (Newgard, 2012).

Por otra parte en humanos la RI se ha asociado con la disminución en la función mitocondrial, la reducción en la expresión de genes involucrados en su metabolismo oxidativo, la disminución del tamaño mitocondrial y la reducción en la densidad mitocondrial (Chow, From, & Seaquist, 2010). La evaluación de la función mitocondrial hace referencia a mediciones en la oxidación de ácidos grasos y fosforilación oxidativa. Asimismo la evaluación del potencial de oxidación de ácidos grasos se realiza a través de la medición de enzimas asociadas con el transporte de ácidos grasos al interior de la célula e interior de la mitocondria, enzimas involucradas en la β -oxidación, la medición de las enzimas asociadas al ciclo de los ácidos tricarboxílicos (TCA) o a la cadena de transporte de electrones y sus productos metabólicos. Existe evidencia de la disminución en la función mitocondrial en personas con RI, tomando en consideración la reducción de la función mitocondrial como parte de la inflexibilidad metabólica, el cual se ha asociado a su vez con mayor grado de insensibilidad a insulina en sujetos sanos (Schooneman, Houten, & Soeters, 2013).

El aumento en la concentración de ácidos grasos circulantes, acelera su transporte al interior de la mitocondria, pero posiblemente no aumenta la capacidad oxidativa mitocondrial, ocasionando una β oxidación incompleta, la cual se define como una condición en la que la concentración de sustratos que entran a la mitocondria sobrepasa su capacidad oxidativa. Entonces la disminución del número de mitocondrias funcionales disminuye el índice de oxidación de ácidos grasos favoreciendo el aumento y acumulación de lípidos o sus intermediarios que podrían interferir con la sensibilidad a la insulina (Schooneman, Houten, et al., 2013).

El grupo de Muoio y cols, propusieron que cuando el índice de oxidación de ácidos grasos supera el índice del ciclo de los TCA y la cadena respiratoria, tiene por consecuencia la

acumulación de intermediarios metabólicos como las acilcarnitinas (AC) que podrían interferir con la sensibilidad a la insulina (Schooneman, Houten, et al., 2013).

4.2 Formación de acilcarnitinas

4.2.1 La lanzadera de carnitina

La carnitina es sintetizada en el riñón, hígado y cerebro a partir de los aminoácidos lisina y metionina; el esqueleto carbonado de la carnitina proviene de la lisina y la metionina es el donador de los grupos metilo siendo el producto final el 3-hidroxi-4-trimetilaminobutirato. Estas reacciones son catalizadas por enzimas metiltransferasas específicas (Bremer, 1983).

El transportador orgánico de catión/carnitina (OCTN2) que se localiza en la membrana plasmática de células de la placenta, el corazón, el riñón, hígado y el músculo esquelético, tiene como función principal transportar carnitina y ACs de cadena corta al interior de la célula. Sin embargo, dependiendo de la concentración intracelular de dichas acilcarnitinas también podría participar en su exportación, siendo su transporte reversible (Schooneman, Houten, et al., 2013).

Las carnitina aciltransferasas son una familia de enzimas que catalizan la transferencia de grupos acilo entre Coenzima A (CoA) y carnitina. La familia de las carnitina aciltransferasas es indispensable en el catabolismo de los ácidos grasos e incluye cuatro miembros: carnitina palmitoil transferasa 1 y 2 (CPT1, CPT2 respectivamente), la carnitina octanoiltransferasa (CrOT) y carnitina acetiltransferasa (CrAT) (Violante et al., 2013).

Para la β -oxidación mitocondrial los ácidos grasos de cadena larga son “activados” a acil-CoA de cadena larga, pero no pueden cruzar la membrana interna mitocondrial y tienen que ser convertidos en ACs por la CPT1 (Violante et al., 2013).

La activación de los ácidos grasos para su oxidación (β -oxidación) en la mitocondria, comienza por la entrada de los AGL a la célula a través de proteínas transportadoras de ácidos grasos que se encuentran en la membrana plasmática (principal forma de transporte de los ácidos grasos de cadena larga), en el citosol el ácido graso es “activado” con la coenzima A (CoA) formando un éster de acil-CoA, por la enzima acil-CoA sintetasa ubicada en la membrana externa mitocondrial (MEM).

Posteriormente la enzima CPT1 ubicada en la MEM convierte el Acil-CoA de cadena larga en AC y es transportada al espacio intermembrana. Finalmente en la membrana interna mitocondrial (MIM) se encuentra la proteína transportadora Carnitina acilcarnitina translocasa (CACT) que permite la entrada de las AC de cadena larga a la matriz mitocondrial a través del intercambio con carnitina libre (C0), este transportador está acoplado a la CPT2, la cual reconvierte las AC a ésteres de Acil-CoA, los cuales son los principales sustratos de la β -oxidación. El mecanismo previamente descrito se conoce como el ciclo de carnitina o lanzadera de carnitina siendo indispensable para la activación de ácidos grasos de cadena larga (Schooneman et al., 2013; Violante et al., 2013), figura 4.

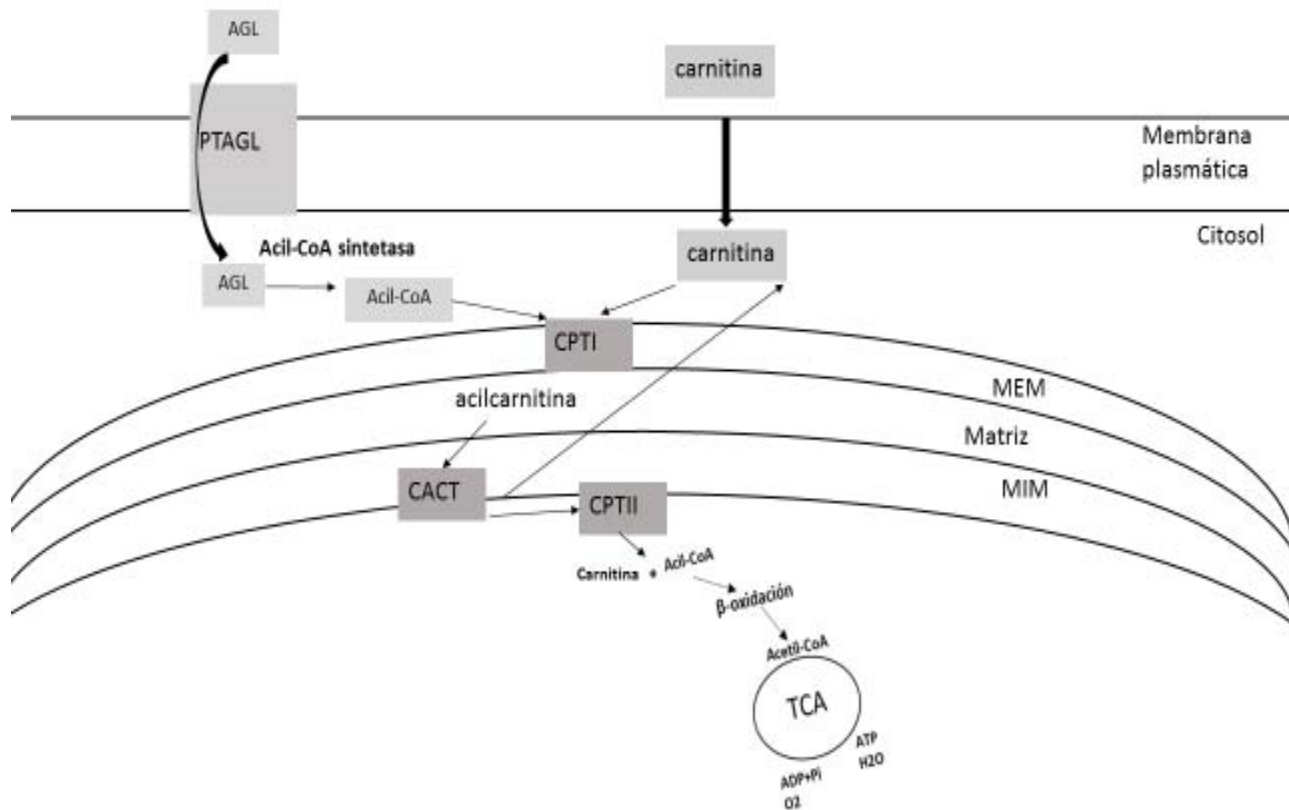


Figura 4. Representación esquemática del ciclo de la carnitina. Los AGL entran a la célula a través de las proteínas de transporte de ácidos grasos ubicadas en la membrana plasmática, los AGL son activados por su esterificación con coenzima A en el citosol por la acilCoA sintetasa. La CPT1 convierte la acil-CoA en acilcarnitinas, las cuales son transportadas a la matriz mitocondrial por la CACT en un intercambio con carnitina libre. En la matriz la CPT2 reconvierte las acilcarnitinas a esteres de acil-CoA (sustratos de la β -oxidación). Abreviaturas: Carnitina Palmitoil Transferasa 1 (CPT1), carnitina acilcarnitina translocasa (CACT), las proteínas de transporte de ácidos grasos libres (PTAGL).

El transportador CACT y la enzima CPT2, catalizan reacciones reversibles transportando AC hacia afuera de la matriz mitocondrial y reconvirtiendo las acilCoAs de cadena media y larga en AC respectivamente, ambos mecanismos dependen de la concentración de las ACs en la mitocondria. Estas ACs son finalmente exportadas al espacio extracelular, por el transportador OCTN2 y el transportador mono carboxilato 9 (SLC16A9) dependiendo aparentemente de sus concentraciones intracelulares (Schooneman, Vaz, Houten, & Soeters, 2013).

4.2.2 Descripción general de la β -oxidación mitocondrial

En la matriz mitocondrial el ácido graso activado (acil-CoA) comienza el proceso de la β -oxidación, formada principalmente por cuatro pasos, en los cuales el carbono β de las unidades acil es oxidado. Comienza con la ruptura de 2 átomos de carbono, los cuales son liberados como acetil-CoA, cada uno de estos pasos es catalizado por enzimas específicas de acuerdo a la longitud de la cadena del ácido graso. A continuación se describe el proceso general:

1. En el primer paso la acil-CoA es deshidrogenada formando como producto intermedio el *trans*-2-enoil-CoA, siendo esta reacción catalizada por la enzima acil-CoA deshidrogenasa. En esta reacción se genera una molécula de FADH₂.
2. El segundo paso es la hidratación del doble enlace *trans*-2 del intermediario enoil-CoA permitiendo la formación de 3-hidroxiacil-CoA, este paso es catalizado por la enzima enoil-CoA hidratasa.
3. El tercer paso es una segunda deshidrogenación formando como producto intermedio el 3-cetoacil-CoA, dicha reacción es catalizada por la enzima 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa. En esta reacción se genera una molécula de NADH + H⁺.
4. El cuarto paso es la ruptura del enlace tiol del 3-cetoacil-CoA que tiene como producto final un acil-CoA (n-2) con 2 átomos de carbono menos y una molécula de acetilCoA que puede ingresar al ciclo de los TCA, dicha reacción es catalizada por la enzima β-cetotiolasa

Estas cuatro reacciones se repiten hasta la degradación completa de la cadena para obtener finalmente “n” número de moléculas de acetil-CoA, en el caso de los ácidos grasos de cadena con número par de carbonos; propionil-CoA y acetil-CoA en el caso de los ácidos grasos de cadena con número impar de carbonos. Dichas moléculas entran al ciclo de los TCA para terminar de ser oxidadas.

Entonces para poder comprender el mecanismo molecular por el cual las ACs podrían interferir en la sensibilidad a la insulina es necesario conocer su metabolismo a nivel celular, hasta su mecanismo de excreción celular, lo cual permite determinar sus concentraciones séricas a través del metaboloma.

4.3 El metaboloma y su método de análisis

Los cambios metabólicos descritos son estudiados a través del análisis del metaboloma mediante la técnica de metabolómica que ha proporcionado recientemente una visión única sobre los mecanismos metabólicos involucrados en el desarrollo de la RI (Bain et al., 2009).

El metaboloma se define como el producto terminal río abajo del genoma, el transcriptoma y el proteoma, siendo el conjunto total de todos los metabolitos en células, tejidos y organismos. La metabolómica es el método utilizado para medir los cambios en el perfil metabólico presentes en las células, tejidos u organismos en respuesta a alteraciones genéticas o estímulos fisiopatológicos. Esto permite medir los cambios metabólicos en modelos animales o humanos en respuesta a determinadas condiciones ambientales o experimentales. La metabolómica se clasifica generalmente en dos grupos:

La metabolómica indirecta, la cual permite el análisis global de todas las identidades medibles en una muestra, incluyendo moléculas químicas desconocidas.

La metabolómica directa, que permite la medición de grupos de metabolitos químicamente caracterizados y bioquímicamente registrados (Du, Virtue, Wang, & Yang, 2013).

Los enfoques analíticos aplicados para identificar cambios en la concentración y flujo de metabolitos endógenos más utilizados son: la resonancia magnética nuclear, la espectrometría de masa acoplada a cromatografía de gases, la espectrometría de masas acoplada a cromatografía líquida, la espectrometría de masas en tándem, entre otras (Du et al., 2013).

El análisis del metaboloma, se basa principalmente en estudiar bajo ciertas condiciones específicas la concentración de metabolitos como: acilcarnitinas (ACs), aminoácidos (AA),

cuerpos cetónicos, entre otros. El metaboloma ha sido estudiado a lo largo de la historia para la evaluación y diagnóstico de trastornos genéticos que generalmente son causados por defectos en enzimas, cuyos sustratos se pueden acumular y ocasionar daños severos en las personas que lo padecen, a este grupo de patologías se les conoce como errores innatos del metabolismo.

4.4 Procedencia de las acilcarnitinas

En estudios más recientes en los que se ha utilizado la metabolómica, se sugiere que el incremento en la concentración de AGL favorece el incremento de la oxidación de ácidos grasos en el músculo esquelético, lo cual coincide con la acumulación de ACs, ocasionando la incapacidad de intercambiar a otra fuente de sustratos y la disminución en los productos intermediarios del TCA, lo que sugiere que el flujo en la oxidación de ácidos grasos no corresponde al flujo del TCA, lo que puede llevar a la oxidación incompleta de ácidos grasos (Schooneman, Houten, et al., 2013).

Las AC pueden clasificarse de acuerdo a la longitud su cadena o de acuerdo con sus precursores. La acilcarnitina 2 (AC2) podría denotar su función en el control de la concentración de acetil-CoA, debido a que es producto de diversos sustratos metabólicos. La enzima mitocondrial carnitina acetil-CoA transferasa (Crat) cataliza la conversión de Acetil-CoA a AC2 lo que permite su salida de la mitocondria cuando sus concentraciones están en exceso. Las concentraciones de AC2 en el músculo esquelético se asocian negativamente con la oxidación de ácidos grasos en estados post absotivos y las concentraciones plasmáticas de AC2 se asocian positivamente con las concentraciones de glucosa en estado postprandial. Además, el exceso de acetil-CoA derivado de la glucosa puede ser carboxilado por la acetil-CoA carboxilasa y producir malonil-CoA inhibiendo la CPT1. Por tanto, bajo condiciones caracterizadas por incrementos en la oxidación de ácidos grasos, el incremento en la cocentración de AC2 podrían reflejar una relación directa con la resistencia a la insulina(Schooneman, Vaz, et al., 2013).

Varios autores han propuesto que la longitud de las AC puede variar posiblemente dependiendo de la velocidad y la capacidad oxidativa mitocondrial, así como de distintos precursores, como las ACs de cadena corta AC3, AC4, AC5, que provienen principalmente del catabolismo de los aminoácidos de cadena ramificada y de la β -oxidación incompleta(Schooneman, Houten, et al., 2013).

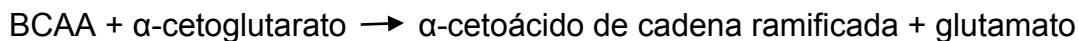
4.5 El catabolismo de los aminoácidos de cadena ramificada y su relación con la resistencia a la insulina

El catabolismo de los aminoácidos de cadena ramificada (BCAA, por sus siglas en inglés), sucede principalmente en las mitocondrias del músculo esquelético y el tejido adiposo, participando su producto final en diferentes vías metabólicas; por ejemplo, los productos del catabolismo de la leucina (Leu) participan principalmente en la cetogénesis, los productos de la valina (Val) en la gluconeogénesis y los productos de la isoleucina (Iso) pueden participar en ambas vías (Harris, Joshi, Jeoung, & Obayashi, 2005)(Brosnan JT., 2006).

La degradación de BCAA se lleva acabo principalmente por dos enzimas:

La aminotransferasa de aminoácidos de cadena ramificada (BCAT por sus siglas inglés), la expresión de las isoformas de la BCAT se lleva a cabo por dos genes diferentes, una isoforma se sintetiza en el citosol y otra en la mitocondria, siendo más abundante esta última. La función de esta enzima es trasferir el grupo amino al α -cetoglutarato para formar su correspondiente

cetoácido de cadena ramificada y glutamato, lo que marca el primer paso de la degradación de los aminoácidos y es un paso reversible.



La deshidrogenasa de α -cetoácidos ramificados (BCKD, por sus siglas inglés) su reacción consiste en descarboxilar los cetoácidos ramificados para formar su correspondiente éster de acil-CoA ramificado, siendo este segundo paso irreversible que compromete a los aminoácidos a su degradación.

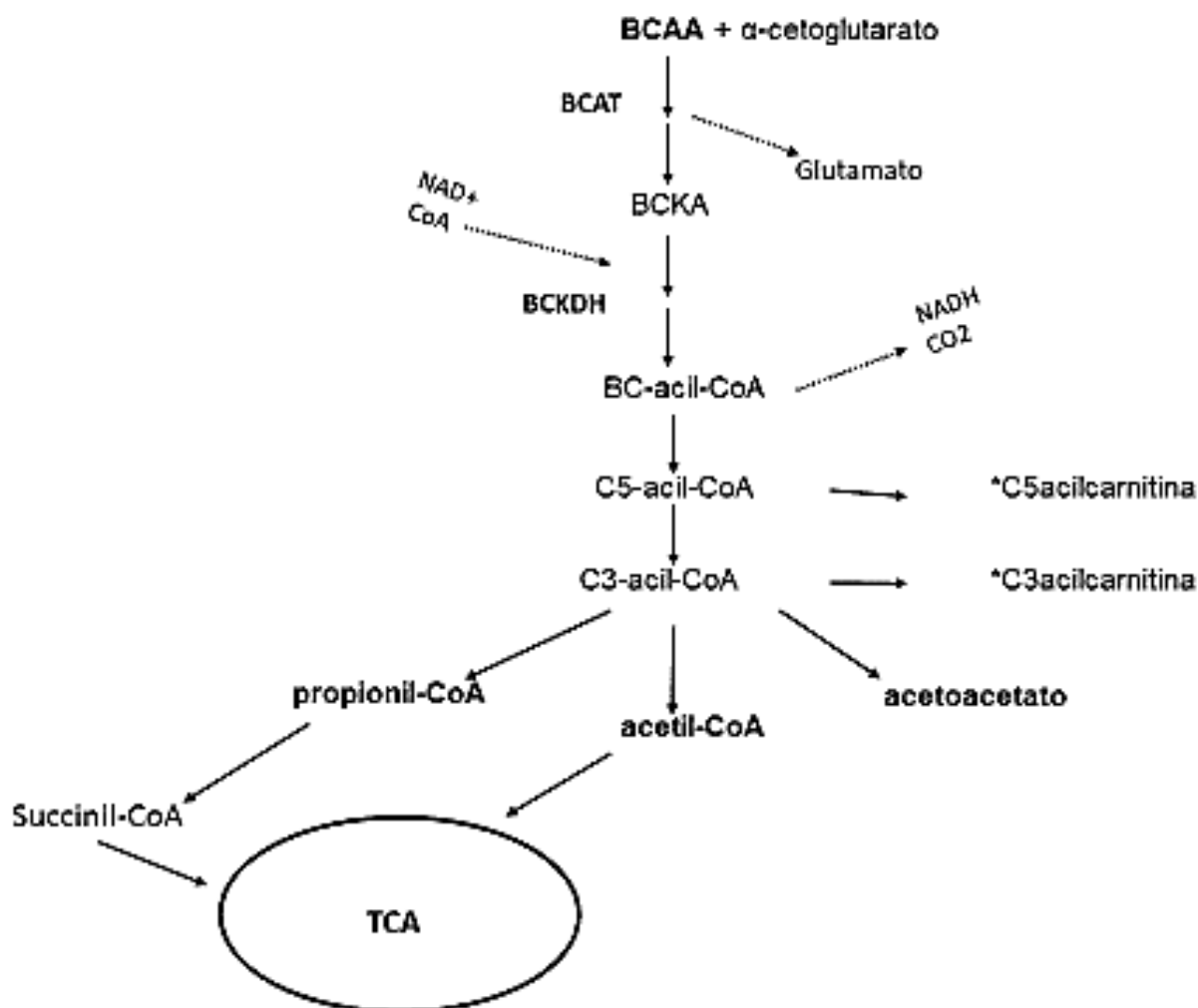
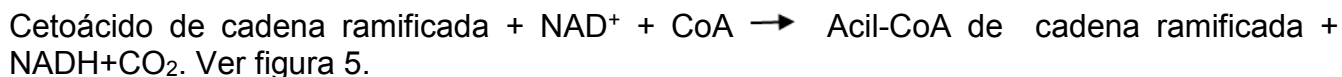


Figura 5 .La vía del catabolismo de los aminoácidos de cadena ramificada. Muestra las reacciones que se producen en el catabolismo de los BCAA y sus productos intermedios catabólicos como acilcarnitinas de cadena corta* asociados con la resistencia a la insulina.

Cabe resaltar que la descarboxilación oxidativa de los tres aminoácidos es catalizada por diferentes enzimas y el producto catabólico de los tres entra al ciclo de los TCA (ácidos tricarbónicos): la Leu entra como acetil-CoA, la Val e Iso brindan carbonos para la conversión anaplerótica de propionil-Coa y succinil-CoA para la producción de acil-coA, la cual puede ser oxidada en la mitocondria para la producción de energía. Las propionilcarnitina (AC3), butirilcarnitina (AC4) e isovalerilcarnitina (AC5) son los productos intermediarios catabólicos de los BCAA(Brosnan JT., 2006; Newgard, 2012; Newgard et al., 2009). Existen varios estudios en la literatura que han reportado que los aminoácidos de cadena ramificada y los aromáticos (Phe y Tyr) correlacionan significativamente con la presencia futura de DM2.

Las ACs de cadena media y larga son productos de la β - oxidación incompleta, por incremento de la disponibilidad de acil-CoAs en la mitocondria en personas con obesidad. Las asociaciones de ACs como marcadores subrogados de la RI se relacionan con la sobrecarga mitocondrial y la oxidación incompleta de ácidos grasos. Por tanto la concentración de ACs podría reflejar directamente el índice oxidativo de los ácidos grasos y los aminoácidos. Las personas con obesidad y RI presentan concentraciones plasmáticas aumentadas de ACs de cadena larga en comparación con sujetos delgados, pero al recibir una infusión de insulina las ACs de cadena larga disminuyen en general y en menor grado en las personas con DM(Schooneman, Vaz, et al., 2013), figura 6.

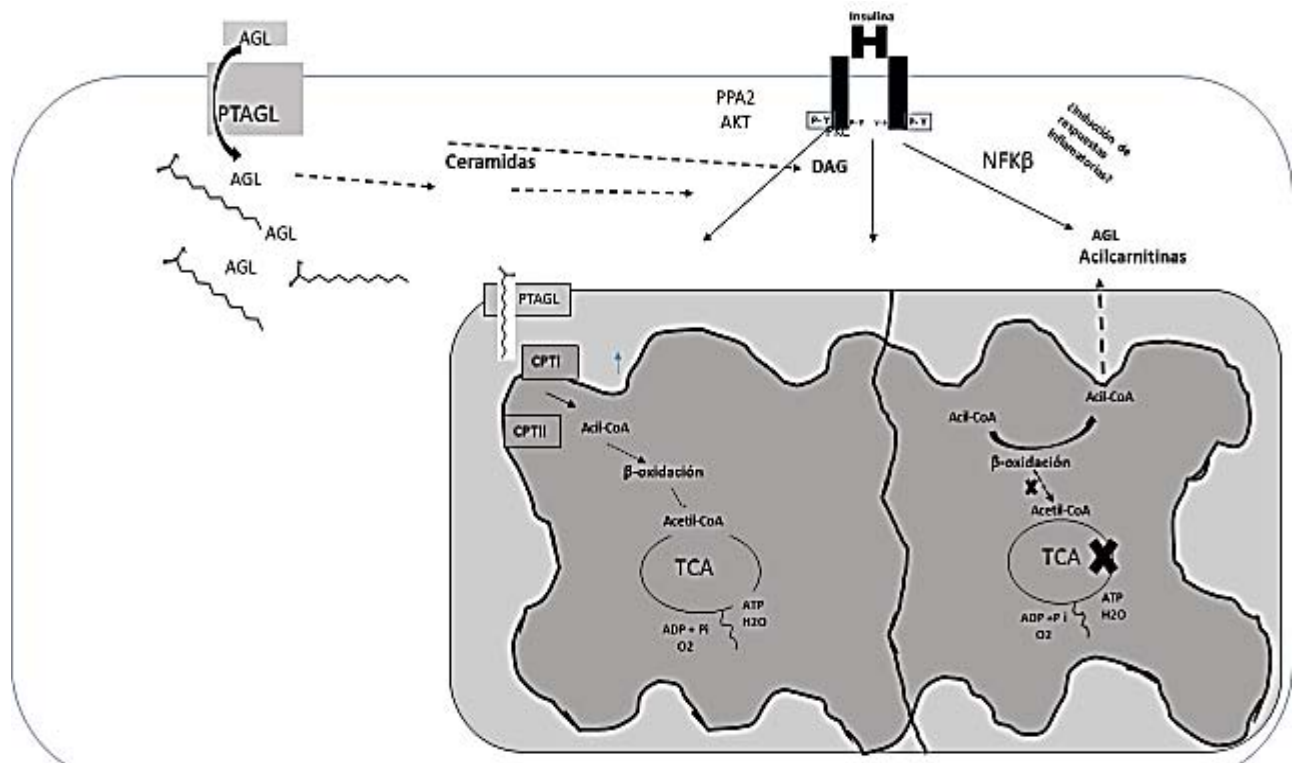


Figura 6. Mecanismos de resistencia a la insulina inducida por los lípidos. El aumento intracelular de lípidos inhibe la señalización de insulina por intermediarios lipídicos como diacilgliceroles (DAG) y ceramidas mediado por la proteína fosfatasa 2, AKT proteína cinasa C (PKC) o efectos en el receptor de insulina. Por tanto hay disminución en el número de mitocondrias funcionales e incremento en la acumulación de lípidos citosólicos que interfieren en la sensibilidad de la insulina. La sobrecarga metabólica de la mitocondria lleva a β -oxidación incompleta, resultando de una acumulación intramitocondrial de intermediarios de la β -oxidación como acilcarnitinas (AC), las cuales se ha propuesto que tienen efectos directos sobre la vía del factor nuclear $K\beta$. Abreviaturas: AGL (ácidos grasos libres), PTAGL (proteína transportadora de ácidos grasos libres), DAG (diacilgliceroles), TCA (ciclo de los ácidos tricarbónicos) y CPTI y II (carnitina palmitoil transferasa I y II).

4.6 Acilcarnitinas, resistencia a la insulina y su posible relación con la inflamación

La RI podría asociarse con la β -oxidación incompleta y el subsecuente incremento de AC en diferentes tejidos; éstas podrían interferir con la señalización de insulina mediante la activación de mecanismos proinflamatorios (Aguer et al., 2015). En el estudio de Rutkowsky y cols., mencionan que las AC de cadena larga principalmente inducen la activación de ciclooxigenasa 2 (COX 2), la cual sintetiza prostaglandinas a partir del ácido araquidónico, dicha enzima se expresa principalmente por inducción de mediadores inflamatorios como TNF α , IL-1 β e INF- γ y algunos factores de crecimiento (Rutkowsky et al., 2014). En el estudio de Rutkowsky reportaron que las AC de cadena larga AC18, AC16 y AC 14 inducen la inflamación mediada por COX 2, así como la activación de las vías proinflamatorias como NFK β y JNK a través de algunos receptores TLR (Toll like receptor) o PRR (receptor de reconocimiento de patógenos) (Schooneman, Vaz, et al., 2013). Sin embargo, aún falta más investigación para conocer a fondo los mecanismos involucrados en las AC como inductores de vías proinflamatorias.

Por tanto el perfil metabólico de AC y AA podría indicarnos el flujo de sustratos en la oxidación de ácidos grasos y de aminoácidos, la inflexibilidad metabólica producto de la RI, siendo este punto en el cual se podrían sinergizar las vertientes de daño metabólico y de daño inflamatorio.

Capítulo V La obesidad como inductor de procesos inflamatorios

5.1 Generalidades de la inflamación

La inflamación es una serie de respuestas celulares y moleculares que sirven para defender al cuerpo humano de infecciones u otros daños. Las principales células que participan en la inflamación son las células del sistema inmune, los cuales pueden clasificarse con base en el tipo de respuestas que producen en el organismo como: proinflamatorias y antiinflamatorias, ambas poseen un balance relativo y un control muy estrecho.

La inflamación se caracteriza por incrementos en la concentración de citocinas en la circulación y en sitios localizados de la inflamación, así como el incremento en la infiltración del número de células del sistema inmune. Se divide principalmente en dos tipos:

1. La inflamación aguda caracterizada por la presencia de neutrófilos en los sitios de inflamación.
2. La inflamación crónica caracterizada por la infiltración de macrófagos en los tejidos inflamados (B.-C. Lee & Lee, 2014).

La obesidad se ha definido como proceso inflamatorio caracterizado por inflamación generalizada asintomática (Zabaleta, 2014).

La inflamación inducida por el TAB se asemeja a la respuesta inflamatoria de la inmunidad clásica, pero difiere en que se producen bajas concentraciones de citocinas circulantes. La inflamación inducida por la obesidad es el resultado de la sobrealimentación crónica que lleva a alteraciones en la homeostasis del metabolismo, se asemeja a la inflamación observada en la aterosclerosis, la cual es una de las complicaciones del síndrome metabólico, la RI y las dislipidemias.

El papel de la inflamación en el desarrollo de la RI en personas con obesidad comenzó a ser estudiado en el año de 1990, en dichos estudios se demostró que los adipocitos tratados con TNF α presentaron alteraciones en la señalización de insulina causadas por cambios en la transcripción de las moléculas de señalización de IRS y el transportador de glucosa (Glut4), estos fueron los primeros estudios que demostraron el papel de las citocinas proinflamatorias en la obesidad y la RI (Hotamisligil, 2006). A principios del año 2000, una serie de estudios epidemiológicos revelaron que los marcadores inflamatorios circulantes se asociaban fuertemente con factores de riesgo para el desarrollo de DM2. Estudios clínicos y observacionales demostraron que en la obesidad se activaba la vía inflamatoria IKK β /NF κ B. Posteriormente se comenzaron a realizar estudios más específicos en tejidos, células o citocinas que participan en la inflamación inducida por la obesidad. Por tanto la obesidad se considera como un fenómeno inflamatorio que algunos autores definen como metainflamación, el cual es un proceso inflamatorio inducido metabólicamente, dicha condición se da principalmente por exceso de nutrientes y metabolitos, que se acoplan a un conjunto similar de moléculas y vías de señalización que participan en la inflamación clásica (Hotamisligil, 2006; B. C. Lee & Lee, 2014).

5.2 Tejido adiposo blanco como principal inductor de inflamación y la resistencia a la insulina en otros tejidos

La inflamación del TAB es mediada por macrófagos siendo aparentemente desde este enfoque el núcleo principal de los mecanismos involucrados en la disfunción del tejido así como la RI a nivel sistémico en la obesidad. El TA puede comunicarse de forma parácrina con el hígado y el músculo mediante la liberación de citocinas, adipocinas y ácidos grasos induciendo los efectos de la inflamación sistémica y alteraciones en la sensibilidad a la insulina.

El hígado es el sitio en el cual hay mayor producción de glucosa. En condiciones de RI existe un incremento en la lipogénesis, mayor producción y liberación de glucosa a la circulación, así como aumento en la expresión de genes involucrados en vías proinflamatorias. Asimismo las células de Kupffer (macrófagos de los hepatocitos) expresan el inmunofenotipo de macrófagos de acuerdo a su microambiente. Además otro tipo de macrófagos presentes en los hepatocitos también reclutan a monocitos circulantes durante el desarrollo de la obesidad, los cuales secretan sus propias quimiocinas que a su vez atraen a más macrófagos y crean un proceso de retroalimentación positiva constante; de forma similar al que se da en el tejido adiposo (B. C. Lee & Lee, 2014; Osborn & Olefsky, 2012).

El músculo esquelético utiliza el 70-80% de la glucosa posprandial. Por tanto en el músculo la RI tiene un efecto profundo en la intolerancia a la glucosa e hiperglucemia características de la obesidad. Los depósitos de tejido adiposo intramuscular están presentes entre las fibras musculares y los macrófagos están reclutados o almacenados en estos depósitos de TA. Varias citocinas como TNF α , IL1 β e IL6 se producen en el músculo siendo estas citocinas las que podrían contribuir con la RI local (McArdle et al., 2013; Osborn & Olefsky, 2012).

En el Sistema nervioso central la obesidad induce cambios inflamatorios a nivel del hipotálamo que es un punto de control en la homeostasis energética y la señalización de leptina e insulina que son indispensables para este proceso. La microglia (macrófagos del SNC) puede liberar citocinas proinflamatorias (TNF α , IL1 β) y activar vías de señalización proinflamatorias generando inflamación hipotalámica, la cual tiene un papel central en la resistencia a leptina a través de la inhibición en la transducción de señal de STAT3, componente clave en la vía de señalización de leptina. Estudios recientes han demostrado que la vía de NF κ B en el hipotálamo puede ocasionar resistencia a leptina (Osborn & Olefsky, 2012).

En el páncreas, la obesidad induce un incremento en el número de macrófagos en los islotes pancreáticos, los cuales secretan citocinas como la IL1 β , por tanto la respuesta inflamatoria puede causar alteraciones en la secreción de insulina y promover disfunción y apoptosis en las células β pancreáticas (Osborn & Olefsky, 2012).

5.3 El papel de las células inmunes como inductoras de inflamación y la resistencia a la insulina

En el TAB las células o citocinas que participan en la inflamación inducida por la obesidad, se encuentran principalmente en la fracción estroma-vascular compuesta por una matriz de colágeno, nervios, sangre y vasos linfáticos; en esta se encuentran múltiples subpoblaciones celulares como fibroblastos, preadipocitos y células del sistema mononuclear fagocítico conformado principalmente por monocitos y macrófagos.

Los macrófagos del tejido adiposo (MTA) se pueden clasificar de acuerdo a la expresión de sus marcadores de superficie y con base en el perfil de secreción de citocinas o quimiocinas.

El inmunofenotipo posee una gran plasticidad en respuesta al ambiente que lo rodea. En personas con obesidad, el inmunofenotipo que predomina es el de los macrófagos tipo 1 (M1) que secretan citocinas proinflamatorias.

La obesidad conduce a un aumento de tamaño de los adipocitos, algunos adipocitos hipertrofiados sufren muerte celular necrótica, lo que induce la infiltración de macrófagos formando conglomerados con forma de corona alrededor de los adipocitos necróticos, esto disminuye la sensibilidad a la insulina como resultado de la secreción de citocinas de perfil proinflamatorio como $TNF\alpha$, $IL1\beta$ e $IL6$.

La cantidad de la infiltración de macrófagos M1 se ha asociado con la progresión de la obesidad y la RI. El reclutamiento de macrófagos en el tejido adiposo es el proceso inicial cuando la obesidad induce inflamación, por tanto la sobrealimentación crónica ocasiona que los adipocitos liberen quimiocinas que proveen de un gradiente quimiotáctico, el cual atrae monocitos al tejido adiposo a partir de los cuales se forman los macrófagos. Una vez que los macrófagos del tejido adiposo (MTA) proinflamatorios migran al tejido adiposo secretan sus propias quimiocinas que a su vez atraen a más macrófagos y crean un proceso de retroalimentación positiva constante (figura 7). La activación de los macrófagos en el tejido provoca la liberación de citocinas proinflamatorias que pueden inducir la RI, como $TNF\alpha$, el cual puede estimular a serina cinasas como IKK, JNK, S6K y mTOR, que provoca la fosforilación del receptor IRS-1 alterando río abajo la señalización de insulina.

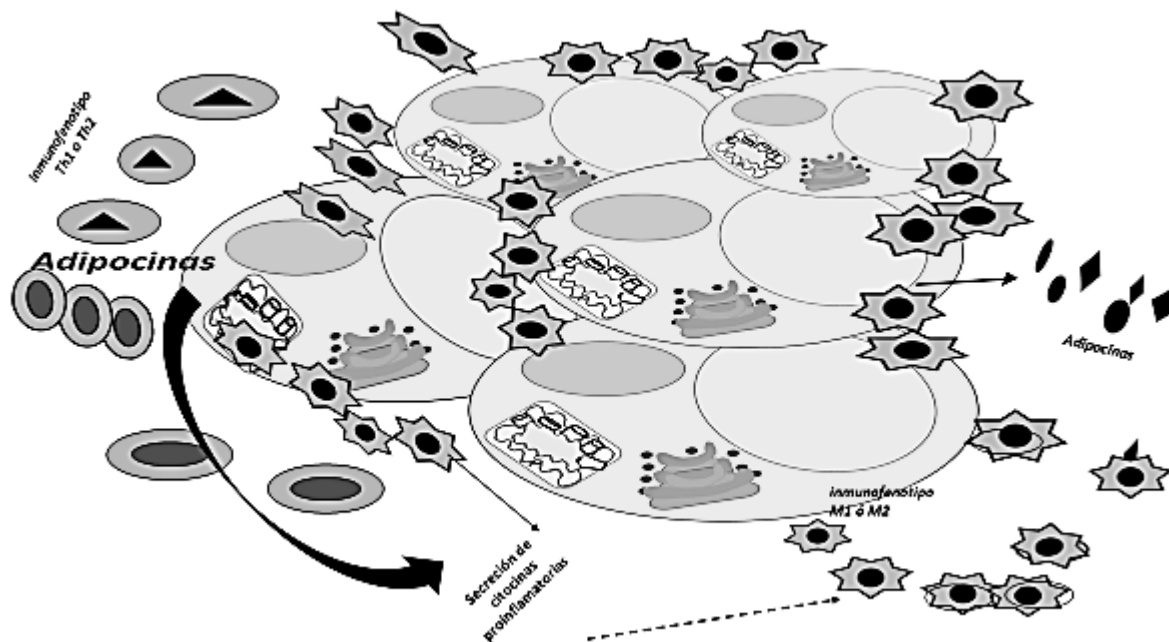


Figura 7. El tejido adiposo como inductor de inflamación y alteraciones metabólicas en condiciones de obesidad. El exceso de energía induce el crecimiento del tejido adiposo con hipertrofia de adipocitos, los cuales secretan quimiocinas que atraen células inmunes al tejido. La secreción de mediadores proinflamatorios como $TNF\alpha$, $IL1\beta$ e $IL6$ por adipocitos, preadipocitos y la infiltración de células inmunes tiene como resultado la activación de macrófagos M1 y células Th1 de inmunofenotipo inflamatorio .

Otro mecanismo por el cual el TNF α puede inducir la RI es activando la expresión de supresor de la señalización de cinasas (SOCS), dichas proteínas se unen al receptor de insulina y disminuye su capacidad para fosforilar al IRS haciendo más estrecha la relación entre inflamación y RI. Asimismo TNF α disminuye la expresión del transportador de glucosa Glut 4 y de PPAR γ (Rosen & Spiegelman, 2006; Shengyi Sun, Yewei Ji, Sander Kersten, 2012).

Por el contrario los M2 activados secretan citoquinas de perfil antiinflamatorio como IL10 e IL1ra que favorecen la sensibilidad a la insulina.

En el TAB existen células inmunes del tipo TCD4+, TCD8+, entre otras. Las células T colaboradoras (Th, por sus siglas en inglés) que expresan marcadores de superficie CD4+, se pueden dividir en dos poblaciones celulares distintas:

Las células Th1 producen citocinas proinflamatorias como INF γ e inducen el inmunofenotipo de M1 y también secretan las interleucinas IL1, IL6, TNF α , que alteran la señalización de insulina e inducen la activación de vías inflamatorias.

Las células Th2 que producen citocinas antiinflamatorias como la interleucina IL4 e IL13; la IL4 induce la proliferación de los M2 que secretan IL10, favoreciendo la sensibilidad a la insulina.

Las células T reguladoras (Treg), expresan el factor de transcripción FOXP3 y pueden secretar señales antiinflamatorias que inhiben la migración de macrófagos e inducen la diferenciación de macrófagos M2. El número de células Treg disminuye en personas con obesidad (Shengyi Sun, Yewei Ji, Sander Kersten, 2012).

Por otra parte, las células T que expresan el antígeno de superficie CD8+ referidas como células citotóxicas, secretan citocinas proinflamatorias.

El patrón temporal de células T y el reclutamiento de macrófagos en el tejido adiposo durante el desarrollo de la obesidad y la RI no se comprende del todo. Algunos autores como Nishimura han propuesto que las células Th1 podrían iniciar la cascada proinflamatoria antes de la infiltración de macrófagos, otros autores mencionan que el proceso comienza a partir de la infiltración de macrófagos independientemente cual sea la secuencia del proceso las células T o el reclutamiento de macrófagos ambas tienen un papel en el desarrollo de la inflamación y la RI (B. C. Lee & Lee, 2014; McArdle et al., 2013; Osborn & Olefsky, 2012; Shengyi Sun, Yewei Ji, Sander Kersten, 2012), figura 7.

Adiponectina

La adiponectina es principalmente sintetizada por el TAB y en pequeñas cantidades por otras células. Circula en la sangre en multímeros, un trímero de bajo peso molecular, dos hexameros uno de medio peso molecular y otro de alto peso molecular. Se ha sugerido que estos multímeros de adiponectina tienen diferentes acciones biológicas y las de mayor peso molecular poseen mayor actividad; sus concentraciones séricas varían en un intervalo de 5-10 mg/dl. La adiponectina posee efectos muy profundos en la sensibilización de la insulina y tiene un papel muy relevante en la regulación del metabolismo de la glucosa y los lípidos, ya que inhibe las enzimas hepáticas gluconeogénicas, por tanto disminuye la tasa de producción

de glucosa en el hígado. Además aumenta el transporte de glucosa en los músculos y la oxidación de ácidos grasos. Tiene una acción antiaterogénica.

Las concentraciones séricas de adiponectina se encuentran reducidas en individuos con obesidad visceral y estados de RI. Se ha descrito que la citocina TNF α suprime la transcripción de adiponectina en los adipocitos, lo que podría explicar las bajas concentraciones séricas de adiponectina. La hipoadiponectinemia se ha asociado con disminución en la oxidación de glucosa e incrementos en su síntesis hepática, bajas concentraciones de c-HDL y elevadas concentraciones de TAG(Pervanidou, Charmandari, & Chrousos, 2013).

Leptina

La leptina es una proteína de 167 aminoácidos, secretada por los adipocitos, la pared gástrica, la pared vascular, la placenta, los ovarios, el músculo esquelético y el hígado. Su función principal es proporcionar una señal de saciedad a través de su acción sobre sus receptores en el hipotálamo. Suprime la ingesta de alimentos y promueve el gasto energético, inhibe la gluconeogénesis hepática, aumenta la captación y la utilización de glucosa por el músculo esquelético y favorece la reducción del depósito de TAG en hígado y músculo esquelético, ya que estimula la oxidación de ácidos grasos y suprime la lipogénesis. Es un factor predictivo de la sensibilidad a la insulina con independencia del grado de adiposidad. En personas con obesidad se ha sugerido que existe resistencia a leptina debido a que su acción en el hipotálamo se encuentra disminuida y/o su señalización puede estar alterada.

Factor de necrosis tumoral alfa (TNF α)

Induce lipólisis, antagoniza movilización de GLUT, antagoniza la vía de señalización de insulina y produce resistencia a la insulina(Calder et al., 2013).

Interleucina 6 (IL6)

Incrementa la liberación hepática de los TAG y la proteína C reactiva, incrementa la gluconeogénesis, disminuye la adiponectina y como consecuencia disminuye la sensibilidad a insulina (Calder et al., 2013).

Interleucina 1- α (IL1 α)

Induce la liberación de IL2, la proliferación y maduración de células B, liberación de prostaglandinas y colágenasa(Calder et al., 2013).

Interleucina 1- β (IL1 β)

Sus funciones biológicas son fiebre, atracción y activación de neutrófilos, liberación de aminoácidos por parte del músculo, producción de colágeno por parte de los fibroblastos, activación de linfocitos T y B. Induce síntesis hepática de proteínas de fase aguda(Calder et al., 2013).

Interleucina 2 (IL2)

Regula la respuesta inmunitaria, interviene en la reacción inflamatoria estimulando la síntesis de interferón γ , induce la liberación de IL1, TNF α y TNF β . Induce la proliferación de la célula T, coestimula la proliferación y diferenciación de la célula B.

Interleucina 17 (IL17)

Es producida por células T activas, actúa en las células estromales del adipocito induciendo la producción y liberación de quimiocinas y citocinas proinflamatorias(Calder et al., 2013).

Interleucina 12p40 (IL12p40)

Activa las células T colaboradoras de tipo 1 (Th1), estimula la producción y citotoxicidad de las células T y las células NK. Tiene un efecto sinérgico con el TNF α en la inducción de mayores cantidades de interferón- γ (Calder et al., 2013).

Proteína inflamatoria de macrófagos

La proteína inflamatoria de macrófagos (MIP1 α y MIP1 β , por sus siglas en inglés), son citocinas quimiotácticas que actúan como quimioatrayentes de células T y células natural killer. Asimismo promueven el reclutamiento de leucocitos como: monocitos, células B, células T y eosinófilos(Calder et al., 2013).

Interleucina 10 (IL10)

Citocina inmunosupresora producida por células del sistema inmune. Disminuye la expresión de citocinas proinflamatorias IL-1 y TNF α , disminuye la generación de Th17, mejora la supervivencia y producción de anticuerpos en las células B(Calder et al., 2013).

Interleucina 1Ra (receptor antagonista, IL1Ra)

Inhibe la actividad de IL1 α e IL1 β por competencia bloqueando la unión a su receptor(Calder et al., 2013).

Quimiocina IP10

Quimioatrayente de linfocitos Th1 y monocitos, promoción en la adhesión de células endoteliales. Su expresión es controlada por INF γ (Calder et al., 2013).

Vascular Endotelial Growth Factor

El factor de crecimiento vascular endotelial, (VEGF, por sus siglas en inglés) ejerce sus efectos sobre la angiogénesis y la supervivencia de los vasos sanguíneos inmaduros, es decir estimula el crecimiento, la supervivencia y la proliferación de las células del endotelio vascular. (B.-C. Lee & Lee, 2014b; McArdle et al., 2013; Osborn & Olefsky, 2012).

Proteína C reactiva (PCR)

Promueve el proceso inflamatorio y es inducida por TNF α e IL-6.La obesidad está caracterizada por la presencia de niveles plasmáticos elevados de PCR, es un indicador de inflamación sistémica. El aumento de la PCR se asocia con RI y la presencia de componentes del SM(Calder et al., 2013; Valle et al., 2005; Wärnberg, Moreno, Mesana, & Marcos, 2004).

Problema de investigación

Las estrategias de intervención para combatir la obesidad en niños de edad escolar no han sido efectivas, ya que la prevalencia de niños con sobrepeso y obesidad continúa en aumento en todo el mundo, lo cual sugiere la necesidad de encontrar otras formas de abordarla o momentos de intervención más oportunos.

Para ello es indispensable conocer en la población infantil los mecanismos involucrados en la fisiopatología de la obesidad como una condición potencial de daño. La correlación positiva del aumento de tejido adiposo con cambios metabólicos asociados a la RI y el aumento de la concentración de mediadores inflamatorios, sugiere un comienzo temprano y complejo de los mecanismos fisiopatogénicos que conducen a las comorbilidades de la obesidad. Sin embargo, se desconoce si estos cambios son sucesivos o simultáneos, por lo que se propone estudiar la caracterización de la secuencia temporal de estos cambios. Partiendo de la premisa que el grupo de niños con peso normal aumenta gradualmente su porcentaje de grasa corporal y por consecuencia comienzan a existir progresivamente alteraciones metabólicas e incrementos en la concentración de mediadores proinflamatorios. Se podría predecir la secuencia temporal de las alteraciones metabólicas y el incremento de mediadores proinflamatorios.

Para en un futuro, desde un enfoque preventivo poder apoyar en el desarrollo de estrategias de intervención oportunas y prevenir cambios irreversibles en estados crónicos.

Hipótesis: Los cambios en el perfil metabólicomico que acompañan a la ganancia de grasa corporal se asocian de forma directa al incremento de mediadores proinflamatorios en niños con obesidad.

Objetivo: Describir los cambios en el perfil metabólicomico y de mediadores proinflamatorios en niños con diferente proporción de grasa corporal.

Objetivos específicos

1. Cuantificar en niños de edad escolar el porcentaje de grasa corporal mediante indicadores de adiposidad.
2. Cuantificar en niños de edad escolar la concentración de mediadores proinflamatorios en suero.
3. Analizar el perfil metabólicomico en muestras de suero en niños de edad escolar.
4. Asociar los diferentes gradientes de grasa corporal con el perfil metabólicomico y las concentraciones de mediadores proinflamatorios.

Métodos

Diseño de estudio: estudio transversal, analítico, observacional y comparativo en escolares de 6 a 11 años de edad. Para el cálculo de la muestra se aplicó la fórmula para muestras independientes.

Cálculo del tamaño de la muestra de una población representativa

El antecedente que tomamos como referencia para el cálculo del tamaño de muestra fue el estudio de Balas-Nakash y cols., (Balas-nakash et al., 2013) evaluaron la asociación de citocinas proinflamatorias con marcadores bioquímicos en escolares tomando como base la diferencia de medias y desviación estándar encontradas en dos grupos de niños escolares mexicanos con diferente porcentaje de grasa corporal. Desafortunadamente no existen antecedentes en la concentración de metabolitos analizados por espectrometría masas que sean aplicables a la población mexicana de escolares, y por ello consideramos como preliminar el enfoque de nuestro estudio. Con este diseño podremos caracterizar estas variables en la población en estudio y proponer un tamaño de muestra adecuado a nuestra población. El tamaño de la muestra fue de 169 sujetos en total.

Criterios de inclusión, exclusión y eliminación.

Criterios de inclusión:

1. Niños de 6 a 11 años de edad que acuden a primarias públicas dependientes del gobierno del Estado de México.
2. Los niños deberán firmar una carta de consentimiento para participar en el estudio, que además será firmada por sus padres o tutores.

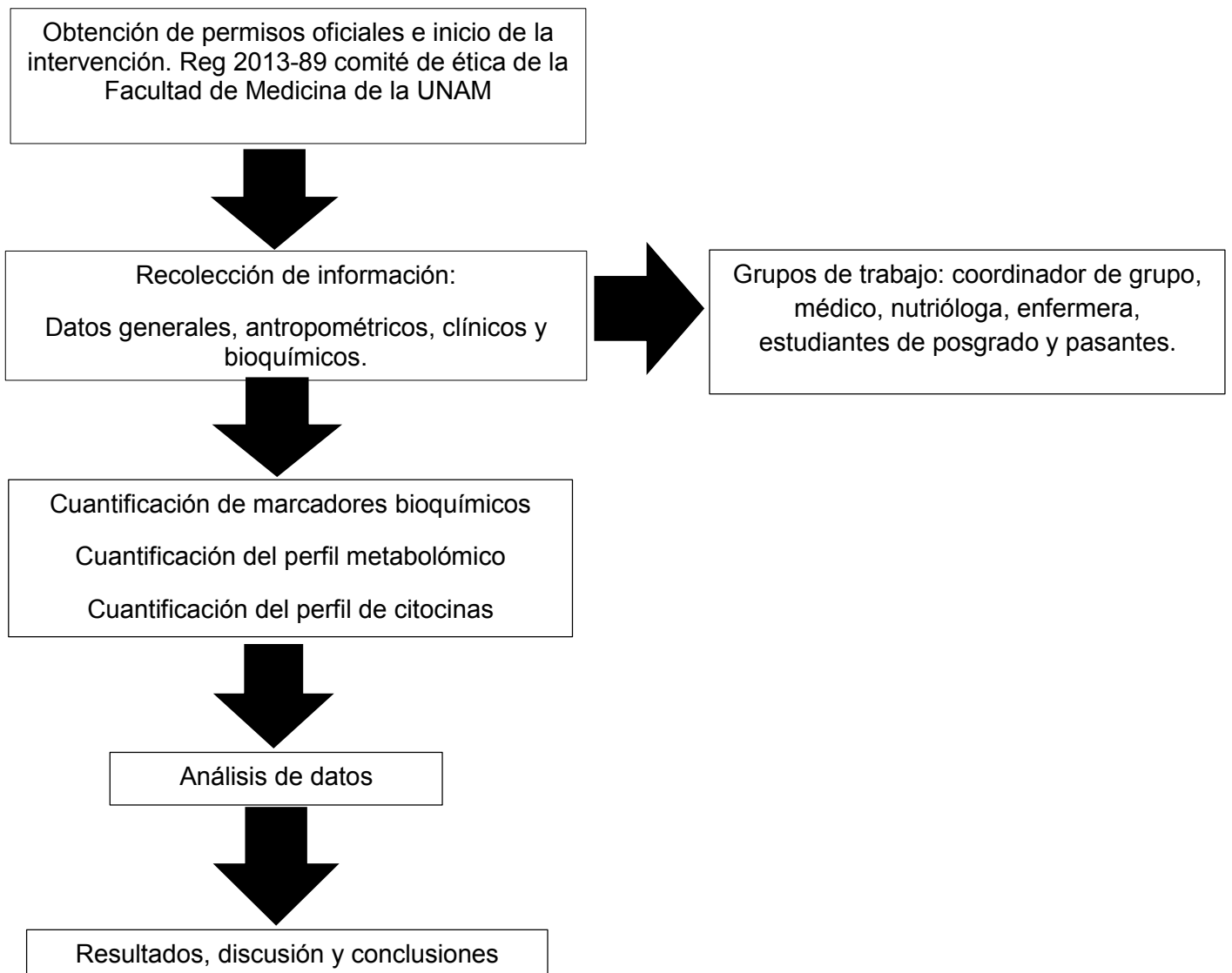
Criterios de exclusión:

1. Escolares con diagnóstico establecido de diabetes, dislipidemias, hipertensión arterial o alguna enfermedad que condicione a un proceso inflamatorio.

Criterio de eliminación:

1. El escolar no haya realizado el número de horas de ayuno indicado.
2. Escolares que no tengan sus datos completos.
3. Escolares que decidan retirarse de manera voluntaria y que lo hagan con consentimiento de sus padres o tutores.

Figura 8. Esquema de la metodología



Procedimiento

Los niños/niñas fueron invitados a participar y junto con sus padres, firmaron una carta de consentimiento, que se describe en el anexo 1. Además de la carta de consentimiento informado, se contó con autorización escrita del director de la escuela primaria, el inspector de zona correspondiente y de las autoridades centrales de la Secretaría de Educación Pública del Estado de México.

La evaluación consistió en la medición de variables que han sido validadas como indicadores para población mexicana e incluyen datos antropométricos y de química sanguínea.

La población de estudio se clasificó en un gradiente de composición de grasa corporal utilizando los clasificadores, índice de masa corporal para la edad (IMC/E) para evaluar porcentaje de grasa corporal con base en los criterios de la OMS(World Health, 2009), la circunferencia de cintura se utilizó para evaluar obesidad abdominal con base en the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III) (Fernández JR., Redden DT., Pietrobelli A., 2004) y el índice Cintura/Talla para evaluar riesgo cardiovascular (Li et al., 2006; Zimmet et al., 2007).

Los escolares se clasificaron y fueron analizados en cuatro estratos (tabla1).

La metodología con base en la cual se realizó la antropometría se describe en el anexo 2.

Las variables que se midieron se describen en las tablas: 2,3 y 4.

Tabla 2. Variables antropométricas, clínicas y bioquímicas.

Variabales	Unidades de medición
Peso	kg
Talla	m
Índice de masa corporal (IMC)	kg/m ²
Circunferencia de cintura (CC)	cm
Índice cintura talla (ICT)	
Presión arterial sistólica (PAS) y presión arterial diastólica (PAD)	mmHg
Marcadores Bioquímicos	
Glucosa	mg/dl
Triacilglicerol (TAG)	mg/dl
Colesterol Total (CT)	mg/dl
Colesterol LDL (C-LDL)	mg/dl
Colesterol HDL (C-HDL)	mg/dl

Tabla 3. Variables del perfil metabólico

AMINOÁCIDOS	Unidad de medición	ACILCARNITINAS	Unidad de medición
Arginina (Arg)	µmol/l	Carnitina libre (C0)	µmol/l
Citrulina (Cit)	µmol/l	Acetilcarnitina (AC2)	µmol/l
Glicina (Gly)	µmol/l	Propionilcarnitina (AC3)	µmol/l
Alanina (Ala)	µmol/l	Butirilcarnitina (AC4)	µmol/l
Leucina (Leu)	µmol/l	Isovalerilcarnitina (AC5)	µmol/l
Metionina (Met)	µmol/l	Hexanoilcarnitina (AC6)	µmol/l
Fenilalanina (Phe)	µmol/l	Octanoilcarnitina (AC8)	µmol/l
Tirosina (Tyr)	µmol/l	Decanoilcarnitina (AC10)	µmol/l
Valina (Val)	µmol/l	Lauroilcarnitina (AC12)	µmol/l
Ornitina (Orn)	µmol/l	Tetradecanoilcarnitina (AC14)	µmol/l
Prolina (Pro)	µmol/l	Palmitoilcarnitina (AC16)	µmol/l
		Octadecanoilcarnitina (AC18)	µmol/l

Tabla 4. Variables del perfil inflamatorio

Citocina Proinflamatoria	Unidades de medición	Citocina Antinflamatoria	Unidades de medición
IL_1 α	pg/ml	IL_10	pg/ml
IL_1 β	pg/ml	IL_1ra	pg/ml
IL_6	pg/ml	SIL_1ra	pg/ml
TNF α	pg/ml	Quimiocina IP_10	pg/ml
IL_17	pg/ml	Quimiocina MIP1 α	pg/ml
IL12p40	pg/ml	Quimiocina MIP1 β	pg/ml
IL_2	pg/ml	Factor de crecimiento VEGF	pg/ml

Equipos para la intervención

Se conformaron 5 equipos de salud integrados por una enfermera pediátrica, una enfermera auxiliar y una nutrióloga. Los equipos fueron coordinados por un médico general que atendió y refirió los problemas encontrados en la población de escolares bajo estudio. La función de la enfermera pediátrica fue la toma de muestra sanguínea de los escolares. La nutrióloga fue responsable de la toma de datos de antropometría y la enfermera auxiliar del llenado de los cuestionarios y de apoyo. Todas las participantes fueron preestandarizadas en todas las maniobras.

Estandarización de la antropometría. Todas las mediciones antropométricas fueron estandarizadas en el grupo que realizó el trabajo de campo. Para ello, se realizaron dos sesiones de evaluación de las mediciones por todos los integrantes bajo la supervisión de 4 monitores que ya se encuentran validados. Se utilizó la metodología propuesta por Lohman y se aceptó que el integrante del equipo está capacitado cuando muestre reproducibilidad con coeficiente de variación intra e interensayo < 5%.

Se midió adiposidad por índice de masa corporal [IMC], índice talla/cintura [ICT] y circunferencia de cintura [CC].

Consideraciones éticas. Se ha considerado la obtención de todos los permisos necesarios para desarrollar la intervención. Por esta razón, la carta de consentimiento fue firmada por el niño y sus padres o tutores. Previo al inicio del estudio, se tuvieron reuniones con los padres de familia para explicar la naturaleza del estudio. A los padres se les explicó que la serie de estudios que se realizaron permitirá establecer un diagnóstico del estado de nutrición de sus hijos y que permitirá detectar factores de riesgo que deban ser atendidos. Todos los participantes recibieron un certificado médico con sus resultados e interpretación correspondiente.

La toma de muestras sanguíneas se realizó por personal con experiencia del Hospital Materno Perinatal “Mónica Pretelini” de Toluca. Asimismo, las mediciones antropométricas, se realizaron por especialistas estandarizadas. Todas las bases de datos con información de los niños contienen datos cifrados para proteger la identidad de los participantes.

Análisis estadístico

Se analizaron los datos descriptivos con media y desviación estándar (DE). Se realizó la comparación de los cuatro grupos mediante el análisis de varianza Anova de una vía, posteriormente se utilizó la prueba de comparaciones múltiples post hoc Diferencia mínima significativa (DMS). Para evaluar la asociación entre las diferentes variables de estudio se utilizó la prueba de correlación de Pearson. Las diferencias estadísticamente significativas se consideraron con valores de $p < 0.05$. Todos los datos de la intervención serán codificados y vaciados a bases de datos en el sistema SPSS V 21.

Por la cantidad de variables que hay en el estudio fue necesario aplicar un análisis multivariado y se utilizó el análisis de componentes principales (ACP), es una técnica estadística utilizada para la reducción del número de variables en un conjunto de datos, por tanto permite identificar las variables de un conjunto de datos que poseen mayor variabilidad y ordenarlas por orden de importancia (Smith, 2002). Dicho análisis se realizó en el programa estadístico R y R studio.

Estrategia experimental

Se obtuvieron muestras de suero que fueron procesadas a través de un analizador automatizado marca ISE SRL modelo Miura 200 y se cuantificó la glucosa, los triacilglicérols (TAG), el colesterol total (CT), el colesterol-HDL (C-HDL) y colesterol-LDL (C-LDL). Para evaluar y clasificar los marcadores bioquímicos se utilizaron los criterios del Panel de Expertos sobre Directrices integradas para la salud cardiovascular y la Reducción del Riesgo en Niños y Adolescentes y los criterios de la Federación Internacional de Diabetes (IDF, por sus siglas en inglés) (National, Heart, 2012). Cabe aclarar que el estudio realizado aprovechó la existencia de un proyecto en curso de la Facultad de Medicina de la U.N.A.M., que tuvo por objetivo la implementación de una rutina de activación física en escolares del Estado de México y evaluó sus efectos en indicadores de salud (medidas antropométricas, presión arterial y química sanguínea) y de capacidad ejecutiva (atención, memoria de trabajo y control de inhibición de respuestas). Para la evaluación de dicha intervención se seleccionó a cinco escuelas para formar una cohorte de 1800 niños de ambos géneros, a los cuales se les tomaron datos generales, antropométricos y química sanguínea. Entonces debido a que no hay evidencia en la literatura que soporte suficientemente que la intervención por medio de actividad física de baja-moderada intensidad modifique de manera significativa los niveles de VLDL e IDL, por el contrario, hay mucha evidencia que sustenta el efecto positivo de la actividad física y ejercicio sobre los niveles de TAG, c-LDL y c-HDL; no se invirtió en reactivos para la estimación de parámetros bioquímicos que no van a modificarse con dicha intervención.

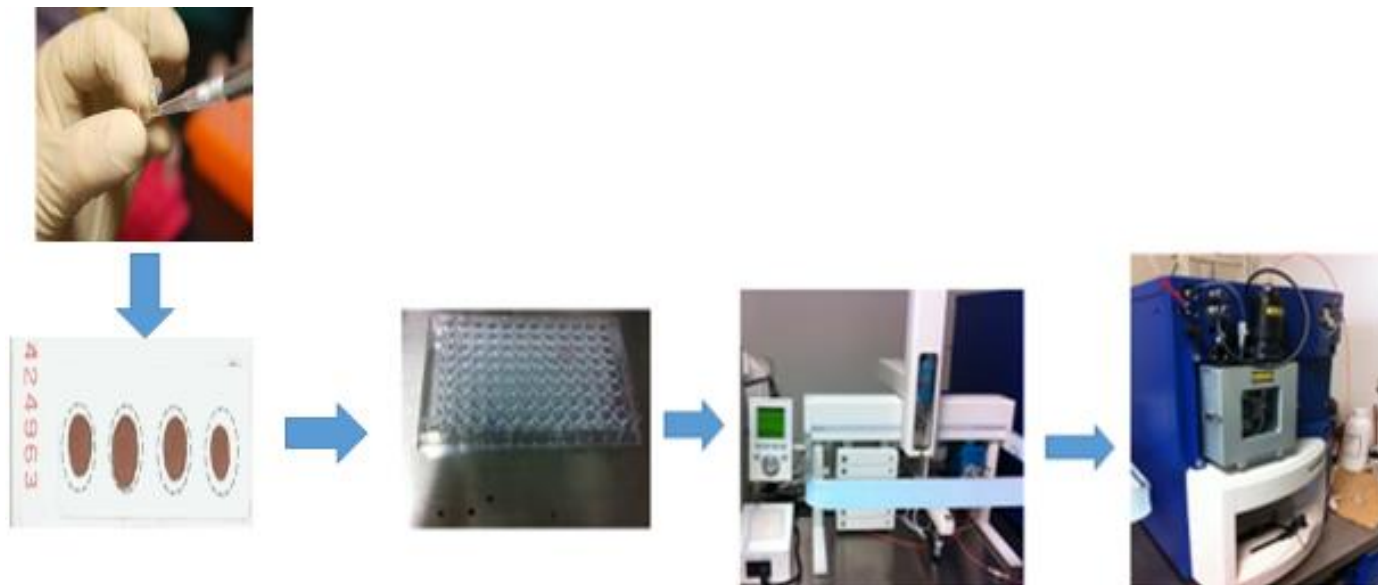
El perfil metabólico se obtuvo mediante la cuantificación de acilcarnitinas (AC) y aminoácidos (AA) en muestras de suero a través de la técnica de espectrometría de masas en tándem y se realizó en colaboración con el laboratorio de errores innatos del metabolismo del Instituto Nacional de Pediatría (INP). Se realizó el siguiente procedimiento:

- a) Se tomaron 10 ml de sangre periférica sin anticoagulante, se separó el suero de las células.
- b) Se depositaron 20 μ l de cada muestra en el papel filtro.
- c) Se perforó el papel filtro y se colocó en los pozos de una placa de 96 pozos.
- d) Se agregaron 100 μ l de solución estándar y se incubó la placa por 45 min a 45°C agitándose a 750 rpm. Posteriormente se trasladó el sobrenadante a otra placa de fondo cónico y se colocó en el automuestreador.

El equipo de espectrometría de masas en tándem realiza un análisis preestablecido de 11 aminoácidos y 11 acilcarnitinas, tabla 3.

La técnica de espectrometría de masas en tándem se basa en la extracción de AA y AC de manchas de sangre seca con una solución que contiene estándares internos etiquetados de isótopos estables. La respuesta de cada analito relativa a la respuesta de su correspondiente estándar interno de isótopo estable es proporcional a la concentración de analitos. La técnica de separación e identificación múltiple de analitos basada en un patrón específico de fragmentación iónica que produce cada compuesto bajo determinadas condiciones de análisis y en la separación de cada especie iónica según su relación masa/carga (m/z). Se utilizan dos espectrómetros de masas conectados en serie mediante una cámara llamada celda de colisión que fragmenta las moléculas. Su funcionamiento consiste en que la muestra debe ionizarse, después dicha muestra se envía al primer analizador de masas, la mezcla de la muestra ionizada se clasifica por m/z ; Los iones seleccionados se envían a una celda de colisión (allí se lleva a cabo la fragmentación de los iones seleccionados). Los iones seleccionados se envían al segundo analizador de masas (los iones fragmentados se clasifican por m/z). Finalmente un detector capta la información y la transmite a un sistema informático. Equipo marca LC-MS-MS Micromass Quattro micro™ API. Tandem quadrupole system®. El kit de los reactivos que se utilizó fue marca Perkin Elmer SOFTWARE NeoLynx® (figura 9).

Figura 9. Técnica de espectrometría de masas en tándem



La cuantificación del perfil de citocinas se realizó a través de la técnica de análisis múltiple de citocinas (multiplex cytokine analysis) con el sistema basado en microesferas de Milliplex® Map. El fundamento de esta técnica se basa en el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA por sus siglas en inglés) sándwich de captura, con la modificación que el anticuerpo de captura está adherido a microesferas en suspensión, dicho anticuerpo es específico para una citocina con una combinación de componentes fluorescentes. La mezcla de diferentes microesferas permite detectar múltiples analitos simultáneamente. Las microesferas se incuban con la muestra a analizar en una placa, después se añaden los anticuerpos de detección biotilados (específicos para cada citocina de interés) y la estreptavidina-ficoeritrina (Ep-FE), que se une a los anticuerpos de detección. Posteriormente las muestras se analizan en un equipo con láseres que permite identificar simultáneamente cada microesfera de acuerdo con su fluorescencia particular y la luz emitida es cuantificada. En este estudio se realizó la determinación de múltiples citocinas con base en el siguiente procedimiento:

Se prepararon los reactivos, la solución de lavado y la mezcla de microesferas:

Para la preparación de la mezcla de microesferas se añadieron 60 µl de cada vial de microesferas y se ajustó el volumen final de la mezcla a 3000 µl con la solución diluyente.

Procedimiento

1. Se añadieron 25 µl de estándares y controles en los pocillos de la placa, 25 µl de assay buffer a los pocillos de las muestras y enseguida se añadió 25 µl del suero de la muestra de cada niño..
2. Posteriormente se añadieron 25 µl de la mezcla de microesferas y se incubó en un agitador de placas por 24h a 4°C.
3. Se lavó la placa, después se añadieron 25 µl de la solución con anticuerpos de detección biotilados y se incubó por 1h.
4. Finalmente se añadieron 25 µl de la estreptavidina con ficoeritrina a cada pozo, se incubó con agitación durante 30 min a temperatura ambiente (20-25°C) y se procedió a leer la placa con el equipo MagPix® con software XPONENT®.

Marca del equipo: magpix®multiplex millipor.

Resultados

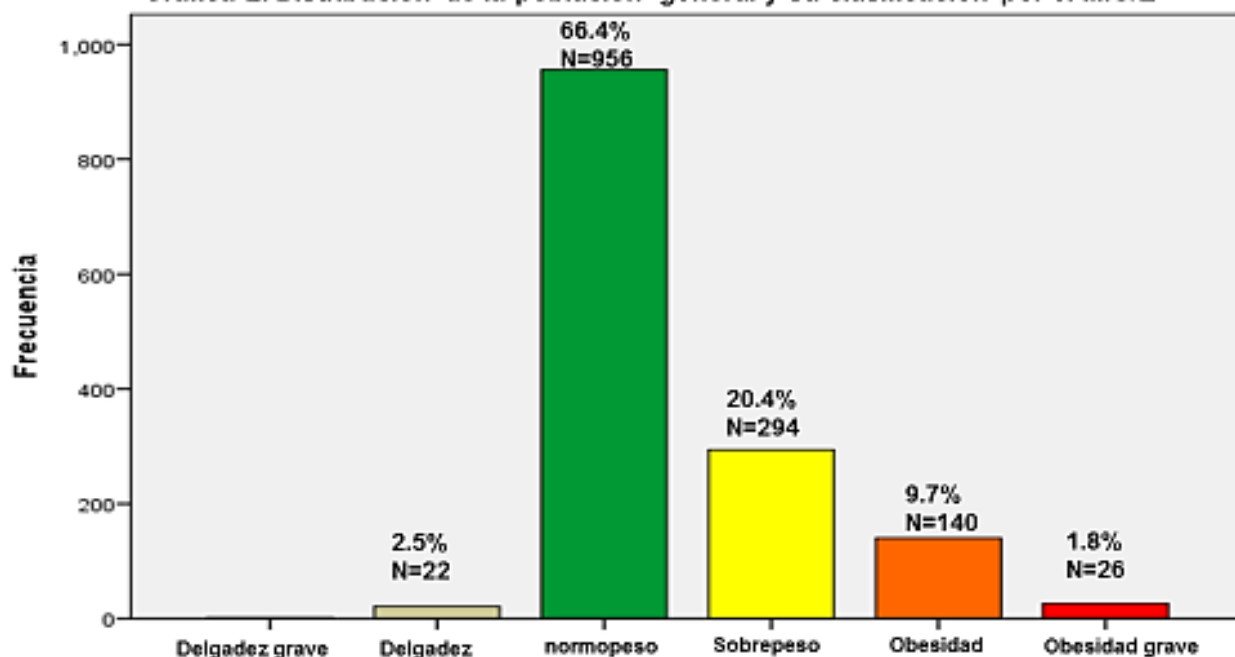
Se realizó la intervención con una cohorte de 1,800 niños de ambos géneros en cinco escuelas del Estado de México, a los cuales se les tomaron datos generales, antropométricos y de química sanguínea. Posteriormente se realizó un análisis de los datos y se obtuvo un total de 1439 niños de ambos géneros (n = 725 niñas, 50.4% y n= 714 niños, 49.6%) con datos completos y que cumplieron con los criterios del estudio. En la siguiente tabla se describen los datos generales de la población de estudio, tabla 5.

Tabla 5. Características generales de la población de estudio

Características de la población general	Media	DE
Edad (años)	8.79	± 1.4
Talla (cm)	129.76	± 10.5
Peso (Kg)	29.74	± 8.4
C. cintura (cm)	62.34	± 9.5
IC/T	0.47	± 0.057
PAS/PAD (mmHg)	106/64	± 12/11
Glucemia (mg/dl)	96.24	± 9.2
Triacilglicerol (mg/dl)	100.06	± 46.6
Colesterolemia (mg/dl)	141.59	± 28.4
LDL (mg/dl)	68.68	± 18.2
HDL (mg/dl)	45.39	± 13.2

La distribución de la población general por IMC/E fue de 2,5% (n=22) con delgadez, 66.4% (n= 956) con IMC/E normal para la edad, 20.4%(n=294) con sobrepeso, 9.7%(n=140) con obesidad y 1.8%(n=26) con obesidad grave, gráfica 2.

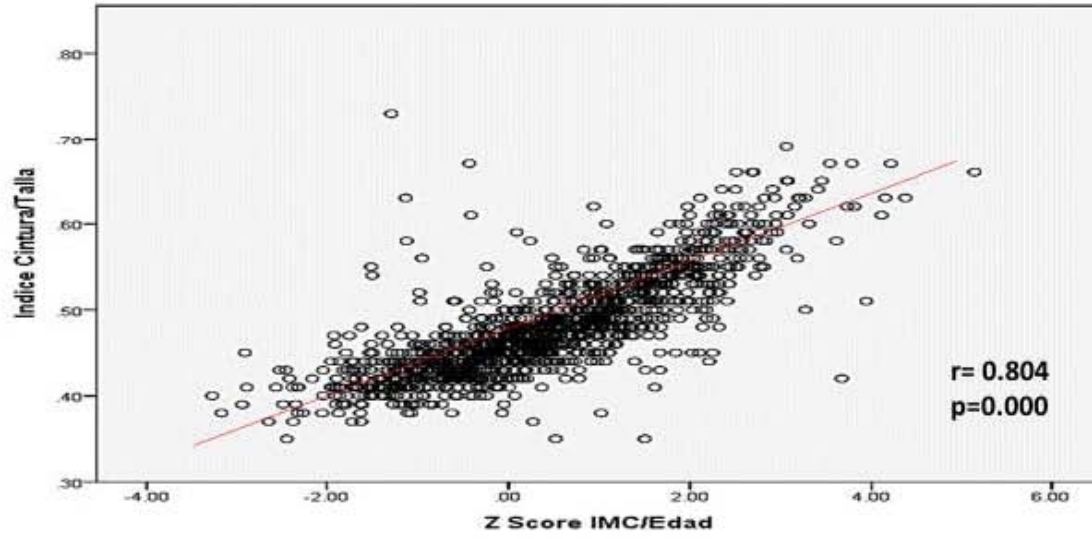
Gráfica 2. Distribución de la población general y su clasificación por el IMC/E



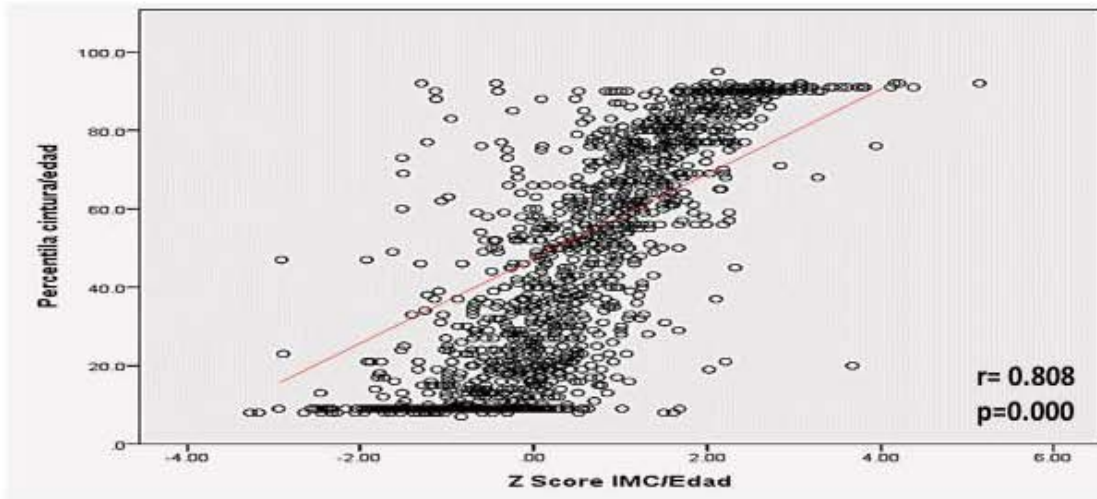
Se evaluó la representatividad de la cohorte de 1,439 niños con respecto a la prevalencia nacional de sobrepeso y obesidad, con el reporte de la ENSANUT 2012 y se encontró una prevalencia conjunta de sobrepeso y obesidad muy similar entre la cohorte de niños estudiados (31.9%) y la prevalencia nacional (34.4%).

Posteriormente con el objetivo de validar el modelo de estudio, se evaluó la asociación de los indicadores de adiposidad de la cohorte mediante el análisis de correlación de Pearson, el Índice cintura talla y la circunferencia de cintura, con el aumento de grasa corporal (IMC/E), la asociación fue positiva y significativa entre la ganancia de grasa corporal con el aumento en el riesgo cardiovascular (evaluado por IC/T) y la obesidad abdominal (evaluado por percentil cintura/edad), gráficas 3 y 4.

Gráfica 3. Asociación entre el IMC/E y el Índice Cintura-Talia

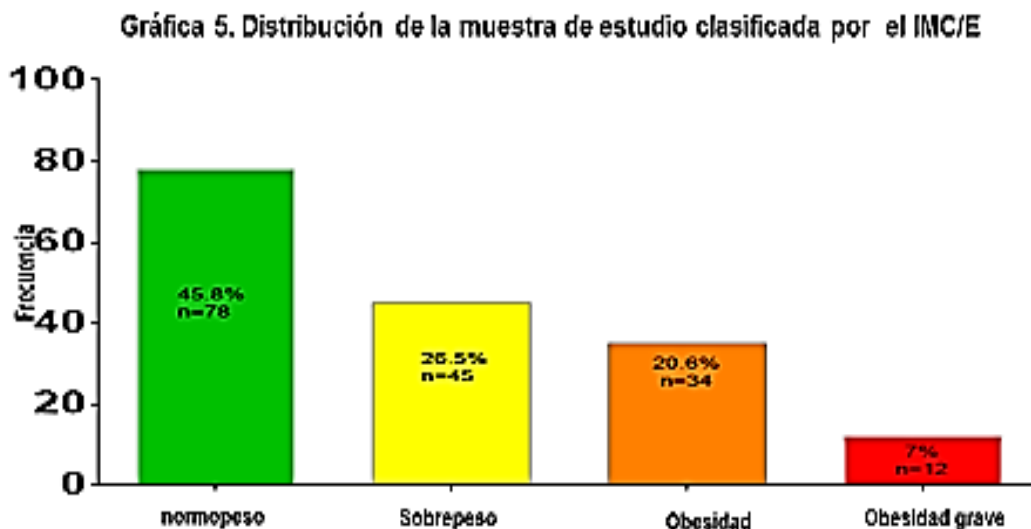


Gráfica 4. Asociación entre el IMC/E y Percentil Cintura/E



Entonces de acuerdo con el objetivo de este estudio, se realizó el cálculo de una muestra representativa de la población de estudio.

Se analizaron 169 niños de ambos géneros, con un rango de edad entre 6-11 años, siendo niñas el 47% (n=79) y niños el 53% (n=90). En la siguiente gráfica se describen los porcentajes de distribución de la muestra de estudio con base en el clasificador IMC/E, gráfica 5.



Para describir las características generales de la muestra de estudio se obtuvieron las medias y desviación estándar (DE) de las mediciones antropométricas y los marcadores bioquímicos, tabla 6.

Tabla 6. Características generales de la muestra de estudio

Variable	Media	DE
Edad (años)	8.8	± 1.3
Peso (kg)	32.38	± 10.1
Talla (m)	131.6	± 9.9
C.Cintura (cm)	65.5	± 11.7
IC/T	0.49	± 0.07
PAS/PAD (mmHg)	106/63	± 12/11

DE

Marcadores Bioquímicos	Media
Glucosa (mg/dl)	96.1 ± 8.6
Triacilglicerol (mg/dl)	104.8 ± 46
Colesterol Total (mg/dl)	144.8 ± 30
Colesterol LDL (mg/dl)	69.7 ± 19.8
Colesterol HDL (mg/dl)	44.5 ± 12.8

Indicadores de adiposidad

La población de estudio se clasificó por el IMC/E con base en los criterios de la OMS, los niños con peso normal fueron 45.8% (n=78), con sobrepeso 26.5% (n=45), obesidad 20.6% (n=34) y obesidad grave 7% (n=12). Cabe aclarar que de acuerdo al objetivo de este estudio todas las mediciones y comparaciones realizadas en la población de estudio se basan en la clasificación de los cuatro grupos por el indicador IMC/E. De acuerdo a la NHANESIII la prevalencia de obesidad abdominal fue clasificada con base en el percentil de CC (>90^op)(Fernández JR., Redden DT., Pietrobelli A., 2004) y se encontró que de los niños con sobrepeso el 17.8% (n=8), con obesidad el 48.6% (n=17) y obesidad grave 100% (n=12).

La prevalencia de riesgo cardiometabólico se midió con base en el índice Cintura/Talla ICT, se encontró en los niños con peso normal el 5.1% (n=4), con sobrepeso 71.1% (n=32), con obesidad 91.4% (n=32) y con obesidad grave el 100% (n=12).

Se realizó la clasificación de los marcadores bioquímicos de acuerdo a la IDF y El Panel de Expertos sobre Directrices integradas para la salud cardiovascular y la Reducción del Riesgo en Niños y Adolescentes (NHLBI, por sus siglas en inglés). La prevalencia de prediabetes de los niños con peso normal fue el 24.4% (n=19), sobrepeso 44.4% (n=20), obesidad 40% (n=14) y obesidad grave el 42% (n=7). La prevalencia de TAG elevados en los niños con peso normal fue 24.4% (n=19), sobrepeso 42.2% (n=19), obesidad 65.7% (n=23), obesidad grave 50% (n=6). Presentaron concentraciones bajas de c-HDL los niños con peso normal el 48.7% (n=38), sobrepeso 37.8% (n=17), obesidad 37.1% (n=13) y obesidad grave 16.7% (n=2). Con respecto a las concentraciones de CT y c-LDL la mayor prevalencia estuvo en los cuatro grupos estuvo en la clasificación de limite alto(National, Heart, 2012; Zimmet et al., 2007), tabla 7.

Tabla 7. Prevalencia de los marcadores bioquímicos por grupo de estudio.

		Normal	Sobrepeso	Obesidad	Obesidad Grave
		% del N de la columna	% del N de la columna	% del N de la columna	% del N de la columna
Glucosa	Normal (<100 mg/dl)	75,6% (n=59)	55,6% (n=25)	60,0% (n=21)	58,3% (n=7)
	Prediabetes (≥100 a <126 mg/dl)	24,4% (n=19)	44,4% (n=20)	40,0% (n=14)	41,7% (n=5)
	Diabetes Mellitus (≥126 mg/dl)	0,0% (n=0)	0,0% (n=0)	0,0% (n=0)	0,0% (n=0)
TAG	Aceptable (<10años <75 mg/dl, 10años < 90 mg/dl)	42,3% (n=33)	24,4% (n=11)	14,3% (n=5)	25,0% (n=3)
	Limite Alto (<10años 75-99 mg/dl, 10años < 90-129 mg/dl)	33,3% (n=26)	33,3% (n=15)	20,0% (n=7)	25,0% (n=3)
	Elevado (<10años ≥100 mg/dl, 10años ≥130 mg/dl)	24,4% (n=19)	42,2% (n=19)	65,7% (n=23)	50,0% (n=6)
Colesterol Total	Aceptable (<170 mg/dl)	88,5% (n=69)	82,2% (n=37)	68,6% (n=24)	75,0% (n=9)
	Limite alto (170 – 199 mg/dl)	6,4% (n=5)	17,8% (n=8)	22,9% (n=8)	25,0% (n=3)
	Elevado (> 200 mg/dl)	5,1% (n=4)	0,0% (n=0)	8,6% (n=3)	0,0% (n=0)
LDL	Aceptable (<110 mg/dl)	96,2% (n=75)	100,0% (n=45)	97,1% (n=34)	100,0% (n=12)
	Limite alto (110 – 129 mg/dl)	1,3% (n=1)	0,0% (n=0)	2,9% (n=1)	0,0% (n=0)
	Elevado (≥ 130 mg/dl)	2,6% (n=2)	0,0% (n=0)	0,0% (n=0)	0,0% (n=0)
HDL	Aceptable (> 45 mg/dl)	32,1% (n=25)	42,2% (n=19)	31,4% (n=11)	41,7% (n=5)
	Limite Bajo (40 – 45 mg/dl)	19,2% (n=15)	20,0% (n=9)	31,4% (n=11)	41,7% (n=5)
	Bajo (<40 mg/dl)	48,7% (n=38)	37,8% (n=17)	37,1% (n=13)	16,7% (n=2)

La concentración promedio de los marcadores bioquímicos se describe por grupo de estudio con base en la media y DE, tabla 8.

Tabla 8. Concentración sérica de marcadores bioquímicos por grupo de estudio

	CLASIFICACION_OMS							
	NORMAL		SOBREPESO		OBESIDAD		OBESIDAD GRAVE	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE
Glucosa (mg/dl)	93.82	± 8.99	97.38*	± 9.11	98.74*	± 6.59	99.00*	± 5.81
TAG (mg/dl)	93.31	± 41.89	102.27	± 42.65	131.03*+	± 50.83	116.83	± 44.27
CT (mg/dl)	139.97	± 32.81	143.56	± 21.64	155.97*	± 32.05	151.83	± 27.72
c_LDL (mg/dl)	65.31	± 20.76	69.51	± 15.54	77.26*	± 20.70	79.83*	± 18.99
c_HDL (mg/dl)	46.54	± 13.67	42.93	± 12.20	43.47	± 13.04	39.92	± 6.57

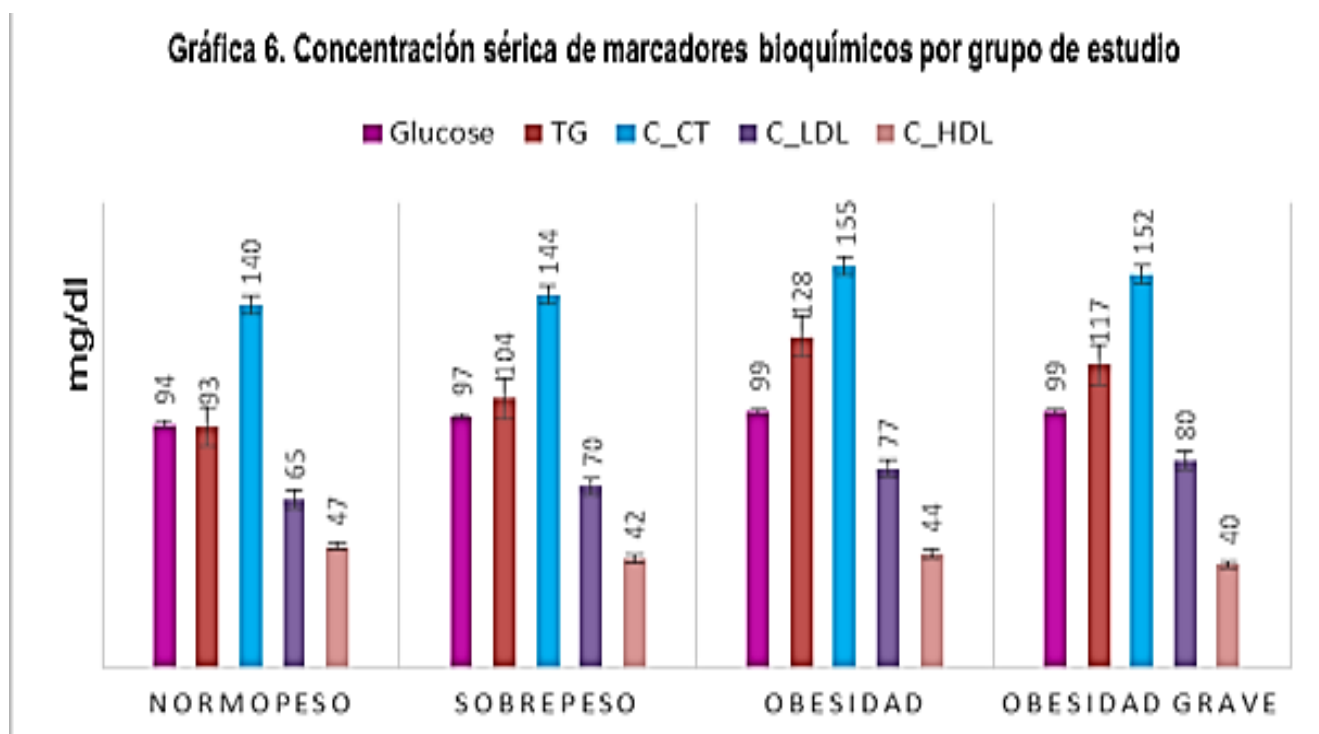
*se muestran diferencias significativas al comparar el grupo de peso normal con los demás grupos ($p < 0.05$)

+se muestran diferencias significativas al comparar el grupo de sobrepeso con los demás grupos ($p < 0.05$)

Al realizar el análisis de varianza anova de una vía y la prueba post hoc DMS, se encontraron diferencias significativas en la concentración de glucosa en los tres grupos al compararlos con el grupo de niños con peso normal ($p < 0.05$), siendo mayores las concentraciones séricas de glucosa en los grupos con obesidad. Con respecto a la concentración de triacilgliceroles se encontraron diferencias significativas en el grupo de niños con obesidad al compararlo con el grupo de niños con peso normal, asimismo se encontraron diferencias significativas entre el grupo de niños con sobrepeso y obesidad ($p < 0.05$), siendo mayores las concentraciones séricas de triacilgliceroles en los grupos con obesidad.

Con respecto a la concentración del c-CT y el c-LDL se encontró diferencia significativa al comparar al grupo de niños con peso normal y el grupo de niños con obesidad ($p < 0.05$) siendo mayores las concentraciones de colesterol total y colesterol LDL en los grupos con obesidad, gráfica 6.

Gráfica 6. Concentración sérica de marcadores bioquímicos por grupo de estudio

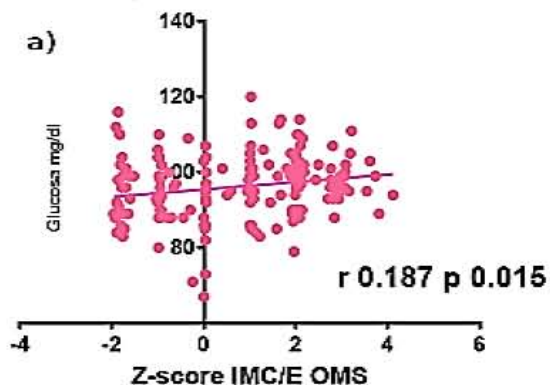


Se realizó el análisis de varianza con la prueba de anova y la prueba post hoc DMS, se encontraron diferencias significativas en los cuatro marcadores bioquímicos entre el grupo con peso normal y el grupo con obesidad y obesidad grave. se considero significancia estadística con $p < 0.05$

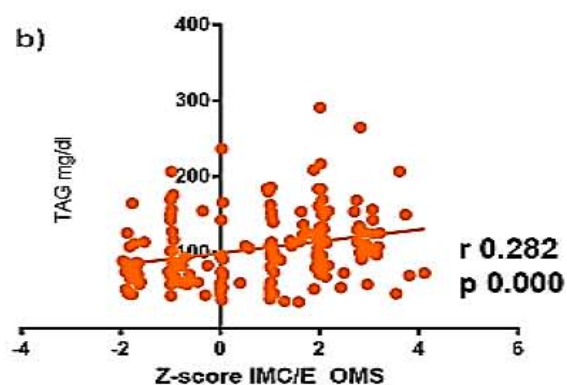
Posteriormente se evaluó la asociación entre el IMC/E y los marcadores bioquímicos mediante la prueba de correlación de Pearson, se encontró asociación positiva y significativa en los marcadores bioquímicos, siendo el c-HDL el único que se asoció negativamente con el IMC; Sin embargo, todas las asociaciones encontradas son muy débiles, lo cual sugiere que apenas comienzan a existir cambios en el metabolismo de la glucosa y el perfil de lípidos conforme incrementa la grasa corporal, siendo más evidente en etapas más avanzadas de la obesidad, gráfica 7.

Gráfica 7. Asociación entre el IMC/E por marcador bioquímico

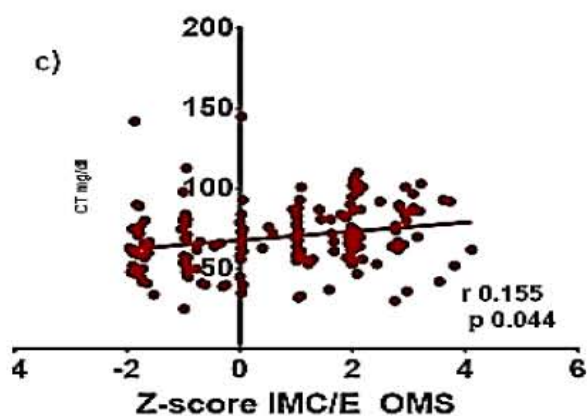
Asociación de concentración de glucosa e IMC/E



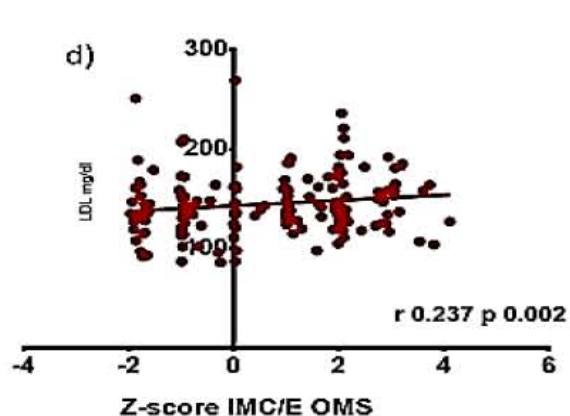
Asociación de concentración de TAG e IMC/E



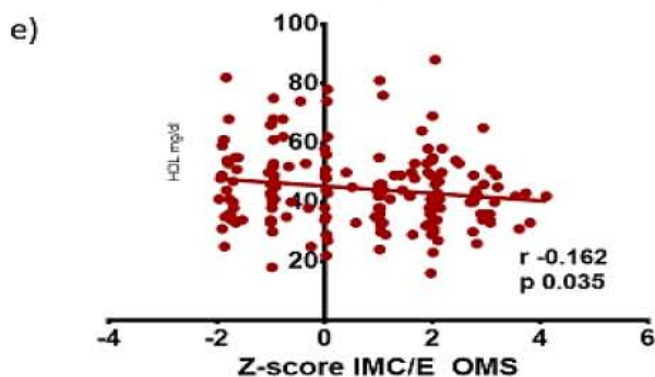
Asociación de concentración de C-CT e IMC/E



Asociación de concentración de C-LDL e IMC/E



Asociación de concentración de C-HDL e IMC/E



Gráficos de asociación de marcadores bioquímicos con el IMC/E a) Glucosa con IMC/E b) Triacilglicerolos con IMC/E, c) Concentración de c-CT con IMC/E, d) Concentración de LDL con IMC/E, E) concentración de c-HDL con IMC/E.

Se evaluó la asociación a través de la prueba de correlación de Pearson, se consideró significancia estadística con $p < 0.05^*$

Posteriormente se aplicó una técnica estadística de análisis multivariado para la identificación de las variables más importantes correspondientes al perfil metabólico y al panel de citocinas utilizando el análisis de componentes principales (ACP).

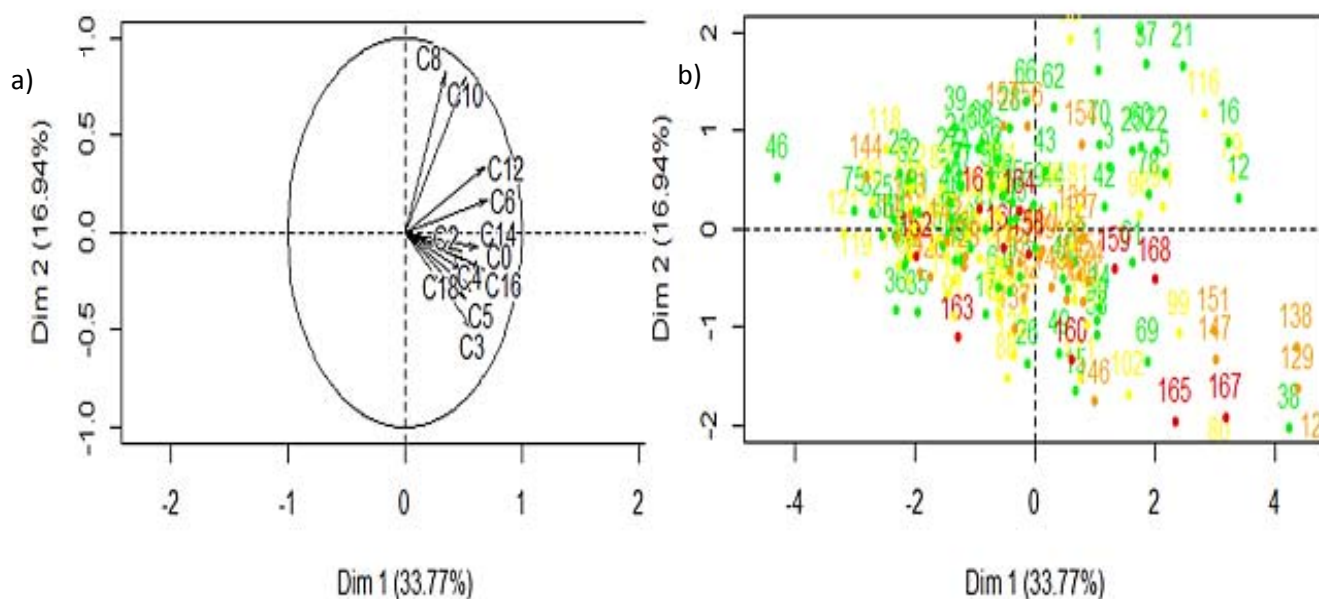
El ACP considero 12 tipos de AC en 169 estudiantes, las dos primeras dimensiones explican juntas el 50.7% de la varianza. Las AC que más contribuyen a la variabilidad en la dimensión (DIM) 1 son AC6, AC12, C0, AC14, AC3, AC4, AC10 y AC5. Las AC que más contribuyen a la variabilidad en la DIM 2 son AC8, AC10 con base en sus porcentajes de contribución y valores de coeficiente de correlación, tabla 9.0 y representación grafica del ACP 8.

Tabla 9.0

Porcentaje de contribución de varianza por dimensión en la concentración de acilcarnitinas

DIMENSIÓN	Porcentaje de varianza	Porcentaje de varianza acumulado
DIM 1	33.77 %	33.77 %
DIM 2	16.94%	50.71%

Gráfica 8.0 Representación gráfica del análisis de componentes principales de las acilcarnitinas



a) Representación gráfica del ACP por vectores

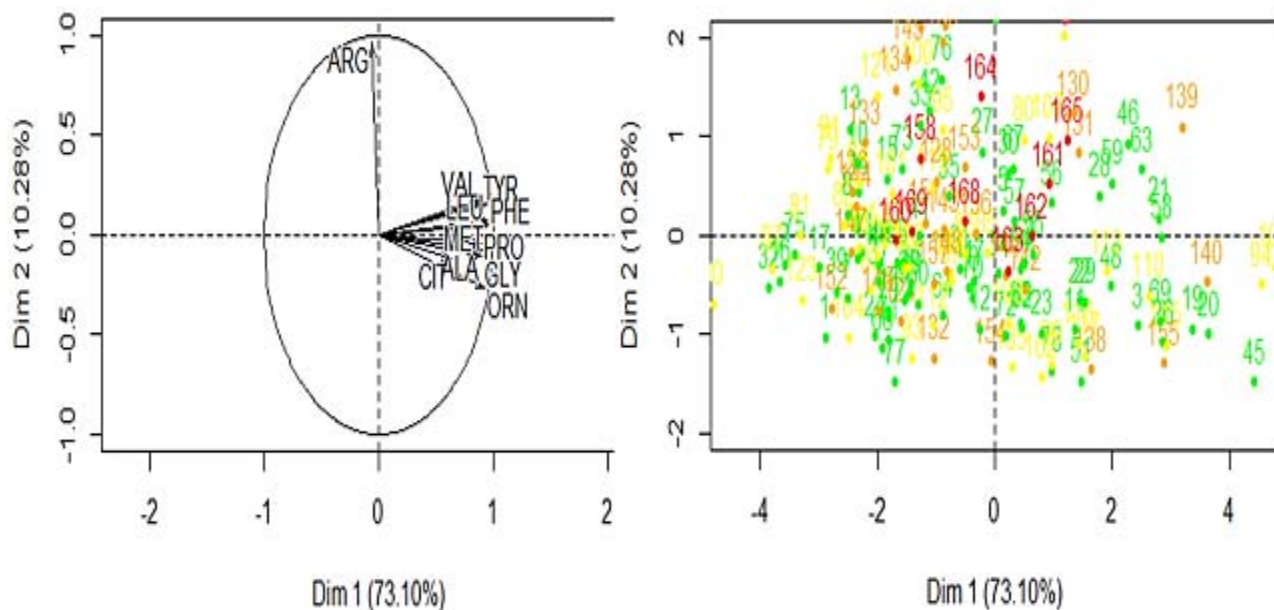
b) Representación gráfica de la distribución de niños en el ACP. Normopeso (verde), sobrepeso (amarillo), obesidad (naranja) y obesidad grave (rojo).

Con respecto a los aminoácidos el ACP considero 11 variables en 169 estudiantes, los dos primeros componentes explicaban juntos el 83.38% de la varianza. Los AA que más contribuyen a la variabilidad en la DIM 1 son Phe, Met, Leu, Orn, Ala, Val, Gly y Tyr. El AA que más contribuye a la variabilidad en la DIM 2 es la Arg con base en sus porcentajes de contribución correspondientes y valores de coeficiente de correlación, tabla 9.1 y representación gráfica del ACP 9.

Tabla 9.1 Porcentaje de contribución de varianza por dimensión en la concentración de aminoácidos.

DIMENSIÓN	Porcentaje de varianza	Porcentaje de varianza acumulado
DIM 1	73.1%	73.1%
DIM 2	10.28%	83.38%

Gráfica 9. Representación gráfica del análisis de componentes principales de los aminoácidos



a) Representación gráfica del ACP por vectores

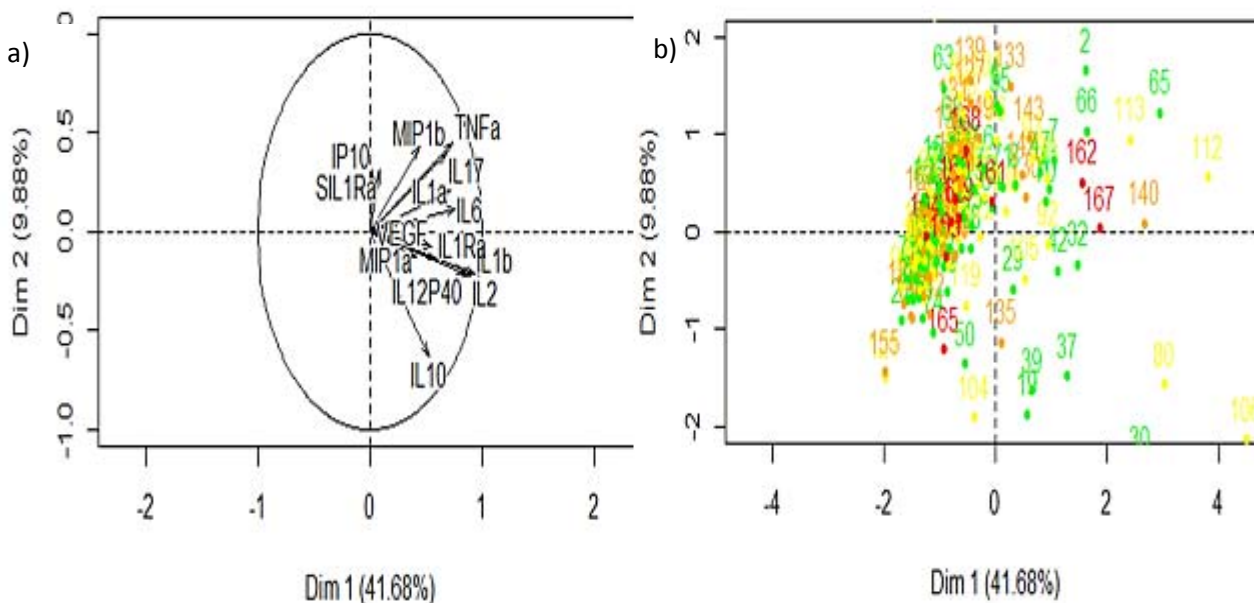
b) Representación gráfica de la distribución de niños en el ACP. Normopeso (verde), sobrepeso (amarillo), obesidad (naranja) y obesidad grave (rojo).

El análisis de ACP considero 14 citocinas en 169 estudiantes, los dos primeros componentes explicaban juntos el 51.5% de la varianza. Las citocinas que más contribuyen a la variabilidad en la DIM 1 son IL1 β , IL2, IL12P40, IL6, TNF α , IL1a, IL17, IL1Ra, VEGF e IL10. Las citocinas que más contribuyen a la variabilidad en la DIM 2 son IL10, TNF α , MIP1 β e IL17, con base en sus porcentajes de contribución y valores de coeficiente de correlación, tabla 9.2 y representación gráfica del ACP 10.

Tabla 9.2. Porcentaje de contribución de varianza por dimensión en la concentración de citocinas.

DIMENSIÓN 1	Porcentaje de varianza	Porcentaje de varianza acumulado
DIM 1	41.67%	41.67%
DIM 2	9.87%	51.55%

Gráfica 10. Representación gráfica del análisis de componentes principales de las citocinas



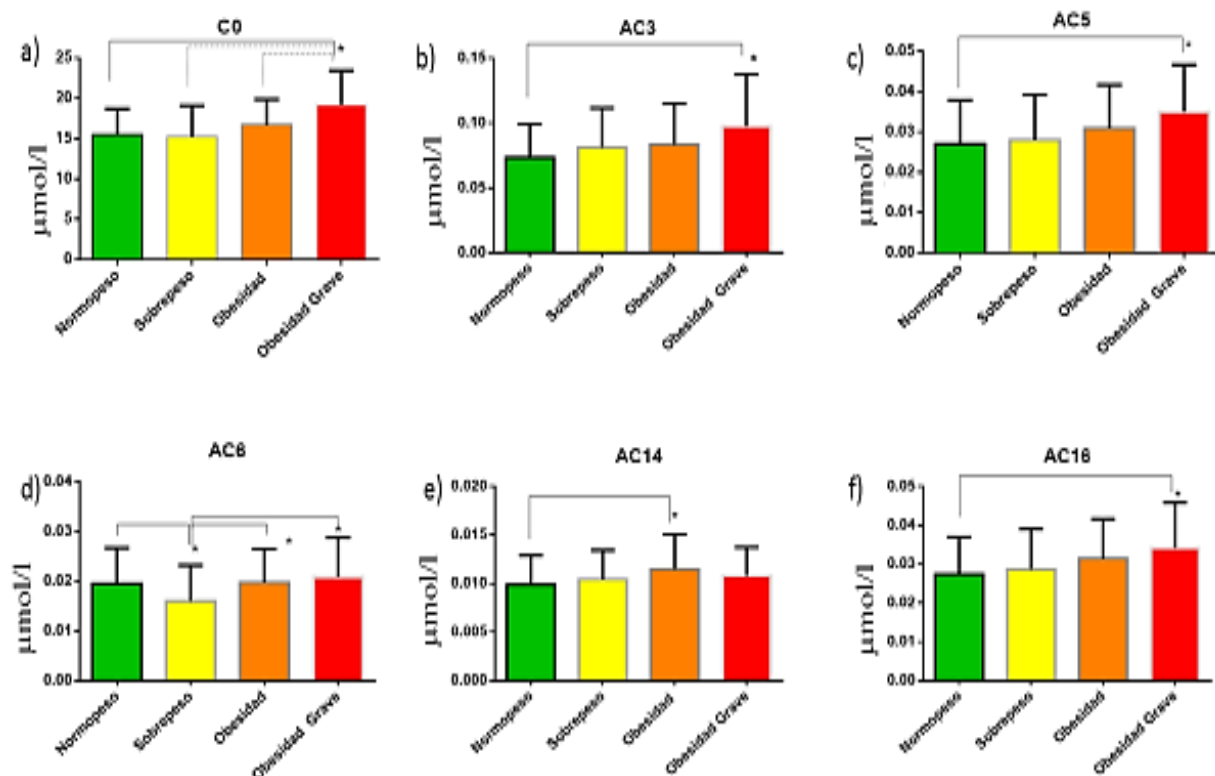
a) Representación gráfica del ACP por vectores

b) Representación gráfica de la distribución de niños en el ACP. Normopeso (verde), sobrepeso (amarillo), obesidad (naranja) y obesidad grave (rojo).

Perfil Metabólico

De acuerdo con el ACP, se identificaron en el perfil de AC 10 metabolitos principales las AC6, AC12, C0, AC16, AC14, AC3, AC4, AC10 AC8 y AC5; posteriormente se realizó el análisis de varianza mediante la prueba de Anova con la prueba post hoc DMS y se encontró diferencia estadística significativa en la concentración de 6 metabolitos, C0, AC 3, AC5, AC6, AC14 y AC16, siendo significativamente mayores sus concentraciones en los grupos con obesidad (ver grafico 9). Asimismo en comparación con las AC que se encontraron significativamente incrementadas, la AC16 fue la que se asoció positivamente con los TAG ($r = 0.209$, $p = 0.007$) y con el c-LDL ($r = 0.186$ $p = 0.016$); por lo tanto, conforme incrementó la grasa corporal incrementó la concentración plasmática de AC, probablemente debido a que representan el metabolismo intracelular de los ácidos grasos, gráfica 11 y tabla 10.0 y 10.1.

Gráfica 11. Concentración sérica de acilcarnitinas por grupo de estudio



Gráficos de concentración de acilcarnitinas. a) C0 carnitina libre, b) AC3 propionilcarnitina, c) AC isovalerilcarnitina, d) AC 6 hexanoilcarnitina, e) AC14 miristoilcarnitina, f) AC16 palmitoilcarnitina. La comparación de los grupos se realizó mediante la prueba estadística anova con la prueba post hoc DMS, se considero significancia estadística con diferencias $p < 0.05^*$

Tabla 10.0 Valor de significancia en la diferencia de concentración de AC por grupo de estudio.

DIFERENCIA EN LA CONCENTRACION DE ACILCARNITINAS POR ADIPOSIDAD				
	NORMAL	SOBREPESO	OBESIDAD	OBESIDAD GRAVE
NORMAL		AC6 (p = 0.010)	AC14 (p = 0.014)	C0 (p = 0.001) AC3 (p = 0.008) AC5 (p = 0.021) AC16 (p = 0.033)
SOBREPESO			AC6 (p = 0.024)	C0 (p = 0.001) AC6 (p = 0.039)
OBESIDAD				C0 (p = 0.034)
<i>Valores de significancia de la prueba post hoc DMS</i>				

La concentración media del perfil completo de AC que se cuantificó se describe por grupo de estudio con base en la media y DE. Ver tabla 10.1

Tabla 10.1 Concentración sérica de acilcarnitinas por grupo de estudio

	Clasificación del Indicador IMC/E							
	NORMAL		SOBREPESO		OBESIDAD		OBESIDAD GRAVE	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE
C0 ($\mu\text{mol/l}$)	15.503	± 3.21	15.27	± 3.838	16.731	± 3.160	19.221*+^	± 4.252
AC2 ($\mu\text{mol/l}$)	0.749	± 0.42	0.72	± 0.518	0.703	± 0.301	0.724	± 0.315
AC3 ($\mu\text{mol/l}$)	0.073	± 0.02	0.0813	± 0.0302	0.083	± 0.031	0.097*	± 0.039
AC4 ($\mu\text{mol/l}$)	0.054	± 0.02	0.0536	± 0.0208	0.061	± 0.027	0.065	± 0.030
AC5 ($\mu\text{mol/l}$)	0.027	± 0.01	0.028	± 0.0112	0.030	± 0.011	0.035*	± 0.011
AC6 ($\mu\text{mol/l}$)	0.019	± 0.00	0.016	± 0.0072	0.019+	± 0.006	0.020*+	± 0.007
AC8 ($\mu\text{mol/l}$)	0.052	± 0.060	0.038	± 0.0194	0.062	± 0.091	0.040	± 0.015
AC10 ($\mu\text{mol/l}$)	0.073	± 0.049	0.061	± 0.0352	0.075	± 0.062	0.051	± 0.010
AC12 ($\mu\text{mol/l}$)	0.021	± 0.008	0.020	± 0.0109	0.022	± 0.009	0.020	± 0.006
AC14 ($\mu\text{mol/l}$)	0.009	± 0.003	0.0104	± 0.0029	0.011*	± 0.003	0.011	± 0.002
AC16 ($\mu\text{mol/l}$)	0.027	± 0.009	0.0287	± 0.0103	0.031	± 0.010	0.034*	± 0.011
AC18 ($\mu\text{mol/l}$)	0.0122	± 0.004	0.0118	± 0.0049	0.012	± 0.006	0.0125	± 0.004

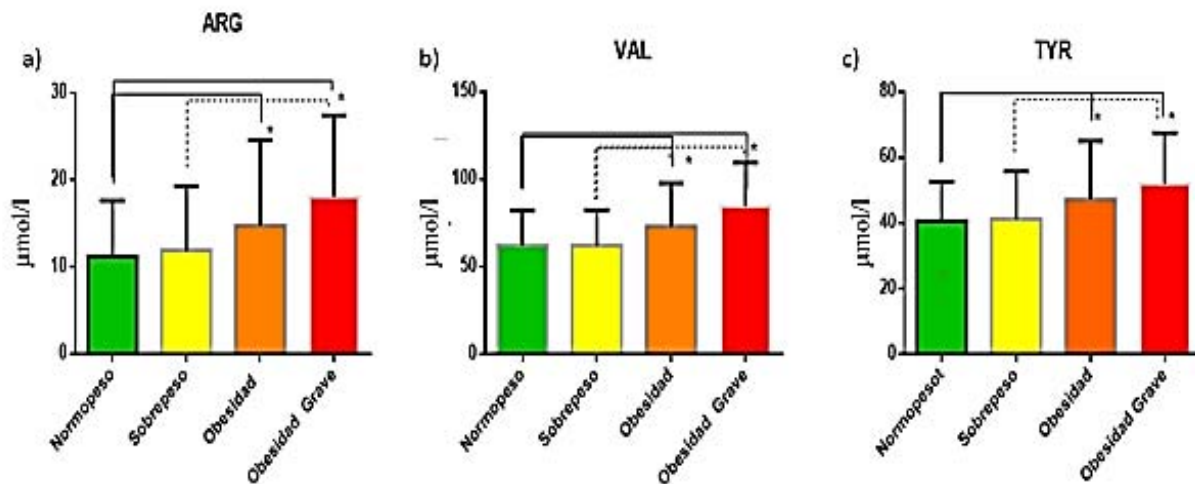
*se muestran diferencias significativas al comparar con el grupo de peso normal ($p < 0.05$)

+se muestran diferencias significativas al comparar con el grupo de sobrepeso ($p < 0.05$)

^ Se muestran diferencias significativas al comparar el grupo de obesidad con los demás grupos ($p < 0.05$)

Con respecto al perfil de AA, según el ACP se identificaron 9 metabolitos principales Phe, Met, Leu, Orn, Ala, Val, Gly, Tyr y Arg; posteriormente se realizó el análisis de varianza mediante la prueba de Anova con prueba Post Hoc DMS y se encontró diferencia estadística significativa en la concentración de 3 aminoácidos Arg, Val y Tyr, siendo significativamente mayores sus concentraciones conforme incrementó el grado de adiposidad, gráfica 12 y tablas 11.0, 11.1.

Gráfica 12. Concentración sérica de aminoácidos por grupo de estudio



Gráficos de concentración de aminoácidos. a) Arg: Arginina, b) Val: Valina c) Tyr: Tirosina. La comparación de los grupos se realizó mediante la prueba estadística anova con post hoc DMS, se considero significancia estadística con diferencias $p < 0.05^*$

Tabla 11.0 Valor de significancia en la diferencia de concentración de aminoácidos por grupo de estudio.

DIFERENCIA EN LA CONCENTRACION DE AMINOÁCIDOS POR ADIPOSIDAD				
	NORMAL	SOBREPESO	OBESIDAD	OBESIDAD GRAVE
NORMAL			ARG ($p = 0.026$) VAL ($p = 0.015$) TYR ($p = 0.026$)	ARG ($p = 0.005$) VAL ($p = 0.001$) TYR ($p = 0.011$)
SOBREPESO			VAL ($p = 0.025$)	ARG ($p = 0.015$) VAL ($p = 0.001$) TYR ($p = 0.020$)
<i>Valores de significancia de la prueba post hoc DMS</i>				

La concentración media del perfil completo de AA que se cuantificó, se describe según la media y la DE por grupo de estudio. Ver tabla 11.1

Tabla 11.1 Concentración sérica de aminoácidos por grupo de estudio.

	Clasificación OMS							
	NORMAL		SOBREPESO		OBESIDAD		OBESIDAD GRAVE	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE
ARG ($\mu\text{mol/l}$)	11.233	\pm 6.411	11.920	\pm 7.420	14.771*	\pm 9.780	18.070*+	\pm 9.363
CIT ($\mu\text{mol/l}$)	10.528	\pm 3.420	10.270	\pm 3.617	10.005	\pm 2.354	9.866	\pm 3.584
GLY ($\mu\text{mol/l}$)	187.600	\pm 80.959	163.235	\pm 73.558	163.685	\pm 69.219	159.803	\pm 57.138
ALA ($\mu\text{mol/l}$)	171.087	\pm 55.846	175.522	\pm 62.036	170.399	\pm 54.540	171.868	\pm 36.764
LEU ($\mu\text{mol/l}$)	81.787	\pm 30.123	80.538	\pm 34.875	92.549	\pm 43.939	100.632	\pm 33.413
MET ($\mu\text{mol/l}$)	12.928	\pm 4.856	12.282	\pm 4.914	13.574	\pm 5.923	13.373	\pm 5.604
PHE ($\mu\text{mol/l}$)	38.067	\pm 18.338	34.649	\pm 17.263	39.636	\pm 24.352	40.845	\pm 16.717
TYR ($\mu\text{mol/l}$)	40.634	\pm 11.993	41.212	\pm 14.477	47.196*	\pm 17.7476	52.041*+	\pm 15.489
VAL ($\mu\text{mol/l}$)	62.313	\pm 19.652	62.101	\pm 20.188	73.043*+	\pm 24.799	84.636*+	\pm 24.629
ORN ($\mu\text{mol/l}$)	53.252	\pm 33.310	48.368	\pm 29.513	54.524	\pm 33.586	47.435	\pm 19.701
PRO ($\mu\text{mol/l}$)	93.042	\pm 36.007	97.444	\pm 44.865	97.722	\pm 40.577	97.517	\pm 22.300

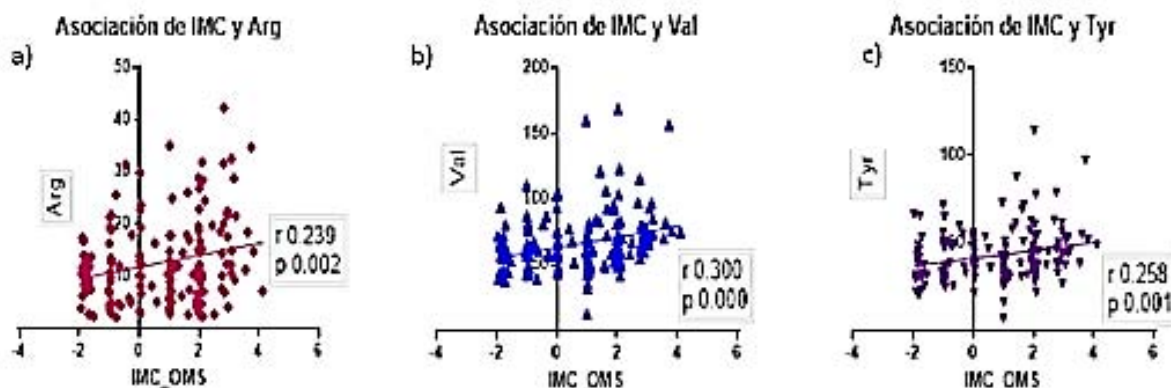
*se muestran diferencias significativas al comparar con el grupo de peso normal ($p < 0.005$)

+se muestran diferencias significativas al comparar con el grupo de sobrepeso ($p < 0.005$)

Posteriormente se evaluó la asociación de Val, Tyr y Arg, con respecto al incremento de grasa corporal, mediante la prueba de correlación de Pearson, se encontró asociación positiva y significativa entre la ganancia de masa grasa y el aumento en las concentraciones de

aminoácidos. Por tanto es notorio que en los grupos con mayor contenido de masa grasa ya existen cambios en el metabolismo de los AA, gráfica 13.

Gráfica 13. Asociación entre los aminoácidos y el IMC



Gráficos de asociación de aminoácidos con IMC. a) Arg: Arginina, b) Val: Valina, c) Tyr: Tirosina. Se evaluó la asociación a través de la prueba de correlación de Pearson, se considero significancia estadística con $p < 0.05^*$

Se evaluó la asociación entre los marcadores bioquímicos con los AA y se encontró que la Arg correlacionó positivamente con el c-LDL ($r = 0.210$, $p = 0.006$) y los TAG ($r = 0.172$, $p = 0.025$), la Tyr correlacionó positivamente con los TAG ($r = 0.233$, $p = 0.002$), glucosa ($r = 0.161$, $p = 0.037$) y c-CT ($r = 0.156$, $p = 0.043$); por su parte la Val se asoció positivamente con los TAG ($r = 0.230$, $p = 0.003$). Los TAG son el marcador bioquímico más se asoció a los cambios en el perfil de AA.

Finalmente con base en el hecho de la procedencia de las acilcarnitinas de cadena corta (AC3, AC4 y AC5) como productos intermediarios del catabolismo de los BCAA, se evaluó la asociación entre ambos y se encontraron asociaciones positivas, dicho hallazgo podría sugerir un catabolismo de estos aminoácidos en los grupos con obesidad, ver tablas 12.0 y 12.1.

Tabla 12.0 Asociación de aminoácidos y los marcadores bioquímicos.

Metabolito	Glucosa (mg/dl)	TAG (mg/dl)	c_CT (mg/dl)	c_LDL (mg/dl)	c_HDL (mg/dl)
ARG	r = 0.016 (p = 0.835)	r = 0.172* (p = 0.025)	r = 0.042 (p = 0.58)	r = 0.210* (p = 0.006)	r = -0.043 (p = 0.576)
TYR	r = 0.161* (p = 0.037)	r = 0.233* (p = 0.002)	r = 0.156* (p = 0.043)	r = 0.134 (0.083)	r = 0.051 (p = 0.509)
VAL	r = 0.131 (p = 0.090)	r = 0.230* (p = 0.003)	r = 0.150 (p = 0.051)	r = 0.105 (p = 0.175)	r = -0.019 (p = 0.803)

*se muestran valores de correlación (r) con significancia estadística de p <0.05.

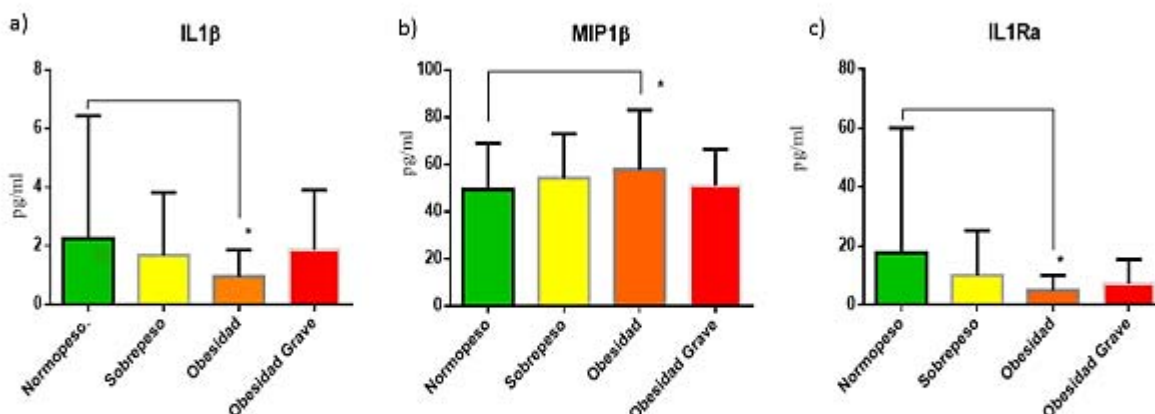
Tabla 12.1 Valores de asociación entre aminoácidos y acilcarnitinas de cadena corta

Metabolito	AC3	AC4	AC5
VAL	r = 0.312 (p = 0.000)	r = 0.253 (p = 0.001)	r = 0.475 (p = 0.000)
LEU	r = 0.201 (p = 0.009)	r = 0.164 (p = 0.033)	r = 0.419 (p = 0.000)

Perfil de citocinas

Con base en el análisis de componentes principales se identificaron 11 metabolitos principales IL1 β , IL2, IL12P40, IL6, TNF α , IL1a, IL17, IL1Ra, VEGF, IL10 y MIP1 β ; posteriormente se realizó un análisis de varianza mediante la prueba de Anova con Post Hoc DMS y se encontró diferencia estadística significativa en la concentración de 3 metabolitos IL β , MIP1 β e IL1Ra con mucha variabilidad en su concentración. Se encontró disminución significativa en la concentración de IL1 β e IL1Ra y por el contrario un incremento significativo en la concentración de MIP1 β , al comparar al grupo de niños con peso normal con el grupo de niños con obesidad, gráfica 14 y tablas 13.0, 13.1

Gráfica 14. Concentración sérica de citocinas por grupo de estudio



Gráficos de citocinas. a) Interleucina 1- β (IL-1 β) b) Proteína Inflamatoria de Macrófagos β (MIP1 β) c) Interleucina 1 antagonista del receptor (IL1Ra). La comparación de los grupos se realizó mediante la prueba estadística anova con prueba post hoc DMS, se consideró significancia estadística con diferencias $p < 0.05^*$

Tabla 13.0 Valor de significancia en la diferencia de concentración de citocinas por grupo de estudio

DIFERENCIA EN LA CONCENTRACION DE CITOCINAS POR ADIPOSIDAD				
	NORMAL	SOBREPESO	OBESIDAD	OBESIDAD GRAVE
NORMAL			IL1 β ($p = 0.046$) IL1ra ($p = 0.040$) MIP1 β ($p = 0.044$)	
<i>Valores de significancia de la prueba post hoc DMS</i>				

Las concentraciones de citocinas proinflamatorias, antiinflamatorias y quimiocinas, se describen según la media y DE por grupo de estudio. Ver tablas de la sección 13.1, 13.2 y 13.3.

Tabla 13.1 Concentración sérica de citocinas proinflamatorias por grupo de estudio

Perfil de citocinas	CLASIFICACION_OMS							
	NORMAL		SOBREPESO		OBESIDAD		OBESIDAD GRAVE	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE
IL_1 α (pg/ml)	11.50	± 20.55	13.78	± 24.95	6.864	± 6.99	9.34	± 12.69
IL_1 β (pg/ml)	2.25	± 4.18	1.68	± 2.14	.959*	± 0.90	1.87	± 2.03
IL_6 (pg/ml)	4.96	± 11.32	5.45	± 12.94	2.086	± 2.96	5.74	± 10.91
TNF α (pg/ml)	6.85	± 5.54	6.77	± 2.91	6.133	± 3.46	7.51	± 3.08
IL_17 (pg/ml)	3.02	± 3.97	2.80	± 1.71	2.193	± 1.67	3.07	± 1.99
IL12p40 (pg/ml)	9.08	± 16.85	7.38	± 9.11	4.564	± 3.90	6.83	± 7.40
IL_2 (pg/ml)	3.00	± 5.64	2.48	± 3.36	1.2511	± 1.31	2.75	± 3.33

*se muestra diferencias significativas al comparar con el grupo de peso normal ($p < 0.05$)

Tabla 13.2 Concentración sérica de citocinas antiinflamatorias por grupo de estudio

	CLASIFICACION_OMS							
	NORMAL		SOBREPESO		OBESIDAD		OBESIDAD GRAVE	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE
IL_10 (pg/ml)	2.90	± 8.43	2.35	± 4.92	1.58	± 2.82	3.48	± 7.77
IL_1ra (pg/ml)	17.77	± 42.23	10.010	± 15.32	4.97*	± 5.08	7.28	± 8.12
SIL_1ra (pg/ml)	31.29	± 65.51	18.69	± 35.95	36.93	± 68.95	23.95	± 37.31

*se muestra diferencias significativas al comparar con el grupo de peso normal ($p < 0.05$)

Tabla 13.3 Concentración sérica de quimiocinas por grupo de estudio

	CLASIFICACION_OMS							
	NORMAL		SOBREPESO		OBESIDAD		OBESIDAD GRAVE	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE
IP10 (pg/ml)	341.67	± 184.89	374.80	± 191.92	390.13	± 290.38	362.53	± 132.73
MIP1 α (pg/ml)	7.09	± 9.48	6.67	± 4.98	5.95	± 4.13	9.98	± 5.34
MIP1 β (pg/ml)	49.56	± 19.61	54.37	± 18.75	58.05*	± 25.12	51.18	± 15.26
VEGF (pg/ml)	106.02	± 122.85	91.10	± 137.66	91.96	± 121.96	124.003	± 82.35

*se muestra diferencias significativas al comparar con el grupo de peso normal ($p < 0.005$)

Discusión

Las estrategias de intervención para combatir la obesidad en niños de edad escolar no han sido efectivas, ya que la prevalencia de niños con sobrepeso y obesidad continúa en aumento en todo el mundo, lo cual sugiere la necesidad de encontrar otras formas de abordarla o momentos de intervención más oportunos. Para ello es indispensable conocer los mecanismos moleculares implicados en la fisiopatología de la obesidad infantil, identificar y caracterizar diferentes fenotipos y la respuesta metabólica que presentan durante este proceso; para con ello poder identificar los límites fisiológicos que permiten mantener condiciones saludables, es decir sin riesgo a desarrollar morbilidades asociadas.

Entonces, en primera instancia proponemos considerar elementos nuevos para estudiar la obesidad en niños e intentar definir fenotipos funcionales que nos permitan evaluar el riesgo para la salud. Para lograrlo es necesaria la utilización de herramientas más sensibles que permitan determinar los cambios en el perfil metabólico e inflamatorio del organismo, por lo que en este estudio se propuso analizar de forma preliminar el metaboloma de niños escolares con diferente proporción de grasa corporal. La metabolómica permite el análisis integral y cuantitativo de los metabolitos celulares y dado que la obesidad es una condición en la que el defecto primario afecta el funcionamiento metabólico, parece oportuno el uso de esta herramienta para caracterizar cambios tempranos que indiquen el inicio del mecanismo de daño. Asimismo, contemplamos otra ruta fisiopatogénica posible y de forma simultánea, caracterizamos el estado inflamatorio sistémico en estos mismos niños.

El estudio realizado para esta tesis aprovechó la existencia de un proyecto en curso de la Facultad de Medicina de la U.N.A.M., que tuvo por objetivo la implementación de una rutina de activación física en escolares del Estado de México y evaluó sus efectos en indicadores de salud (medidas antropométricas, presión arterial y química sanguínea) y de capacidad ejecutiva (atención, memoria de trabajo y control de inhibición de respuestas). Dicha intervención se realizó en aproximadamente 60 escuelas públicas del Estado de México, para un total de 20,000 escolares. Para la evaluación de dicha intervención se seleccionó a cinco escuelas para formar una cohorte de 1,439 niños de ambos géneros, a los cuales se les tomaron datos generales, antropométricos y de química sanguínea. Es a partir de esta cohorte de niños participantes que se derivó el presente estudio, seleccionando una submuestra representativa de la población. Para lograr lo anterior, proponemos un primer acceso a la caracterización del problema, para lo que se utilizó un modelo de estudio conformado por cuatro estratos de niños en edad escolar que fueron clasificados de acuerdo al indicador IMC ajustado para la edad (IMC/E). Este modelo propone la representación de la ganancia de grasa progresiva en el escolar y con ello, el desarrollo progresivo de los mecanismos fisiopatológicos. El modelo de estudio ideal sería el seguimiento de una cohorte de niños desde su ingreso al primero año hasta el quinto año de primaria, la dificultad inherente al seguimiento de esta naturaleza, hace muy poco probable y práctica su consecución. Esta reconstrucción con cuatro estratos transversales fueron evaluados y comparados para riesgo cardiometabólico y analizados con las técnicas mencionadas arriba. Este diseño es de naturaleza transversal con los cuatro estratos mencionados, sin embargo, estamos conceptualizando que la representación de la composición de grasa corporal corresponde a la evolución natural del incremento de grasa corporal en estos escolares a lo largo del tiempo. Por esta razón, se reúnen las condiciones sugeridas por Steven McIntosh para denominar a este diseño pseudocohorte (McIntosh, 2005). En estos niños se evaluó la existencia de diferentes fenotipos funcionales a partir de dos enfoques: los cambios metabólicos y la evidencia de inducción de

respuesta proinflamatoria sistémica. Analizamos las asociaciones del indicador IMC/E con los distintos marcadores bioquímicos, perfiles metabólicos (acilcarnitinas y aminoácidos) y mediadores proinflamatorios (citocinas).

En primera instancia se evaluó la representatividad de la cohorte de 1,439 niños con respecto a la prevalencia nacional de sobrepeso y obesidad, con el reporte de la ENSANUT 2012 y se encontró una prevalencia conjunta de sobrepeso y obesidad muy similar entre la cohorte de niños estudiados (31.9%) y la prevalencia nacional (34.4%). Posteriormente a partir de la cohorte de 1,439 niños y con la finalidad de obtener una muestra representativa se realizó el cálculo del tamaño de muestra con base en los objetivos de este estudio y se compararon los parámetros clínicos y bioquímicos de la submuestra.

Con objeto de validar el modelo de estudio, se evaluó la asociación de los indicadores de adiposidad de la cohorte, índice cintura talla y circunferencia de cintura, con el aumento de grasa corporal (IMC/E) y se encontraron asociaciones positivas, es decir conforme aumento el porcentaje de grasa corporal, se incrementó la obesidad abdominal y el riesgo cardiovascular.

Con respecto a los marcadores bioquímicos analizados en la pseudocohorte de los 169 niños previamente estratificados, se encontró que conforme aumentó la grasa corporal, incrementaron las concentraciones séricas de glucosa, triacilgliceroles (TAG), colesterol total (CT) y lipoproteínas de baja densidad (C-LDL). Asimismo encontramos correlación positiva de estos marcadores bioquímicos con el IMC/E, destacando los TAG, que mostraron mayor asociación con respecto al incremento de grasa corporal. Estos hallazgos validan también la estructura del modelo de estudio propuesto.

Al comparar el incremento relativo en la concentración sérica de glucosa y TAG de los grupos de niños con sobrepeso, obesidad y obesidad grave con respecto al grupo de niños con peso normal (tabla 14), se encontró que la concentración de TAG incrementó 3.6 veces más en porcentaje con respecto a la glucosa en el grupo de niños con sobrepeso, 7 veces más en porcentaje en el grupo con obesidad y casi 5 veces más en porcentaje en el grupo con obesidad grave, por tanto es claro que el incremento en la concentración de TAG circulantes es el cambio más relevante en los grupos con obesidad.

Tabla 14. Porcentaje de incremento en la concentración glucosa y triacilgliceroles correspondiente al aumento de grasa corporal

	Porcentaje de incremento en la concentración glucosa y triacilgliceroles correspondiente al aumento de grasa corporal			
Metabolito	Normopeso	Sobrepeso	Obesidad	Obesidad grave
Glucosa	[94 mg/dl]	3.2% [97 mg/dl]	5.3% [99 mg/dl]	5.3% [99 mg/dl]
Triacilglicerol	[93 mg/dl]	11.8% [104 mg/dl]	37.6% [128 mg/dl]	25.8% [117 mg/dl]

Las concentraciones de glucosa y TAG se encuentran aumentadas, pero dentro de los límites fisiológicos de referencia, lo que pone en evidencia que el metabolismo se ajusta hacia las variaciones y defectos metabólicos que conocemos en la obesidad. Por lo tanto, solo es cuestión de tiempo para que la plasticidad metabólica se rompa y aparezcan las consecuencias que conocemos como comorbilidades de la obesidad. Evidentemente el problema es de naturaleza metabólica, por tanto los resultados encontrados en este estudio concuerdan con lo ya descrito en un gran número de estudios relacionados con obesidad en niños (Crocker Melissa K., 2009; Leoni et al., 2010; Manios et al., 2008).

La obesidad como un problema de origen metabólico, se caracteriza por aumento de los ácidos grasos circulantes, como consecuencia de la mayor masa adiposa, que contribuye a un cambio en la utilización sistémica de sustratos, siendo más dependientes los tejidos a la oxidación de ácidos grasos, por simple ley de acción de masas, para la obtención de energía. Todo esto sucede dentro de límites fisiológicos hasta que los sistemas homeostáticos se ven rebasados por la carga de metabolitos y se inician los mecanismos fisiopatológicos. Como consecuencia de la mayor disponibilidad de ácidos grasos circulantes, aumenta el flujo de estos al interior de las células donde son activados a acil-CoA y transportados mediante la lanzadera de carnitina a la mitocondria para su β -oxidación, saturando la capacidad oxidativa mitocondrial y ocasionando el aumento en la concentración sérica de acilcarnitinas circulantes (Montgomery & Turner, 2014). Nuestros hallazgos concuerdan con lo previamente descrito ya que encontramos concentraciones séricas incrementadas de acilcarnitinas de cadena larga en los grupos con obesidad, lo cual podría ser parte de los ajustes metabólicos de la célula al incremento de disponibilidad de ácidos grasos intracelulares.

Una evidencia más de que los ácidos grasos están saturando el metabolismo oxidativo son las concentraciones crecientes de glucosa circulante, conforme se incrementa la masa adiposa y se incrementa la concentración de los TAG circulantes. Esto es consecuencia del balance energético positivo que ocasiona una modulación negativa en los principales puntos de control de la glucólisis y de la deshidrogenación de piruvato mediada por la concentración de ATP (cubierta por la β -oxidación), suprimiendo los pasos clave del metabolismo de la glucosa. Por

ejemplo, si el ciclo de Krebs se está regulando a la baja, los productos intermediarios de los primeros procesos enzimáticos modulan mediante control alostérico de la siguiente forma:

Cuando hay aumento en las concentraciones mitocondriales de acetil-CoA y ATP, el citrato aumenta sus concentraciones en el citoplasma inhibiendo a la fosfofructocinasa 1, reduciendo el flujo de carbono a la glucólisis. Asimismo el aumento de citrato, activa a la acetil CoA carboxilasa induciendo la síntesis de ácidos grasos, sugerimos que dicho proceso está potencializado por acción de la insulina en los grupos con obesidad; sin embargo no medimos la concentración de dicha hormona lo cual reconocemos que es una gran limitante en este estudio.

Asimismo la piruvato cinasa, otra enzima reguladora de la glucólisis, es inhibida por el aumento en la concentración de los ácidos grasos de cadena larga, acetil-CoA y ATP, siendo dichos sustratos indicadores de balance energético positivo. Entonces los productos de la glucólisis se acumularán, dando como resultado final el incremento intracelular de glucosa-6-fosfato, que ocasiona la inhibición de la hexocinasa, la cual controla la entrada de glucosa a la célula mediante su fosforilación y se inhibe como consecuencia de la saturación en los mecanismos de control. El incremento de glucosa 6-fosfato resultará en activación de la glucosa-6 fosfatasa, ocasionando la salida de la glucosa y su incremento en circulación. Dicho mecanismo pone en evidencia otro intento de la célula por mantener el equilibrio homeostático celular.

Para tratar de comprender mejor los ajustes propios de la plasticidad metabólica que mantiene dentro de los límites fisiológicos de referencia a los niños con obesidad analizamos su perfil metabólico, el cual incluyó a las acilcarnitinas y los aminoácidos.

Las acilcarnitinas representan el metabolismo intracelular de los ácidos grasos, ya que provienen de la traslocación de acil-CoA de cadena larga a la mitocondria dependiente de la lanzadera de carnitina. En este estudio encontramos concentraciones aumentadas de AC de cadena larga y de cadena media, específicamente las AC16, AC14 y AC6 en los grupos de niños con obesidad y obesidad grave. Nuestros hallazgos sugieren que el flujo incrementado de ácidos grasos intracelulares ocasiona la saturación de la capacidad oxidativa mitocondrial, lo cual tiene por consecuencia el aumento en la concentración sérica de acilcarnitinas circulantes. Dicho efecto es resultado del desequilibrio en el balance energético positivo que ocasiona una modulación negativa en los principales puntos de control del ciclo de TCA mediada por la concentración de ATP incrementada, resultando la acumulación intracelular de intermediarios metabólicos como las acilcarnitinas que salen a la circulación. Dicho mecanismo concuerda con nuestro hallazgo en la concentración aumentada de carnitina libre (C0), correspondiente con el incremento gradual de grasa corporal en los niños estudiados. En este sentido, sugerimos que existe un transporte incrementado de acil-CoAs al interior de la mitocondria, y recambio de AC a la circulación, siendo la carnitina un metabolito indispensable para la traslocación de acil-CoA de cadena larga en la mitocondria. Existen reportes recientes acerca de que el transportador CACT y la enzima CPT2 podrían catalizar reacciones reversibles transportando AC hacia afuera de la matriz mitocondrial y reconvirtiendo las acilCoAs de cadena media y larga en AC, ambos mecanismos dependen de la concentración de las ACs en la mitocondria (Violante et al., 2010, 2013). Estas AC son finalmente exportadas al espacio extracelular por los transportadores OCTN2 y el transportador mono carboxilato 9 (SLC16A9)

dependiendo aparentemente de sus concentraciones intracelulares (Schooneman, Vaz, et al., 2013). Nuestros hallazgos concuerdan con el estudio realizado por Wahl S. y cols., en el cual encontraron concentraciones elevadas de AC de cadena media y de cadena larga, AC12 y AC16 específicamente, en el grupo de niños con obesidad (Wahl et al., 2012).

La respuesta metabólica a la obesidad, es influenciada por la etapa de desarrollo en la cual se encuentra el individuo, lo cual es evidente en el estudio Mihalik y cols., en el cual compararon el perfil de acilcarnitinas en tres grupos de adolescentes (13 años) clasificados por normopeso, obesidad y DM2 sin encontrar cambios significativos en las concentraciones de AC de cadena larga (AC14 a AC18) pero encontraron concentraciones disminuidas de carnitina libre, AC de cadena media y corta en el grupo de adolescentes con DM2 y con una tendencia a disminuir en el grupo con obesidad; sugiriendo que los adolescentes podrían presentar otros mecanismos de adaptación metabólica como mayor número de células adiposas resultando un incremento en la capacidad oxidativa mitocondrial que permite compensar el incremento de ácidos grasos circulantes. Estos autores sugieren que sus hallazgos se deben a la plasticidad metabólica presente en etapas tempranas del desarrollo de la obesidad por la etapa de crecimiento en la que se encuentran (Mihalik et al., 2012). Por tanto proponemos que nuestro estudio podría evidenciar los ajustes metabólicos compensatorios al incremento exacerbado en el tamaño de los adipocitos (hipertrofia) producto del balance energético positivo, la plasticidad metabólica y el intento del organismo por mantener el equilibrio homeostático.

Otra consecuencia de la saturación en la capacidad oxidativa de la mitocondria se manifiesta con incremento de aminoácidos circulantes y la de sus productos intermediarios catabólicos como las acilcarnitinas de cadena corta (AC3, AC4 y AC5) que son productos de la oxidación de los aminoácidos de cadena ramificada (BCAA, por sus siglas en inglés). En nuestro estudio encontramos concentraciones séricas incrementadas de acilcarnitinas de cadena corta en los grupos con obesidad, lo cual concuerda con las concentraciones elevadas de Val, Tyr, Leu y Arg en los mismos grupos. Asimismo se encontró asociación positiva entre las concentraciones aumentadas de los aminoácidos Val y Leu con la ganancia de grasa corporal; también se encontró asociación positiva entre los aminoácidos Val, Tyr y Arg con los marcadores bioquímicos (glucosa y perfil de lípidos), destacando los TAG con mayor fuerza de asociación. Con base en nuestros hallazgos sugerimos que la saturación del ciclo de los TCA, ocasiona que los productos intermediarios catabólicos de los BCAA no puedan entrar al ciclo para ser metabolizados como sustrato energético (glucosa o cuerpos cetónicos), siendo los α -cetoácidos reconvertidos a BCAA por la enzima aminotransferasa de aminoácidos de cadena ramificada (BCAT, siendo su reacción reversible) y la inhibición de la enzima deshidrogenasa de α -cetoácidos ramificados (BCKD) mediada por la modulación negativa de sus productos acil CoA de cadena ramificada y el aumento en la concentración de NADH; ambos efectos ocasionan que la concentración intracelular de los BCAA y las AC de cadena corta aumenten y finalmente dichos metabolitos sean exportados al medio extracelular como mecanismo de regulación homeostática. Otro punto a destacar es que los BCAA no son metabolizados eficientemente en hígado y la mayor capacidad para catabolizar los BCAA en humanos reside principalmente en el músculo esquelético y tejido adiposo; por tanto, si la capacidad oxidativa mitocondrial se encuentra saturada en dichos tejidos, esto podría explicar por que incrementa particularmente la concentración circulante de los BCAA (Brosnan JT., 2006; Harris et al., 2005).

El aumento en la concentración de los BCAA se asoció positivamente con el IMC pero por el contrario se asoció negativamente con la sensibilidad a la insulina; resultados similares a los nuestros se encontraron en el estudio de McCormack y cols., en el cual concluyeron que el incremento en la concentración de BCAA circulantes se asocia con la obesidad en niños y adolescentes; por tanto podría ser un predictor independiente de la RI (McCormack et al., 2013). Sin embargo, existen varias hipótesis entono a la RI y su asociación con el metabolismo de los BCAA; alteraciones en el metabolismo de los BCAA podrían ocasionar la acumulación de intermediarios potencialmente tóxicos que afectan la función celular; es decir, la acumulación de α -cetoácidos ramificados podrían producir disfunción mitocondrial en la células β - pancreáticas, ocasionando apoptosis en la célula y finalmente DM2. Asimismo se ha reportado la disminución de la expresión de la deshidrogenasa de α -cetoácidos ramificados mitocondrial (BCKD) en el TAB y alteraciones en la utilización de los BCAA por parte del tejido adiposo visceral de personas con obesidad (Wurtz et al., 2012), lo cual sugiere que este último contribuye principalmente a alteraciones en el catabolismo de los BCAA, por tanto incrementan las concentraciones plasmáticas de BCAA en individuos con obesidad y RI (Lackey et al., 2013; Lynch & Adams, 2014).

Por otra parte algunos estudios mencionan que en condiciones de obesidad la constante activación de la vía mTORC1 como consecuencia del aumento en las concentraciones plasmáticas de los BCAA se ha asociado con RI, debido a que el aumento en la concentración de Leu en conjunto con insulina activan al vía mTORC1 y S6K produciendo la fosforilación en Ser de IRS1 e IRS2, la cual altera la señalización de la hormona favoreciendo posiblemente la activación de la vía de proteólisis; como resultado incrementa la aparición de los BCAA en sangre debido a la proteólisis (Lackey et al., 2013). Por el contrario en el estudio de Mihalik y cols., realizado en adolescentes encontraron concentraciones bajas de los BCAA, Phe, Met, Ala, Gly, Cit y Arg en el grupo con DM2 y con tendencia a disminuir en el grupo con obesidad; este grupo mencionó que la concentración baja de aminoácidos podría reflejar incremento en el anabolismo propio de la adolescencia, estando la proteólisis y la oxidación de proteínas disminuidas en la pubertad o adolescencia en comparación con los niños en edad escolar, reafirmando otra vez la hipótesis que la etapa de desarrollo influye en la respuesta metabólica al daño inducido por la obesidad, remarcando la importancia de comprender los cambios fenotípicos que se dan durante el desarrollo de la obesidad en niños (Mihalik et al., 2012).

Otro hallazgo relevante en este estudio fue la concentración plasmática elevada de la Arg en los grupos con obesidad, siendo la concentración de dicho aminoácido lo que determina la vía metabólica que induce y su producto final. La degradación de Arg produce óxido nítrico (ON), ornitina, urea, poliaminas, prolina, glutamato, creatinina y agmatina (Luiking, Ten Have, Wolfe, & Deutz, 2012). Estas vías de degradación son iniciadas por las enzimas arginasa o las óxido nítrico sintasas (ONS). De las ONS se han descrito tres isoformas: la ONS1 que se expresa principalmente en células neuronales, la ONS 2 se expresa principalmente en células del sistema inmune y la ONS3 que se identificó en células endoteliales, ésta última genera ON en los vasos sanguíneos y participa principalmente en la regulación de la función vascular. Las ONS1 y ONS3 son enzimas constitutivas; la ONS 2 es inducible (ONS_i) ya que se expresa abundantemente en respuesta a la inmunidad del huésped participando en actividades antimicrobianas, antitumorales y procesos inflamatorios (Guoyao, 2009; Luiking et al., 2012)

La arginasa1 se expresa principalmente en los hepatocitos y la arginasa 2 se expresa principalmente en la mitocondria de tejidos extra hepáticos (células musculares, neuronales, renales y vasculares), estas enzimas catalizan la conversión de Arg en Orn y urea (Guoyao,

2009; Luiking et al., 2012). El aumento en la concentración de Arg activa a la enzima N-acetilglutamato sintetasa que produce N-acetilglutamato (NAG), la cual es una molécula que se sintetiza a partir de glutamato, acetil CoA y arginina. El NAG es un modulador alostérico positivo de la enzima carbamoilfosfato sintetasa 1 (CPS1), la cual es una de las primeras enzimas que participan en la síntesis de urea. (Jobgen, Fried, Fu, Meininger, & Wu, 2006)

Las enzimas arginasa y las ONS compiten por la ARG como sustrato, por tanto cambios en la actividad enzimática determinan el producto final de dicho aminoácido (Guoyao, 2009). A pesar que la afinidad de las enzimas ONS por Arg es casi 1000 veces mayor que la afinidad a las arginasas, éstas compiten efectivamente con las ONS por el sustrato y limitan la producción de ON. La arginasa puede inhibir la expresión de ONS a nivel de su traducción y por consecuencia disminuir la producción de ON. Sin embargo, la actividad de la arginasa no es suficiente para inhibir la síntesis de óxido nítrico, ya que la N^w-hidroxi-L-arginina (NOHA) que es producida por las ONS, es un intermediario de la síntesis de ON y un potencial inhibidor de las arginasas.

Además existe evidencia que la Arg estimula la lipólisis en los adipocitos y promueve la oxidación de ácidos grasos de cadena larga en tejidos sensibles a insulina, regulando diferencialmente la expresión de genes del metabolismo de lípidos en el músculo esquelético y el tejido adiposo. En el músculo esquelético se ha descrito que la Arg favorece la lipogénesis incrementando la actividad de la lipoproteinlipasa e induciendo la expresión del RNA mensajero de la sintasa de ácidos grasos (FAS, por sus siglas en inglés) y la lipasa sensible a hormonas (LSH); ocasionando el incremento de grasa intramuscular. Por otra parte en el tejido adiposo se ha descrito que la Arg induce la lipólisis disminuyendo la expresión de genes lipogénicos como la lipoproteinlipasa, la acetil-CoA carboxilasa, pero incrementa la expresión de la LSH (Tan, 2012).

La evidencia demuestra que la Arg y el ON participan en la fisiopatología de la obesidad; sin embargo, en población infantil eso aún está poco demostrado. En este estudio encontramos que el aumento en la concentración de arginina se asocia positiva y significativamente con el aumento en los depósitos de masa grasa, ya que se encontró una correlación positiva de la concentración de Arg con el IMC/E ($r = 0.239 / p = 0.002$), la concentración de los TAG ($r = 0.172 / p = 0.025$) y el c-LDL ($r = 0.120 / p = 0.006$). Por tanto sugerimos que el aumento en la concentración de Arg podría ser consecuencia de la saturación de las ONS por el aumento en la concentración de su sustrato, limitando la producción de ON. Por el contrario, la concentración incrementada de arginina asociada al aumento en la concentración AGL podría inducir la actividad de la arginasa y la síntesis de urea (Jobgen et al., 2006).

Con base en estos hallazgos sugerimos que la concentración incrementada de Arg ocasiona la reducción en la biodisponibilidad de ON, lo cual podría tener repercusiones en la función endotelial. Dicha hipótesis podría ser apoyada ya que clínicamente existe un incremento significativo de presión arterial en los grupos de niños con obesidad, en la PAS ($p = 0.033$) y la PAD ($p = 0.045$).

Tabla 15. La presión arterial por grupo de estudio

	IMC/E clasificación por OMS							
	NORMAL		SOBREPESO		OBESIDAD		OBESIDAD EXTREMA	
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	Media	DE
Systolic BP	104	± 13	108	± 12	107	± 11	112*	± 16
Diastolic BP	61	± 11	65	± 12	66*	± 10	65	± 10

*se muestran diferencias significativas al comparar con el grupo de peso normal ($p < 0.05$)

También existe evidencia que demuestra que la acumulación de lípidos en el músculo esquelético altera la síntesis de proteínas durante el desarrollo de la obesidad (Guillet et al., 2012; Masgrau et al., 2012). La Arg induce a la lipogénesis en el músculo esquelético contribuyendo a la acumulación de lípidos intramusculares durante el desarrollo de la obesidad (Tan, 2012), lo cual tiene por consecuencia alteraciones en la regulación del metabolismo de las proteínas y el recambio proteico.

Resultados similares a los nuestros se encontraron en el estudio de Gruber y cols., ya que la concentración de Arg se encontró aumentada en adolescentes con obesidad, asimismo la Arg tuvo una correlación positiva con el aumento de peso corporal, ellos concluyen que el ON y la arginina ya están involucrados en la obesidad juvenil y que puede contribuir a la aterogénesis a través de reducción de la biodisponibilidad de NO (Gruber et al., 2008).

Por tanto sugerimos que la Arg podría ser marcador predictivo clave en las etapas tempranas del desarrollo de la obesidad infantil.

Entonces con respecto al perfil metabólico podemos concluir que los cambios tempranos durante el desarrollo de la obesidad infantil se basan en los mecanismos de regulación homeostática por parte de los tejidos en respuesta al incremento en los depósitos de masa grasa. Nosotros proponemos que un mecanismo de ajuste metabólico es exportar metabolitos, que podrían ser tóxicos a nivel intracelular, ocasionando su incremento en circulación. Asimismo el incremento exacerbado en la circulación de metabolitos como glucosa, ácidos grasos, aminoácidos y sus intermediarios metabólicos, podrían funcionar como moléculas de señalización inductoras de daño metabólico.

Por tanto este estudio permite un primer acercamiento a los ajustes metabólicos iniciales que marcan claramente el desarrollo gradual en la fisiopatología de la obesidad en niños comenzando a partir del cambio en la utilización de glucosa, incremento en la oxidación de ácidos grasos y en etapas más tardías movilización y utilización de aminoácidos específicos. Cabe recordar que los parámetros clínicos y bioquímicos de la población de estudio aún se encuentran en los límites fisiológicos normales, por lo que este estudio permitió explorar los cambios fisiológicos iniciales de la obesidad, sin establecerse aún el daño metabólico.

Por otra parte en referencia al perfil inflamatorio, el comportamiento general de la mayoría de las citocinas proinflamatorias mostró una tendencia a disminuir sus concentraciones conforme incrementó el porcentaje de grasa corporal, siendo IL1 β e 1Lra las que presentaron significancia estadística con este mismo patrón de comportamiento en el grupo con obesidad

en comparación con los normopeso. Sin embargo, en los grupos de niños con obesidad grave se encontró una tendencia en el incremento en las concentraciones de estas citocinas.

En el grupo de niños con obesidad la concentración de la quimiocina MIP-1 β aumento significativamente en comparación con el grupo con de niños con normopeso, siendo dicha quimiocina inductora de la quimiotaxis de células T y macrófagos del perfil inflamatorio.

Resultados similares con respecto al comportamiento de la citocinas proinflamatorias se encontraron en el estudio de Zabaleta y cols., en el cual, evaluaron la asociación entre citocinas proinflamatorias y la obesidad relacionada con marcadores metabólicos en niños entre 7 y 9 años de edad, ellos encontraron asociaciones inversas en el IMC y la concentración de lípidos intramiocelulares con la concentración de TNF- α e IL-8; este grupo concluyó que la relación entre los marcadores proinflamatorios y metabólicos comúnmente observada en los adultos es opuesta en los niños previo a la etapa de la pubertad, por tanto proponen determinar mediante estudios prospectivos cómo estas interacciones modifican el riesgo de desarrollar enfermedad crónica en etapas más tardías (Zabaleta J., Velasco Gonzalez C., Estadad J., Pelligrino N., Mohler MC., 2014).

Los estudios en niños escolares con obesidad y la concentración de las citocinas son muy controversiales ya que en general presentan resultados contradictorios; en el estudio de Valle JM y cols. , se evaluó la relación entre la disfunción endotelial (DE), la RI e inflamación en niños escolares con obesidad y niños con normopeso entre 6 y 9 años. En el grupo con obesidad encontraron tendencias en las concentraciones elevadas de IL6, ICAM, PCR y PAI-1, por tanto este grupo concluyó que los niños con obesidad muestran alteraciones indicativas de DE, RI e inflamación.(Valle et al., 2005)

Warnberg J y cols., estudiaron la asociación entre el sobrepeso y la inflamación en adolescentes, encontraron concentraciones elevadas de PCR, IL-6 y TNFa en el grupo de adolescentes con sobrepeso y obesidad, siendo significativo el aumento únicamente en las concentraciones de PCR y concluyeron que la obesidad podría inducir un estado de inflamación.(Wärnberg et al., 2004)

En un estudio publicado por nuestro grupo se evaluaron las diferencias en marcadores de inflamación y riesgo cardiovascular en escolares con y sin adiposidad excesiva, así como la asociación entre la inflamación y los factores de riesgo cardiovascular, se encontró que el grupo de niños con obesidad presentó concentraciones significativamente elevadas de PCR e IL-1 β . Asimismo las concentraciones de PCR e IL-1 β se correlacionaron con los tres indicadores de adiposidad. Las concentraciones de IL-6 se asociaron con las concentraciones de TAG y las de IL-1 β con C-HDL, ajustado por IMC. En este grupo de escolares mexicanos, la obesidad aumentó el riesgo cardiovascular y algunos marcadores de inflamación; sin embargo, se concluyó que se requieren más estudios que exploren el papel de la inflamación subclínica en el desarrollo de alteraciones cardiovasculares(Balas-nakash et al., 2013).

Con respecto al perfil proinflamatorio concluimos que en niños de edad escolar la ganancia de masa grasa induce de forma tardía la respuesta inflamatoria. Con base en nuestros hallazgos proponemos que es en la obesidad grave donde en los niños de edad escolar el perfil metabólico y el perfil inflamatorio se sinergizan para la producción de daño.

La variación encontrada en los resultados analizados correspondiente a los cambios metabólicos e inflamatorios asociados con el aumento de masa grasa en niños de edad escolar, es dependiente de la variabilidad biológica, la exposición al ambiente al cual se somete cada individuo desde la concepción y el tiempo de exposición del niño a la obesidad; siendo dichas variables limitantes en este estudio por su diseño y la gran dificultad en la medición de estas.

Conclusiones

- ❖ Los cambios metabólicos tempranos asociados al desarrollo de la obesidad en niños se basan en mecanismos de regulación homeostática por parte de los tejidos como respuesta al incremento de la masa grasa. En el perfil metabólico los primeros ajustes comienzan con el cambio en la utilización de sustratos por parte de los tejidos para la obtención de energía, como ha sido demostrado en la literatura.
- ❖ Conforme aumentó el depósito de grasa corporal en escolares, fue posible encontrar alteraciones metabólicas progresivas y significativas incluyendo mayores concentraciones circulantes de glucosa, TAG, AC y AA posiblemente como producto de la saturación en la capacidad oxidativa mitocondrial. Por tanto proponemos que un mecanismo de ajuste metabólico clave por parte de las células es exportar metabolitos a la circulación.
- ❖ El diseño de estudio permitió el monitoreo del incremento en la concentración plasmática de metabolitos circulantes a través de la caracterización en la secuencia temporal de la ganancia de masa grasa en niños sin una patología clínicamente establecida, lo cual nos permitió identificar posibles marcadores predictivos inductores de daño metabólico en etapas tempranas del desarrollo de la obesidad infantil.
- ❖ La obesidad en niños de edad escolar se manifiesta con inducción tardía de la respuesta inflamatoria, lo que significa que las alteraciones metabólicas anteceden al daño inflamatorio. Proponemos que es en la obesidad grave donde en los niños de edad escolar, el perfil metabólico y el perfil inflamatorio se sinergizan para la producción de daño.

Literatura citada

- Aguer, C., McCoin, C. S., Knotts, T. a, Thrush, a B., Ono-moore, K., McPherson, R.,Harper, M. (2015). Acylcarnitines : potential implications for skeletal muscle insulin resistance. *The FASEB Journal*. doi:10.1096/fj.14-255901
- Ahima, R. S. (2011). *Metabolic basis of obesity*. (R. S. Ahima, Ed.)*Metabolic Basis of Obesity*. doi:10.1007/978-1-4419-1607-5
- American heart Association. (2005). *Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimental animals. Hypertension*.
- Arner, P., Bernard, S., Salehpour, M., Possnert, G., Liebl, J., Steier, P., ... Spalding, K. L. (2011). Dynamics of human adipose lipid turnover in health and metabolic disease. *Nature*, 478(7367), 110–113. doi:10.1038/nature10426
- Balas-nakash, M., Perichart-Perera, O., Tolentino-dolores, M., & Mier-cabrera, J. (2013). Asociación entre adiposidad , inflamación y factores de riesgo cardiovascular en un grupo de escolares mexicanos. *Gaceta Médica de México*, 149, 196–203.
- Brambilla, P., Bedogni, G., Moreno, L. a, Goran, M. I., Gutin, B., Fox, K. R., ... Pietrobelli, a. (2006). Crossvalidation of anthropometry against magnetic resonance imaging for the assessment of visceral and subcutaneous adipose tissue in children. *International Journal of Obesity (2005)*, 30(September 2005), 23–30. doi:10.1038/sj.ijo.0803163
- Bremer, J. O. N. (1983). Carnitine Metabolism and functions. *Physiologycal Reviews*, 63(4).
- Brosnan JT., B. M. (2006). Branched-chain amino acids: metabolism, physiological function, and application. *The Journal of Nutrition*, 207s–211s. Retrieved from <http://www.metsol.com/assets/sites/3/Branched-chain-amino-acids-as-fuels.pdf>
- Calder, P. C., Ahluwalia, N., Albers, R., Bosco, N., Bourdet-Sicard, R., Haller, D., Zhao, J. (2013). A consideration of biomarkers to be used for evaluation of inflammation in human nutritional studies. *The British Journal of Nutrition*, 109 Suppl , S1–34. doi:10.1017/S0007114512005119
- Campbell., P. (2000). insight Obesity. *Nature Reviews*, 404(April), 2000. Retrieved from www.nature.com
- Chow, L., From, A., & Seaquist, E. (2010). Skeletal muscle insulin resistance: the interplay of local lipid excess and mitochondrial dysfunction. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 59(1), 70–85. doi:10.1016/j.metabol.2009.07.009
- Crocker Melissa K., Y. J. A. (2009). Pediatric Obesity: Etiology and treatment. *Endocrinology and Metabolism Clinics in North America*, 38(3), 525–548. doi:10.1016/j.ecl.2009.06.007.Pediatric
- De Onis, M., Garza, C., Onyango, A. W., & Borghi, E. (2007). Comparison of the WHO child growth standards and the CDC 2000 growth charts. *The Journal of Nutrition*, 137(1), 144–148. doi:137/1/144 [pii]
- Drife, J. O. (1999). New England journal. *BMJ : British Medical Journal*, 318, 1565. doi:10.1056/NEJMoa1005372

- Du, F., Virtue, A., Wang, H., & Yang, X.-F. (2013). Metabolomic analyses for atherosclerosis, diabetes, and obesity. *Biomarker Research*, 1(1), 17. doi:10.1186/2050-7771-1-17
- Federation, W. O. (2014). *Childhood Overweight by region*. Retrieved from obesity@worldobesity.org
- Fernández JR., Redden DT., Pietrobelli A., A. D. (2004). Waist circumference percentile in nationally representative sample of African-American, European-American and Mexican-American children and adolescent. *The Journal of Pediatrics*, 439–444.
- Friedman, J. M. (2000). Obesity in the new millennium. *Nature*, 404(April), 632–634. Retrieved from www.nature.com
- Garland, R., & Biotest, K. W. S. (n.d.). Análisis multiplex de citocinas Análisis multiplex de citocinas.
- Gibson, R. S. (2005). *Principles of Nutritional Assessment* (Second Edi.). England: Oxford University Press, Inc. Retrieved from www.oup.com
- Gruber, H.-J., Mayer, C., Mangge, H., Fauler, G., Grandits, N., & Wilders-Truschnig, M. (2008). Obesity reduces the bioavailability of nitric oxide in juveniles. *International Journal of Obesity* (2005), 32(5), 826–831. doi:10.1038/sj.ijo.0803795
- Guillet, C., Masgrau, a., Walrand, S., & Boirie, Y. (2012). Impaired protein metabolism: Interlinks between obesity, insulin resistance and inflammation. *Obesity Reviews*, 13(SUPPL.2), 51–57. doi:10.1111/j.1467-789X.2012.01037.x
- Guoyao, W. (2009). Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease. *Aminoacids*, 37(1), 153–168. doi:10.1007/s00726-008-0210-y.Arginine
- Gutiérrez, C. D. (2009). *Documento técnico para la estimación del impacto financiero en la salud de la población mexicana derivado de la obesidad y el sobrepeso*. (No. 2). México.
- Harris, R. A., Joshi, M., Jeung, N. H., & Obayashi, M. (2005). Overview of the Molecular and Biochemical Basis of. *The Journal of Nutrition*, 1527–1530.
- Hathout Yetrib. (2007). Approaches to the study of the cell secretome. *Expert Review of Proteomics*, 4, 239–248. doi:10.1586/14789450.4.2.239
- Hedricks Duggan. (2007). *Manual de Nutrición Pediátrica*. (Intersistemas, Ed.). México.
- Hotamisligil, G. S. (2006). Inflammation and metabolic disorders 1. *Nature*, 444(December), 860–867. doi:10.1038/nature05485
- Instituto Nacional de Salud Publica. (2012). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012*. México.
- Jobgen, W. S., Fried, S. K., Fu, W. J., Meininger, C. J., & Wu, G. (2006). Regulatory role for the arginine-nitric oxide pathway in metabolism of energy substrates. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 17(9), 571–588. doi:10.1016/j.jnutbio.2005.12.001
- Kelley, D. E., & Mandarino, L. J. (n.d.). Fuel Selection in Human Skeletal Muscle in Insulin, 677–683.

- Kewalramani, G., Bilan, P. J., & Klip, A. (2010). Muscle insulin resistance: assault by lipids, cytokines and local macrophages. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 13, 382–390. doi:10.1097/MCO.0b013e32833aabd9
- Kinanthropometry, I. S. for A. of. (1991). *International Standards for Athropometric Assesment*. Australia.
- Kopelman, P. G. (2000). Obesity as a medical problem. *Nature*, 404(April), 635–643. Retrieved from www.nature.com
- Lackey, D. E., Lynch, C. J., Olson, K. C., Mostaedi, R., Ali, M., Smith, W. H., Adams, S. H. (2013). Regulation of adipose branched-chain amino acid catabolism enzyme expression and cross-adipose amino acid flux in human obesity. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 304(1), E1175–87. doi:10.1152/ajpendo.00630.2012
- Lee, B. C., & Lee, J. (2014). Cellular and molecular players in adipose tissue inflammation in the development of obesity-induced insulin resistance. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1842(3), 446–462. doi:10.1016/j.bbadis.2013.05.017
- Lee, B.-C., & Lee, J. (2014a). Cellular and molecular players in adipose tissue inflammation in the development of obesity-induced insulin resistance. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1842(3), 446–62. doi:10.1016/j.bbadis.2013.05.017
- Lee, B.-C., & Lee, J. (2014b). Cellular and molecular players in adipose tissue inflammation in the development of obesity-induced insulin resistance. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1842(3), 446–62. doi:10.1016/j.bbadis.2013.05.017
- Leoni, M. C., Valsecchi, C., Mantelli, M., Marastoni, L., Tinelli, C., Marchi, A., & Castellazzi, A. (2010). Impact of child obesity on adipose tissue physiology: Assessment of adipocytokines and inflammatory cytokines as biomarkers of obesity. *Pediatric Reports*, 2(2), 62–66. doi:10.4081/pr.2010.e19
- Li, C., Ford, E. S., Mokdad, A. H., & Cook, S. (2006). Recent trends in waist circumference and waist-height ratio among US children and adolescents. *Pediatrics*, 118(5), e1390–8. doi:10.1542/peds.2006-1062
- Lohman Timothy, Roche Alex, M. R. (1991). *Anthropometric standarization reference manual*. (Human Kine.). Illinois E.U.A.
- Luiking, Y. C., Ten Have, G. a. M., Wolfe, R. R., & Deutz, N. E. P. (2012). Arginine de novo and Nitric oxide production in disease states. *AJP: Endocrinology and Metabolism*, 77843. doi:10.1152/ajpendo.00284.2012
- Lynch, C. J., & Adams, S. H. (2014). Branched-chain amino acids in metabolic signalling and insulin resistance. *Nature Reviews Endocrinology*, 10(12), 723–736. doi:10.1038/nrendo.2014.171
- Madrid A.A. (n.d.). *Laboratorio Clinico, Manual de Flebotomía*. Retrieved from www.ilustrados.com/documentos/manualflebotomia.doc

- Maffeis, C., Banzato, C., & Talamini, G. (2008). Waist-to-Height Ratio, a Useful Index to Identify High Metabolic Risk in Overweight Children. *Journal of Pediatrics*, 152. doi:10.1016/j.jpeds.2007.09.021
- Manios, Y., Kourlaba, G., Kafatos, A., Cook, T. L., Spyridaki, A., & Fragiadakis, G. a. (2008). Associations of several anthropometric indices with insulin resistance in children: The Children Study. *Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics*, 97, 494–499. doi:10.1111/j.1651-2227.2008.00729.x
- Martos-moreno, G. A., Kopchick, J. J., & Argente, J. (2013). Adipoquinas en el niño sano y con obesidad. *Anales de Pediatría (Barcelona)*, 78(3), 189.
- Masgrau, A., Mishellany-Dutour, A., Murakami, H., Beaufrère, A.-M., Walrand, S., Giraudet, C., Boirie, Y. (2012). Time-course changes of muscle protein synthesis associated with obesity-induced lipotoxicity. *The Journal of Physiology*, 590(Pt 20), 5199–210. doi:10.1113/jphysiol.2012.238576
- McArdle, M. a., Finucane, O. M., Connaughton, R. M., McMorrow, A. M., & Roche, H. M. (2013). Mechanisms of obesity-induced inflammation and insulin resistance: Insights into the emerging role of nutritional strategies. *Frontiers in Endocrinology*, 4(May), 1–23. doi:10.3389/fendo.2013.00052
- McCormack, S. E., Shaham, O., McCarthy, M. a, Deik, a a, Wang, T. J., Gerszten, R. E., Fleischman, a. (2013). Circulating branched-chain amino acid concentrations are associated with obesity and future insulin resistance in children and adolescents. *Pediatric Obesity*, 8(1), 52–61. doi:10.1111/j.2047-6310.2012.00087.x
- McIntosh, S. (2005). *Using Pseudo Cohorts to Track Changes in the Qualifications of National Populations the Qualifications of National Populations*. London. doi:ISBN 1 844784193
- Mihalik, S. J., Michaliszyn, S. F., de las Heras, J., Bacha, F., Lee, S., Chace, D. H., ... Arslanian, S. a. (2012). Metabolomic profiling of fatty acid and amino acid metabolism in youth with obesity and type 2 diabetes: evidence for enhanced mitochondrial oxidation. *Diabetes Care*, 35(3), 605–11. doi:10.2337/DC11-1577
- Montgomery, M. K., & Turner, N. (2014). Mitochondrial dysfunction and insulin resistance: an update. *Endocrine Connections*, 4, R1–R15. doi:10.1530/EC-14-0092
- Morino, K., Petersen, K. F., & Shulman, G. I. (2006). Molecular mechanisms of insulin resistance in humans and their potential links with mitochondrial dysfunction. *Diabetes*, 55(December). doi:10.2337/db06-S002
- National Institutes of Health. (2000). Weight Management Techniques. *The Practical Guide. Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults*, 26–7. Retrieved from http://www.who.int/nutrition/topics/FFA_summary_rec_conclusion.pdf
- National, Heart, lung and blood I. (2012). *Expert Panel on Integrated Guidelines for Cardiovascular Health and Risk Reduction in Children and Adolescents. NIH Publication 12-7486A*.
- Newgard, C. B. (2012). Interplay between lipids and branched-chain amino acids in development of insulin resistance. *Cell Metabolism*, 15(5), 606–614. doi:10.1016/j.cmet.2012.01.024

- Newgard, C. B., An, J., Bain, J. R., Muehlbauer, M. J., Stevens, R. D., Lien, L. F., Svetkey, L. P. (2009). A branched-chain amino acid-related metabolic signature that differentiates obese and lean humans and contributes to insulin resistance. *Cell Metabolism*, 9(4), 311–26. doi:10.1016/j.cmet.2009.02.002
- Oliveres Reyes Jesús Alberto, A. P. A. (2008). Bases moleculares de las acciones de la insulina. *Revista de Educación Bioquímica*, 27(1), 9–18. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49011452003>
- Onis, M. De, Garza, C., Onyango, A. W., Martorell, R., & World Health Organization. (2006). WHO Child Growth Standards. *International Journal of Paediatrics*, 95(450), 106. doi:10.1037/e569412006-008
- Osborn, O., & Olefsky, J. M. (2012). The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease. *Nature Medicine*, 18(3), 363–374. doi:10.1038/nm.2627
- Otto, T. C., & Lane, M. D. (2005). Adipose development: from stem cell to adipocyte. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 40(4), 229–242. doi:10.1080/10409230591008189
- Pervanidou, P., Charmandari, E., & Chrousos, G. P. (2013). Endocrine Aspects of Childhood Obesity. *Current Pediatrics Reports*, 1(2), 109–117. doi:10.1007/s40124-013-0011-y
- Rosen, E. D., & Spiegelman, B. M. (2006). Adipocytes as regulators of energy balance and glucose homeostasis. *Nature*, 444(7121), 847–53. doi:10.1038/nature05483
- Rutkowsky, J. M., Knotts, T. a, Ono-Moore, K. D., McCoin, C. S., Huang, S., Schneider, D., ... Hwang, D. H. (2014). Acylcarnitines activate proinflammatory signaling pathways. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 306(12), E1378–87. doi:10.1152/ajpendo.00656.2013
- Sarjeant, K., & Stephens, J. M. (2012). Adipogenesis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4(9), a008417. doi:10.1101/cshperspect.a008417
- Savva, S. C., Lamnisis, D., & Kafatos, A. G. (2013). Predicting cardiometabolic risk: Waist-to-height ratio or BMI. A meta-analysis. *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy*, 6, 403–419. doi:10.2147/DMSO.S34220
- Schooneman, M. G., Houten, S. M., & Soeters, M. R. (2013). Acylcarnitines Reflecting or Inflicting Insulin Resistance?, 62(January), 1–8. doi:10.2337/db12-0466
- Schooneman, M. G., Vaz, F. M., Houten, S. M., & Soeters, M. R. (2013). Acylcarnitines: Reflecting or inflicting insulin resistance? *Diabetes*, 62(January), 1–8. doi:10.2337/db12-0466
- Shengyi Sun, Yewei Ji, Sander Kersten, L. Q. (2012). Mechanisms of inflammatory responses in obese adipose tissue. *Annu Rev Nutr*, 29(168), 997–1003. doi:10.1146/annurev-nutr-071811-150623
- Singla, P., Bardoloi, A., & Parkash, A. a. (2010). Metabolic effects of obesity: A review. *World Journal of Diabetes*, 1(3), 76–88. doi:10.4239/wjcd.v1.i3.76

- Smith, L. I. (2002). A tutorial on Principal Components Analysis Introduction. *Statistics*, 51, 52. doi:10.1080/03610928808829796
- Surveza Fernández A., H. F. A. (2009). *Manual de antropometría*. (U. Iberoamericana, Ed.). México.
- Tan, B. (2012). Regulatory roles for L-arginine in reducing white adipose tissue. *Frontiers in Bioscience*, 17(7), 2237. doi:10.2741/4047
- Valle, M., Martos, R., Gascón, F., Cañete, R., Zafra, M. a, & Morales, R. (2005). Low-grade systemic inflammation, hypoadiponectinemia and a high concentration of leptin are present in very young obese children, and correlate with metabolic syndrome. *Diabetes & Metabolism*, 31(1), 55–62. doi:10.1016/S1262-3636(07)70167-2
- Varman T. Samuel, G. I. S. (2013). Integrating mechanisms for insuline resistance: common theads and missing links. *Cell*, 148(5), 852–871. doi:10.1016/j.cell.2012.02.017.Integrating
- Violante, S., Ijlst, L., Ruitter, J., Koster, J., van Lenthe, H., Duran, M., ... Ventura, F. V. (2013). Substrate specificity of human carnitine acetyltransferase: Implications for fatty acid and branched-chain amino acid metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1832(6), 773–9. doi:10.1016/j.bbadis.2013.02.012
- Violante, S., Ijlst, L., van Lenthe, H., de Almeida, I. T., Wanders, R. J., & Ventura, F. V. (2010). Carnitine palmitoyltransferase 2: New insights on the substrate specificity and implications for acylcarnitine profiling. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1802(9), 728–32. doi:10.1016/j.bbadis.2010.06.002
- Wahl, S., Yu, Z., Kleber, M., Singmann, P., Holzapfel, C., He, Y., ... Reinehr, T. (2012). Childhood obesity is associated with changes in the serum metabolite profile. *Obesity Facts*, 5(5), 660–70. doi:10.1159/000343204
- Wärnberg, J., Moreno, L. a, Mesana, M. I., & Marcos, a. (2004). Inflammatory mediators in overweight and obese Spanish adolescents. The AVENA Study. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders : Journal of the International Association for the Study of Obesity*, 28 Suppl 3, S59–S63. doi:10.1038/sj.ijo.0802809
- World Health, O. (2009). WHO AnthroPlus for personal computers manual: software for assessing growth of the world's children and adolescents. Geneva: WHO. Retrieved from <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:WHO+AnthroPlus+for+Personal+Computers+Manual+Software+for+assessing+growth+of+the+world+'s+children#0>
- Wurtz, P., Soininen, P., Kangas, a. J., Ronnema, T., Lehtimaki, T., Kahonen, M., ... Ala-Korpela, M. (2012). Branched-Chain and Aromatic Amino Acids Are Predictors of Insulin Resistance in Young Adults. *Diabetes Care*, 36(May 2012), 648–655. doi:10.2337/dc12-0895
- Yeste, D., & Carrascosa, a. (2011). [Obesity-related metabolic disorders in childhood and adolescence]. *Anales de Pediatría (Barcelona, Spain : 2003)*, 75(2), 135.e1–9. doi:10.1016/j.anpedi.2011.03.025
- Zabaleta J., Velasco Gonzalez C., Estadad J., Pelligrino N., Mohler MC., et al. (2014). Inverse correlation of serum inflammatory markers with metabolic parameters in healthy, black and white prepuberal youth. *Int J Obes*, 38(4), 563–568. doi:10.1038/ijo.2013.220.Inverse

Zhang, L., Keung, W., Samokhvalov, V., Wang, W., & Lopaschuk, G. D. (2010). Role of fatty acid uptake and fatty acid beta-oxidation in mediating insulin resistance in heart and skeletal muscle. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1801(1), 1–22. doi:10.1016/j.bbalip.2009.09.014

Zimmet, P., Alberti, G., Kaufman, F., Tajima, N., Silink, M., Wong, G., ... Caprio, S. (2007). The metabolic syndrome in children and adolescents : the IDF consensus, 52(4), 29–32.

Anexo 1

Cartas de consentimiento

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

EVALUACIÓN A LARGO PLAZO DEL EFECTO DE UN PROGRAMA DE ACTIVACIÓN FÍSICA EN ESCOLARES.

Responsable: Dr. Felipe Vadillo Ortega Teléfono 55 56232254

Toluca, Estado de México a _____
(dd /mm /aa)

Estimado niño@:

Deseamos invitarte a participar en el estudio denominado "EVALUACIÓN A LARGO PLAZO DEL EFECTO DE UN PROGRAMA DE ACTIVACIÓN FÍSICA EN ESCOLARES DEL ESTADO DE MÉXICO". Este es un programa diseñado para conocer el efecto en tu salud y en tu capacidad física de una rutina de ejercicio adaptada para niños de primaria. El ejercicio será impartido por maestros de educación física de manera diaria en los días de escuela, durante los próximos 2 ciclos escolares completos.

Para poder saber si la rutina de ejercicio está funcionando es necesario conocer tu estado de salud con un examen general. Por esta razón, solicitamos tu permiso y el de tu mamá o papá, para tomar muestras de sangre y algunas medidas de tu cuerpo (peso, estatura, circunferencia de cintura, circunferencia de cadera y presión arterial) así como hacerte algunas preguntas que nos permitirán evaluar tu desempeño escolar. Todas estas mediciones se harán tres veces, la primera en septiembre del 2012, la segunda en junio del 2013 y la última en junio del 2014. El único riesgo es que tuvieras alguna molestia a la hora de tomar la muestra de sangre. La cantidad de sangre que tomaremos en cada ocasión será de 5.0 mL, que equivale a una cucharada sopera. En algunos casos se puede poner morado el sitio de donde se toma la muestra y puede existir un poco de dolor en esa zona, pero no representa ningún peligro. El resto de los procedimientos no tienen riesgo. El día de la toma de muestra de sangre, pediremos que acudas a la escuela sin haber comido nada desde la noche previa. Nosotros te daremos un desayuno una vez tomada la muestra.

También solicitamos que tu y tus padres nos hagan saber si existe cualquier inconveniente para que realices las rutinas de actividad física que tu profesor de educación física te hará desarrollar todos los días de la semana. Queremos que tu y tus padres sepan que este programa tiene beneficios para ti, pues recibirás una rutina de ejercicio que será impartida por profesionales y que te ayudarán a mantener o mejorar tu salud. Todos los resultados de los análisis que te haremos se los haremos llegar a tus padres, así como cualquier orientación necesaria para atender cualquier problema. Te entregaremos un certificado de salud junto con los resultados. También debes saber que eres libre de retirarte del programa en el momento que así lo desees o bien porque tus padres así lo decidan. Tu o tus papás pueden solicitar información adicional acerca de los riesgos y beneficios de tu participación en este estudio en cualquier momento.

Si estás de acuerdo en participar en el programa descrito por favor firma abajo o pon tus iniciales. Tu mamá o papá también firmarán esta carta para hacernos saber que autorizan tu participación.

Nombre del niño

Firma o iniciales

Como responsable directo del Niño(a) _____, de _____ años de edad, manifiesto que se ha obtenido su asentimiento y otorgo de manera voluntaria mi permiso para que se le incluya como sujeto de estudio en este Proyecto, luego de haber conocido y comprendido en su totalidad, la información sobre dicho proyecto y sobre los riesgos y beneficios directos e indirectos de su colaboración en el estudio. Estoy claro de las siguientes condiciones: no habrá ninguna consecuencia desfavorable para ambos en caso de no aceptar la invitación. puedo retirarlo del proyecto si lo considero conveniente a sus intereses, aun cuando el investigador responsable no lo solicite, informando mis razones para tal decisión en la Carta de Revocación respectiva. no haremos ningún gasto, ni recibiremos remuneración alguna por la colaboración en el estudio. se guardará estricta confidencialidad sobre los datos obtenidos producto de la colaboración. en caso de que se presentaran efectos adversos para la salud de mi representado, recibirá la atención médica requerida y la indemnización a que legalmente tiene derecho, siempre que éstos sean producto de su colaboración en el estudio. puedo solicitar, en el transcurso del estudio, información actualizada sobre el mismo al investigador responsable, o bien llamar a la Coordinación de Investigación de la Facultad de Medicina de la UNAM, al teléfono 5623-2298.

Nombre del padre, tutor o representante legal

Firma (Teléfono)

Nombre del testigo

Firma (Teléfono)

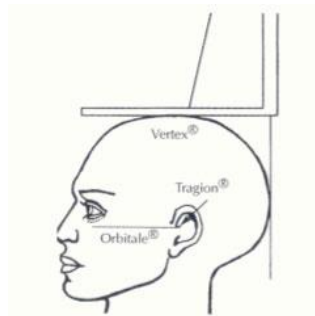
Relación del testigo con el participante.

Anexo 2

Antropometría

Peso. Para tomar esta medida es necesario que el niño quite los zapatos y su suéter o chamarra. Una vez que se haya checado que la báscula marque cero, el niño deberá pararse en el centro de la báscula sin recargarse y sin moverse, con la vista hacia el frente y las manos relajadas a los costados, distribuyendo su peso equitativamente en ambos pies. El peso exacto con dos dígitos de fracción será registrado por el profesional de la salud.

Talla. Para tomar esta medida el niño no deberá de estar utilizando gorra, broches, diademas o ningún artículo que pueda interferir con su altura y deberá quitarse los zapatos. El niño deberá pararse en una superficie plana con los talones juntos y las puntas ligeramente separadas en un ángulo de 45°, los glúteos y espalda alta deberán de estar tocando ligeramente el estadímetro. Los brazos deben estar relajados a los costados con las manos viendo hacia los muslos. La cabeza no debe de tocar el estadímetro y se debe de posicionar en el plano de Frankfort (el punto más bajo del ojo debe de estar en una línea recta horizontal con el trago, que es la eminencia cartilaginosa delante del orificio del conducto auditivo externo). Una vez que este en posición se le pedirá al niño que haga una inhalación profunda y que aguante la respiración durante unos segundos mientras se registra la talla. La medida se toma en el vertex, que es el punto más alto del cráneo aplastando el cabello lo más que se pueda sin lastimar al niño.



Circunferencia de cintura. El niño deberá levantarse la camisa hasta por debajo del pecho. El niño deberá estar parado con el abdomen relajado, las manos a los costados y los pies juntos. El evaluador se colocará en frente del niño y colocara la cinta antropométrica alrededor del niño en la parte más angosta del torso, entre el borde costal bajo (decima costilla) y la cresta iliaca. El evaluador sujetara la cinta con la mano derecha mientras que con la izquierda ajustara el nivel de la cinta en la espalda en un plano horizontal, una vez que la cinta esté bien posicionada el evaluador sujetara la cinta con ambas manos. La medida se va a tomar al final de una expiración normal, sin que la cinta apriete la piel. En algunas personas con sobrepeso, puede dificultarse la identificación de la parte más angosta del torso, en estos casos la medida será tomada en el punto medio entre el borde costal bajo (decima costilla) y la cresta iliaca.(Lohman Timothy, Roche Alex, 1991)(Kinanthropometry, 1991; Surveza Fernández A., 2009)

Circunferencia de cadera. El niño deberá usar solamente ropa interior. El niño deberá estar parado en una posición relajada, con los pies juntos y los brazos cruzados. Esta circunferencia se toma en el lugar de mayor protuberancia del glúteo. El evaluador de colocara en cuclillas viendo el costado del

niño para que pueda visualizar el lugar más protuberante del glúteo. El evaluador colocara la cinta antropométrica alrededor de la cadera sujetando la cinta con la mano derecha mientras que con la izquierda ajustara el nivel de la cinta para que esta quede en un plano horizontal. Una vez que la cinta antropométrica se encuentre bien colocada el evaluador tomara la cinta en ambas manos y sin apretar la piel se tomara la medida.

Técnica para toma de presión arterial.

Primero se le dejara descansar al niño en una silla aproximadamente 5 minutos antes de tomar la primera medición y se le pedirá que se quite su suéter y/o chamarra dejando su brazo al descubierto. El niño se sentara de manera confortable sin cruzar las piernas, con la espalda recargada al respaldo y con la mano, de preferencia la derecha, apoyada a la altura del corazón. El niño no deberá hablar mientras se le toma la presión arterial.

Se le colocará el brazaletes pediátrico en el brazo sobre el pulso braquial, aproximadamente 2 centímetros arriba del doblar del codo.

Se le colocara el estetoscopio sobre la arteria braquial, sin tocar el brazaletes, debajo del esfigmomanómetro. Se inflara el brazaletes.

Una vez inflado el brazaletes se irá soltando el aire poco a poco (de 2 a 3 mmHg por segundo) y se realizará la lectura de la tensión arterial.

Se repetirá la misma técnica para comparar las lecturas realizadas. No debe existir una diferencia mayor de 5mmHg.(American heart Association, 2005)

Técnica para toma de muestra sanguínea.

Para la toma de la muestra sanguínea se le pedirá al niño que se siente y que estire el brazo recargándolo en una superficie. La persona encargada de tomar la muestra deberá localizar una vena apropiada para la venopunción, generalmente se utilizan las venas situadas en la flexura del codo, pero en ocasiones se pueden utilizar las venas de la mano, muñeca.

Se coloca un torniquete con una cinta de látex o un cinturón Vacutainer en la parte superior del brazo y se le pedirá al niño que apriete la mano para aumentar la presión sanguínea, haciendo que las venas se dilaten y así se vean con mayor facilidad.

Se limpiara la zona de punción con un antiséptico y mediante una palpación se localizara la vena apropiada. Se introducirá la aguja con el desnivel de la aguja viendo hacia arriba en un ángulo de 45°. Una vez introducida la aguja se coloca el tubo para la muestra. Si son varias muestras se van quitando los tubos sosteniendo firmemente la aguja.

Se retira el torniquete y se le pedirá al niño que deje de apretar la mano.

Al finalizar la toma de retirará primero el tubo y posteriormente la aguja. Se pondrá una torunda con antiséptico en el punto de punción presionándola para favorecer la coagulación. Se le pedirá al niño que flexione el brazo y mantenga la zona presionada durante algunos minutos.(Madrid A.A, n.d.)

Referencias (anexos)

- Suverza-Fernandez A, Haua-Navarro K. Manual de antropometría. Universidad Iberoamericana Ciudad de México 2009. Pg 36-40, 58-59, 62-63.
- Lohman T, Roche A, Martorell R. Anthropometric standardization reference manual. Illinois, EUA: Human Kinetics books; 1991.
- International Standards for Anthropometric Assessment. International Society for the Advancement of Kinanthropometry. Australia 2001.
- Pickering TG, Hall JE, Appel LJ, Falkner BE, Graves J, et al. Recommendations for Blood pressure measurement in humans and experimental animals. AHA scientific statement. Hypertension; 2005.
- A.A. Madrid, C.S.C.; Laboratorio Clínico, Manual de Flebotomía.
Internet:www.ilustrados.com/documentos/manualflebotomia.doc