



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUATITTLAN

Frecuencia de los polimorfismos rs4731702, y rs972283 del gen KLF14 como marcador genético de Diabetes tipo 2, obesidad e insulino resistencia en pacientes que acuden al Hospital Juárez de México

T E S I S

Que Para Obtener El Título De

Bioquímica Diagnóstica

P R E S E N T A

Jessica Paola Mandujano Cerón

A S E S O R D E T E S I S

M.en C. Maria Guadalupe Ortiz Lopez

Cuautitlan Izcalli, Estado de Mexico, 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

A mis padres que toda la vida me han brindado todo el cariño del mundo, por apoyarme en todo momento y mas que nada por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad, cada uno de mis logros se los debo a ustedes entre los que se incluye este, no conozco a nadie en este mundo a quienes les deba mas amor y agradecimiento. A mis hermanos por ser mi ejemplo a seguir durante toda mi vida.

A Bruno por estar en todo momento conmigo, por apoyarme y motivarme a seguir adelante y no rendirme nunca, por todas las noches que te desvelabas conmigo para ayudarme, por siempre preocuparte y estar para mi cuando te necesitaba, gracias por estar presente no solo en esta etapa de mi vida sino en todo momento.

Al equipo del Laboratorio de Endocrinología Molecular del Hospital Juarez de México, a la Dra Guadalupe por abrirme las puertas de su laboratorio, no pude haber estado en un mejor lugar, por toda su confianza y apoyo en este proyecto y gracias por hacer de esta etapa un momento único; a la Dra Katy por toda su paciencia también le agradezco por todas las enseñanzas que me ayudaron a crecer día con día, gracias por guiarme por este complicado proceso por nunca dejar de creer en mi y darme animos siempre ; Al Maestro Joel por todo el apoyo y por toda la ayuda sin ti esto no seria posible.

A las niñas del laboratorio, a Karla, Nats y Jazmin gracias por ayudarme y acompañarme durante todo este proceso y por hacer todos los días mas divertidos sin ustedes no seria lo mismo.

A Karlita, Luz, Ale y Vale gracias por todos los momentos y por todo el apoyo que me brindaron durante la facultad por enseñarme a ser responsable y a organizarme, porque ustedes hacían que aun en los peores momentos todo fuera mejor, por todos los consejos que me han dado y por su linda amistad en todos estos años

Finalmente quiero agradecer eternamente a mi Alma Mater por todos los conocimientos que me ha dado, pero sobretodo por las personas que puso en mi camino gracias UNAM.

Por mi raza hablara el espíritu.

ÍNDICE

RESUMEN	1
1.-DIABETES: FUNDAMENTO TEORICO	3
1.1 EPIDEMIOLOGÍA	5
1.2 EL PÁNCREAS Y SUS HORMONAS	8
1.3.-CLASIFICACIÓN DE LA DIABETES	16
1.4.- OBESIDAD	24
2.-VARIACIONES EN EL GENOMA Y POLIMORFISMOS ASOCIADOS A DT2.....	29
2.1.-FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN: KLF14	30
3.- JUSTIFICACIÓN	35
4. OBJETIVOS.....	36
4.1.- OBJETIVO GENERAL.....	36
4.2 OBJETIVOS PARTICULARES	36
5. HIPÓTESIS	37
6.-MATERIALES Y MÉTODOS.....	38
6.1.-POBLACIÓN DE ESTUDIO	38
6.2.-TAMAÑO DE LA MUESTRA	38
6.3.- DATOS SOMATOMÉTRICOS	39
6.4.-PERFIL BIOQUÍMICO	40
6.5.- EXTRACCION DE DNA	40
6.6.- GENOTIPIFICACIÓN.....	40
6.7.-ANÁLISIS ESTADÍSTICO	40
7.-RESULTADOS	42
7.1.-DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO	42
7.2.-RESULTADOS SOMATOMETRICOS Y BIOQUÍMICOS	42
7.3.-RESULTADOS GENETICOS	44
7.4.-COMPARACION CON OTRAS POBLACIONES.....	45
7.5.-CORRELACIÓN ENTRE LOS PARÁMETROS BIOQUÍMICOS Y SOMATOMETRICOS CON LOS POLIMORFISMOS DEL GEN <i>KLF14</i>	46
7.6.-ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN DE LAS VARIANTES CON EL GRUPO CONTROL	53
8.-DISCUSIÓN	55
9.-CONCLUSIONES.....	60

10.-REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	61
ANEXO 1.....	71
DETERMINACIONES BIOQUIMICAS DEL EQUIPO ADVIA 2000	71
ANEXO 2.....	74
EXTRACCIÓN DE DNA	74
ANEXO 3.....	76
PREPARACION DE REACTIVOS.....	76
ANEXO 4.....	78
CONSENTIMIENTO INFORMADO	78
ANEXO 5.....	84
CUESTIONARIO DE SALUD	84
ANEXO 6.....	86
GENOTIPIFICACION	86

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Efectos de la insulina en el metabolismo de carbohidratos grasas y proteínas	13
Tabla 2.	Efecto metabólico de acuerdo a la enzima activada por el glucagón	15
Tabla 3.	Clasificación de los diferentes tipos de Diabetes	18
Tabla 4.	Clasificación de la Obesidad de acuerdo a la OMS	25
Tabla 5.	Criterios de Inclusión	40
Tabla 6.	Distribución de los grupos en el estudio	43
Tabla 7.	Datos somatometricos de la población participante del Hospital Juárez de México	44
Tabla 8.	Datos bioquímicos de la población participante del Hospital Juárez de México	44
Tabla 9.	Comparación de las frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos rs4731702 y rs972283 en KLF14	45
Tabla 10.	Comparación de las frecuencias de los polimorfismos rs4731702 y rs972283 en KLF14 entre la población mexicana y la población europea, asiática y africana	46
Tabla 11.	Asociación de frecuencias genotípicas con la concentración de adiponectina	47
Tabla 12.	Asociación de genotipos y fenotipos en sujetos con obesidad en un modelo dominante para los polimorfismos rs4731702 y rs972283 del gen KLF14	48
Tabla 13.	Asociación de genotipos y fenotipos en sujetos con resistencia a la insulina en un modelo dominante para los polimorfismos rs4731702 y rs972283 del gen KLF14	49
Tabla 14.	Asociación de genotipos y fenotipos en sujetos con resistencia a la insulina en un modelo recesivo para los polimorfismos rs4731702 y rs972283 en el gen KLF14	50
Tabla 15.	Asociación de genotipos y fenotipos en sujetos con resistencia a la insulina en un modelo aditivo para los polimorfismos rs4731702 y rs972283 en el gen KLF14	51
Tabla 16.	Asociación de genotipos y fenotipos en sujetos con Diabetes tipo 2 en un modelo recesivo para los polimorfismos rs4731702 y rs972283 en el gen KLF14	52
Tabla 17.	Asociación de genotipos y fenotipos en sujetos con Diabetes tipo 2 en un modelo aditivo para los polimorfismos rs4731702 y rs972283 en el gen KLF14	53
Tabla 18.	Análisis de correlacion de las diferentes variantes en los polimorfismos rs4731702 y rs972283 del gen KLF14 en obesidad	54
Tabla 19.	Análisis de correlacion de las diferentes variantes en los polimorfismos rs4731702 y rs972283 del gen KLF14 en resistencia a la insulina	55
Tabla 20.	Análisis de correlacion de las diferentes variantes en los polimorfismos rs4731702 y rs972283 del gen KLF14 Diabetes	56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Mapa mundial de la epidemiología de Diabetes	8
Figura 2.	Anatomía, ubicación e irrigación del páncreas	9
Figura 3.	Células endocrinas y exocrinas del páncreas	10
Figura 4.	Estructura de la Insulina	11
Figura 5.	Mecanismo de liberación de insulina dependiente de glucosa en las células β del páncreas.	12
Figura 6.	Molécula de glucagón	14
Figura 7.	Efectos celulares mediados por el receptor del glucagón	14
Figura 8.	Regulación de la glucosa en el sistema a través de las hormonas insulina y glucagón	16
Figura 9.	Fisiopatología de la Diabetes tipo 2	20
Figura 10.	Eventos celulares que interfieren en la señalización insulínica	23
Figura 12.	Proceso de la transcripción	32
Figura 13.	Localización cromosómica de KLF14	33
Figura 14.	Estructura del dedo de zinc de la proteína codificada por KLF14	34
Figura 15.	Control de la Diferenciación de adipocitos mediada por KLF	35

ABREVIATURAS

ADA: Asociación Americana de Diabetes

OMS: Organización Mundial de la Salud

FID: Federación Internacional de Diabetes

DT2: Diabetes tipo 2

R.I: Resistencia a la insulina

ENSANUT: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición

INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía

DT1: Diabetes Tipo 1

ATP: Trifosfato de Adenosina

ADP: Adenosin Difosfato

AMPc: Adenosin monofosfato cíclico

TAG: Triaciglicéridos

OCDE: Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico

IMC: Índice de Masa Corporal

ICC: Índice Cintura Cadera

KLF: Krüpel Like Factor

DNA: Ácido Desoxirribonucleico

RNA: Ácido Ribonucleico

DNMT: DNA Metiltransferasa

PGC1 α : Receptor Activado Proliferador de Peroxisomas

PEPCK: Fosfoenolpiruvato carboxiquinasa

SNP: Polimorfismo de un sólo nucleótido

HbA1c: Hemoglobina Glicosilada

HDL: Lipoproteínas de Alta Densidad

LDL: Lipoproteínas de Baja Densidad

TGO: Transaminasa Glutámico Oxaloacética

TGP: Alanina Amino Transferasa

BUN: Nitrógeno ureico

TyG: Triaciglicéridos y Glucosa

PCR-RT: Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real

HTA: Hipertensión Arterial

CENAPRECE: Centro Nacional de Programas Preventivo y Control de Enfermedades

CONAPO: Consejo Nacional de Población

GWAS: Estudios de asociación de genoma completo

RESUMEN

La Diabetes tipo dos (DT2) es una enfermedad determinada por diferentes factores de riesgo y desde hace más de dos décadas el principal objeto de estudio de la enfermedad, ha sido su componente genético.

En la actualidad los grandes avances en este campo derivados de datos procedentes de estudios de asociación del genoma completo (Genome Wide Association Studies, GWAS por sus siglas en inglés) y el descubrimiento de diferentes polimorfismos de un solo nucleótido (single nucleotide polymorphism, SNPs, por su abreviación en inglés) ya que por medio de estos hallazgos se han identificado distintos sitios en el genoma que determinan una asociación a DT2, dichos sitios corresponden a variantes genéticas cuyo efecto depende de diversos factores de riesgo o ciertas características de cada población.

Esta interacción de las variantes con factores de riesgo como por ejemplo obesidad y/o resistencia a la insulina (RI) producen un aumento o disminución en la expresión de ciertas proteínas implicadas en el metabolismo de carbohidratos y/o lípidos, mismas que son codificadas por genes que contienen estos polimorfismos.

Investigaciones recientes han asociado al gen *KLF14* que codifica para un factor de transcripción involucrado en el proceso de diferenciación de adipocitos, en la señalización lipídica y en gluconeogénesis; De acuerdo a esto se encontraron dos polimorfismos en el gen *KLF14* asociados con Obesidad, RI y DT2 en estudios realizados en poblaciones asiáticas y caucásicas

Por lo cual el objetivo fue determinar la frecuencia de los polimorfismos rs4731702 y rs972283 del gen *KLF14* como marcador genético de obesidad, RI y DT2 en pacientes que acuden al Hospital Juárez de México por medio de genotipificación con sondas Taqman a través de PCR-RT como posible método de prevención

Los resultados obtenidos mostraron diferencias significativas entre las diferentes subpoblaciones (obesidad, RI y DT2) en el IMC, glucosa, HbA1c y creatinina.

Las frecuencias reportadas para los polimorfismos rs4731702 (0.674) y rs972283 (0.628) del gen *KLF14* en población mexicana son semejantes a las reportadas en otras poblaciones del

mundo, por lo cual no hubo diferencias significativas. Así mismo se observó una correlación de los polimorfismos rs4731702 y rs972283 del gen *KLF14* con el IMC en las personas con RI por el modelo dominante. Asimismo, se encontró una asociación del polimorfismo rs972283 con RI ; por lo tanto, estos resultados sugieren que el gen *KLF14* podría servir como marcador genético para RI.

1.-DIABETES: FUNDAMENTO TEORICO

La Diabetes fue descrita muchos siglos a.C en la cultura egipcia, por el médico sacerdote Imhotep, en el que relataba como adelgazaban las personas así como su constante sed y hambre; mientras que en la India en el libro de Ayur Veda Susruta, se describía a estos enfermos, como personas obesas que comían mucho dulce y arroz, con una orina sabor a miel e identificaron, que afectaba a varios miembros de la misma familia (Turnes, 2007).

Durante mucho tiempo se hicieron análisis y teorías sobre cómo es que esta enfermedad se desarrolla en las personas y posibles causas de ésta, además de que fue asociada con diferentes órganos de nuestro cuerpo, como por ejemplo Pablo de Aegina, interpretó que *“la enfermedad era consecuencia del fallo del riñón que no era capaz de retener la orina y esto causaba la deshidratación”* (Turnes, 2007).

Mathew Dobson con base en sus trabajos anteriores, dedujo que la orina “dulce” que tenían las personas con este padecimiento, no provenían del riñón sino directamente de la sangre, ya que el cuerpo no lo asimilaba como debía.

Estas conjeturas llevaron a Claude Bernand en 1857 a establecer que el metabolismo de los carbohidratos juega un papel esencial en la Diabetes y explicó que la sacarosa que consumimos se transforma en glucosa y fructuosa por otra parte en el hígado, la primera de ellas se convierte en una molécula a la que llamo glucógeno (Awad, 2002).

En 1778 se publica en la revista London Medical Journal la autopsia realizada por Thomas Cawley a una persona diabética, en este trabajo se observo que el páncreas estaba atrofiado y con múltiples cálculos implantados en el tejido pancreático. Con estas observaciones, Paul Langerhans analizó la anatomía e histología del páncreas de un mono, observando unos islotes cuya función es diferente a las células que producen el jugo que contribuye a la digestión de alimentos (Awad, 2002). Acorde con esto, en 1889 Minkowski y Von Meringen realizaron una pancreotomía a un perro y observan, como el animal se va hinchando, manifestando sed y frecuente emisión de orina, también observaron la presencia de hiperglucemia e intensa glucosuria.

De esta forma se demostró que el páncreas era necesario para regular los niveles de glucosa y abrió el camino de las investigaciones para tratar de aislar de esa glándula mixta, el principio que pudiera servir para el tratamiento de la Diabetes (Gómez, 2014).

El momento más determinante en la historia de la Diabetes fue en 1921, cuando Frederick G. Bantín y Charles H. Best, obtuvieron un homogenado del páncreas de un mono, que inyectado en un perro con Diabetes, logró disminuir su hiperglucemia, y proponen que este contiene insulina. Estos dos investigadores ganaron el premio Nobel en medicina en 1923 (Ramírez-Domínguez, 2016).

Actualmente, gracias al desarrollo de la ingeniería genética, se consigue la síntesis de la insulina mediante técnicas biotecnológicas, utilizando las bacterias *Escherichia coli* como fábricas en miniatura para producir de forma separada las cadenas A y B de la insulina humana, introduciendo para ello los genes que las codifican en bacterias mediante un vector (pBR322). El resultado es una insulina humana barata de producir, potente y segura. Hoy en día, para el tratamiento de Diabetes existe una gran diversidad de medicamentos además de la insulina, con características farmacológicas variadas y con la finalidad de disminuir los altos niveles de glucosa en sangre.

Así, el surgimiento de nuevas terapias ayuda a mejorar la calidad de vida de los enfermos, por lo que su conocimiento brinda al médico múltiples alternativas en el manejo del paciente diabético, tanto en la atención primaria, como en la secundaria (Goeddel, Kleid, & Bolívar, 1979).

1.1 EPIDEMIOLOGÍA

De acuerdo con la Asociación Americana de Diabetes *“La Diabetes Mellitus es un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia resultante de defectos en la secreción de insulina, acción de la insulina o en ambas, la hiperglucemia crónica de la Diabetes se asocia con daño a largo plazo, disfunción y falla de varios órganos, especialmente los ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos”* (ADA, 2018).

La Diabetes se está convirtiendo rápidamente en la pandemia del siglo XXI y en un reto de salud global, esta enfermedad, discapacita afectando a las personas en su edad más productiva, o reduciendo la esperanza de vida de las personas mayores. De acuerdo a estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2015, 442 millones de adultos entre 20 a 79 años tenían Diabetes, es decir 1 de cada 11 personas, y se calcula que para 2040 esta cifra aumente a 642 millones de personas, de modo que su prevalencia a nivel mundial ha ido en aumento, ya que en 1980 esta era del 4.7% mientras que en el 2014 aumentó casi el doble, alcanzando el 8.5% (Figura 1) (WHO, 2018).

Se calcula que aproximadamente hay 442 millones de personas diabéticas en el mundo, el 12% tiene Diabetes tipo 1 (DT1), el 3% tiene otros tipos como Diabetes MODY o LADA (Beagley, Guariguata, Weil, & Motala, 2014). Y cerca del 85% tienen DT2. (FDI, 2017)

De acuerdo con la Federación Internacional de Diabetes en 2017, México se posicionó como el quinto lugar en la lista de países con un mayor número de personas con DT2. Según la Encuesta Nacional de Salud del 2016 de medio camino, hay 9.6% de personas con esta enfermedad en México previamente diagnosticadas, esto representa a casi 6.4 millones de personas que son afectadas (ENSANUT, 2016; FDI, 2017)

En México, se calcula que el 45.8% de la población con DT2 no es diagnosticada, por lo que estas personas sin diagnóstico y sin tratamiento tienen un mayor riesgo de tener complicaciones comparado con aquellas que sí reciben un tratamiento (ENSANUT, 2016). En África, en donde se ubican muchos países de bajos ingresos con extensas zonas rurales, la proporción de Diabetes no diagnosticada es del 69.2%, probablemente debido a la escasez de recursos y a la baja priorización de la detección de la Diabetes (Zheng, Ley, & Hu, 2018). Incluso en los países de ingresos altos el porcentaje de personas con Diabetes no

diagnosticadas es alto (37.3%), mientras que los países con un mayor número de casos son los países con bajos y medios ingresos con un 84.5% (FDI, 2017).

A menudo hay un periodo prolongado de tiempo entre la aparición de la enfermedad y la detección de ésta, debido a que la hiperglicemia no tiene manifestaciones como dolor o malestar (Imamura et al., 2015); al pasar desapercibida, se desarrollan complicaciones por hiperglucemia crónica y debido a esto a la mayoría de las personas se les diagnostica cuando ya presentan una complicación como cambios en la visión, pie diabético, insuficiencia renal o infección (You & Henneberg, 2016).

Estas complicaciones han llevado a una elevación en la mortalidad por Diabetes a nivel mundial, la cual ha sido responsable del 17% de muertes en todo el mundo, esta cifra supera la suma de fallecimientos por las principales enfermedades infecciosas tales como VIH/Sida responsable de 1.1 millones de muertes, tuberculosis 1.8 millones y malaria causante de 0.4 millones de muertes (Roglic & Unwin, 2015).

En el año 2000, la Diabetes en México es la primera causa de muerte entre las mujeres y la segunda entre los hombres. En 2010, esta enfermedad causó cerca de 83,000 muertes en el país, y según el INEGI durante 2015 un total de 52,100 personas murieron por esta enfermedad, lo que provocó que el gobierno federal emitiera por primera vez una declaratoria de emergencia epidemiológica para una enfermedad no infecciosa (INEGI, 2017).

La muerte prematura y la discapacidad por Diabetes también van asociadas a un impacto económico negativo para los países, que a menudo se incluyen en los “costos indirectos” por Diabetes (Zheng et al., 2018). El gasto en la enfermedad es muy elevado, pasando de 232,000 millones de USD que gastaron las personas con Diabetes en todo el mundo en 2007 a los 727,000 millones de USD en 2015, mientras que se estima que en el 2045 los costos ascenderán a 776,000 de USD (Bello, Rojas, Aguilar, & Hernández, 2017).

En México, las estimaciones de costos de atención por paciente, van desde 700 hasta 3,200 USD anuales lo que se traduce en el 14% del gasto de salud pública destinado a la atención de esta enfermedad y sus complicaciones, inversión que de acuerdo con la Federación

Internacional de Diabetes se relaciona directamente con la tasa de mortalidad por esta causa (Hernández-Ávila, Gutiérrez, & Reynoso-Noverón, 2013).



Figura 1. Mapa mundial de la epidemiología de la Diabetes (FDI, 2017).

1.2 EL PÁNCREAS Y SUS HORMONAS

El páncreas es una glándula retroperitoneal que mide alrededor de 12-15 cm de longitud y 2.5 cm de ancho, se halla por detrás de la curvatura mayor del estómago. Tiene una cabeza, un cuerpo y una cola, y está habitualmente conectado con el duodeno por medio de dos conductos. La cabeza es la porción dilatada del órgano cercana a la curvatura del duodeno; por encima y a la izquierda de la cabeza se encuentran el cuerpo y la cola de forma ahusada (Figura2) (Tortora & Derrickson, 2012).

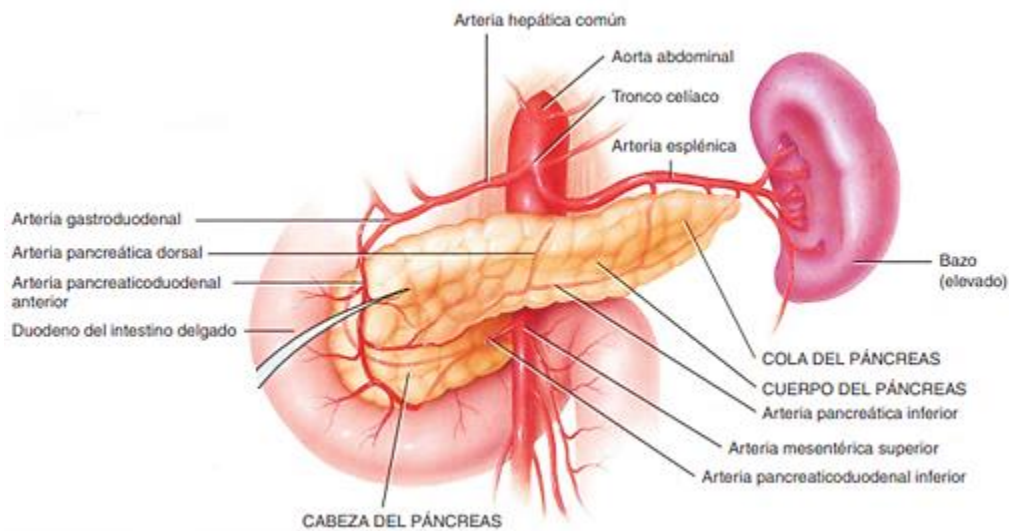


Figura 2. Anatomía e irrigación del páncreas (Tortora & Derrickson, 2012).

Está compuesto por dos tipos de células, las células acinares que se encargan de producir y secretar enzimas que ayudan al proceso de digestión (Brandan, LLanos, & Miño, 2011); y el segundo tipo que corresponde a las células endocrinas las cuales constituyen una porción más pequeña (1%) llamadas islotes de Langerhans, que están diseminadas por todo el parénquima pancreático y presentan diferentes tipos celulares en una organización tridimensional: en el núcleo se encuentran las células β (que producen insulina), rodeadas de células α (que producen glucagón) y que son conectadas por células δ (encargadas de producir somatostatina), las cuales se encuentran conectadas a los capilares para ejercer una acción paracrina en las células α y β (Figura 3) (Revollo, 2015). La función normal del páncreas es esencial para la homeostasis de la glucosa, que a su vez incluye interacciones entre tejidos y hormonas en el equilibrio regulado entre la liberación de glucosa hepática (por el

desdoblamiento del glucógeno y la gluconeogénesis), la absorción de glucosa de la dieta y la captación y metabolismo de glucosa en el músculo estriado y tejido adiposo.

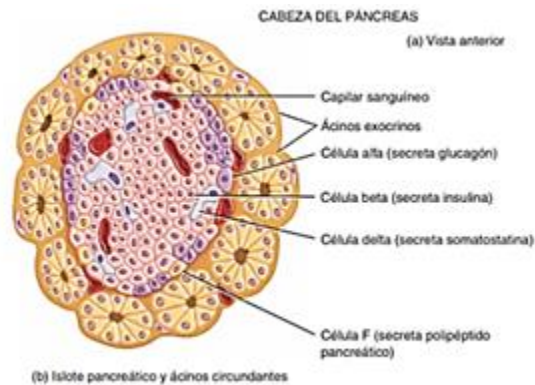


Figura 3. Células endocrinas y exocrinas del páncreas en color amarillo se observan las células acinares exocrinas, mientras que en rosa observan un islote pancreático de Langerhans dentro de él las porciones β (insulina), α (glucagón) y δ (somatostatina), del lado derecho se encuentra la histología del islote pancreático (Tortora & Derrickson, 2012).

1.2.1 INSULINA

La insulina es un polipéptido que contiene 51 aminoácidos, tiene un peso molecular de 5808 Da compuesto por las cadenas A y B unidas entre sí por dos puentes disulfídicos. Durante la biosíntesis de la insulina, el páncreas sintetiza una cadena peptídica precursora de 84 residuos llamada pro-insulina, la cual posteriormente se separa de forma proteolítica del péptido C para al final producir una molécula conformada por dos cadenas, la cadena A con 21 aminoácidos y la cadena B con 30.(Figura 4) (Best, Taylor, Dvorkin, Cardinali, & Iermoli, 2011).

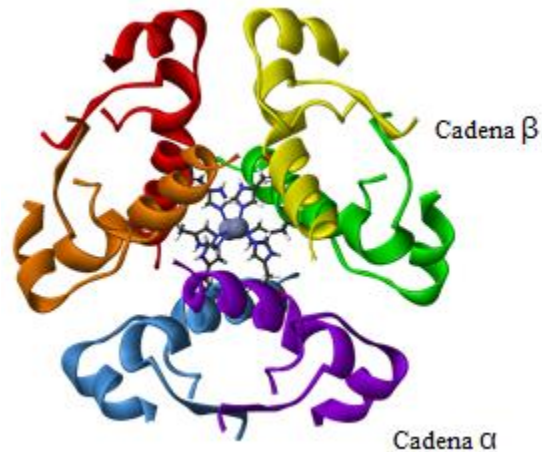


Figura 4. Estructura de la Insulina en representación de listón en colores se observan los 6 monómeros y las 6 cadenas de histidina que se unen al hexámero en líneas se observan las moléculas estabilizadoras de zinc (Koolman & Röhm, 2012).

Sus acciones biológicas se inician cuando se une con el receptor de insulina que pertenece a la familia de receptores con actividad intrínseca de cinasa de tirosinas (Tyr). La unión de la insulina a la subunidad α del receptor genera cambios conformacionales que inducen su activación catalítica y la autofosforilación de varios residuos de Tyr localizados en la región citosólica de la subunidad β 17 (Hubbard, 2007). Los residuos autofosforilados son entonces reconocidos por diferentes proteínas adaptadoras, entre las que se incluyen miembros de la familia del sustrato del receptor de insulina (IRS), de los cuales el IRS-1 y el IRS-2 constituyen los dos principales sustratos e intermediarios más comunes en la etapa inicial de propagación de la señal de insulina. El IRS actúa como una molécula adaptadora que organiza la formación de complejos moleculares y desencadena cascadas de señalización intracelular (Jensen & De Meyts, 2009). La mayoría de las acciones de la insulina se llevan a cabo mediante la activación de dos vías principales de señalización: la vía de la fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K)/Akt también llamada proteína cinasa B (PKB), responsable de la mayoría de sus acciones metabólicas, y la vía de las cinasas activadas por mitógeno/Ras (MAPK/Ras), que regula la expresión genética y los efectos mitogénicos asociados a la insulina (White, 2003). En el caso de la vía PI3K/Akt, la cinasa Akt desempeña un papel central en la señalización de la insulina, ya que su activación lleva a la fosforilación de un importante número de sustratos con funciones clave en un amplia variedad de procesos biológicos

(Manning & Cantley, 2007). A la fecha Akt2 parece desempeñar un papel importante en las acciones metabólicas de la insulina, incluyendo la incorporación de glucosa en el músculo y el tejido adiposo a través de la translocación de GLUT-4 de compartimentos intracelulares a la membrana celular, para aumentar la captación de glucosa en la célula(Figura 5) (Gutiérrez-Rodelo, Roura-Guiberna, & Olivares-Reyes, 2017).

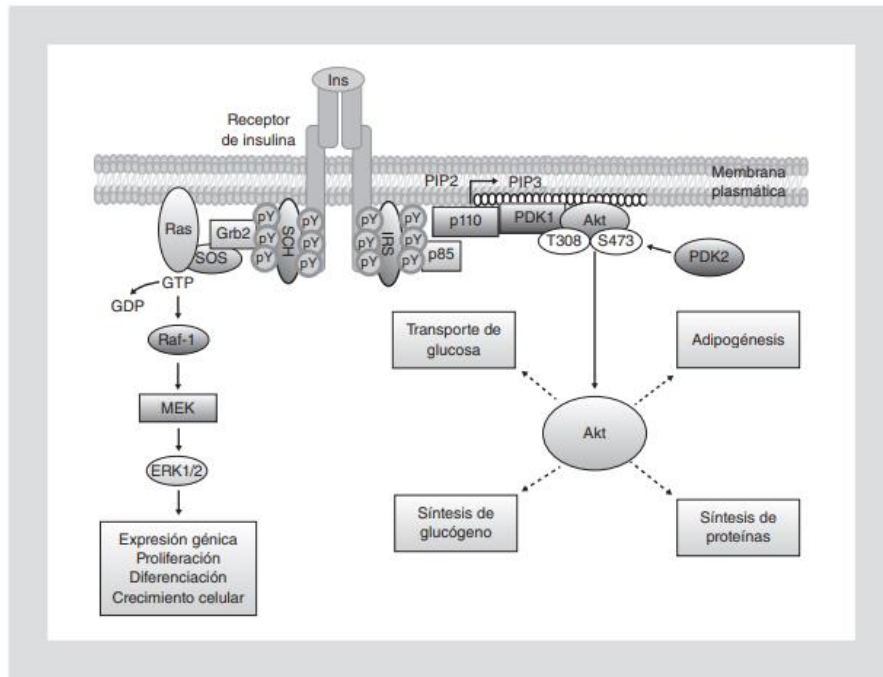


Figura 5. Vías de señalización de la insulina (Gutiérrez-Rodelo et al., 2017).

1.2.1.1 EFECTOS FISIOLÓGICOS DE LA INSULINA

Las acciones de la insulina en los órganos efectores son catabólicas y anabólicas, favoreciendo la síntesis de carbohidratos, grasa y proteínas, efectos mediados a través de la unión al receptor de insulina. (Tabla 1)

Tabla 1. Efectos de la insulina en el metabolismo de carbohidratos grasas y proteínas		
Efectos metabólicos	La insulina estimula	La insulina inhibe
Metabolismo de carbohidratos	<ul style="list-style-type: none"> • Transporte de glucosa en tejido adiposo y el músculo • Tasa de glucólisis del músculo y tejido adiposo • Síntesis de glucógeno en tejido adiposo musculo e hígado 	<ul style="list-style-type: none"> • Desdoblamiento de glucógeno • Gluconeogénesis en el hígado
Metabolismo de lípidos	<ul style="list-style-type: none"> • Síntesis de ácidos grasos y triaciglicéridos en los tejidos • Captación de los triaciglicéridos de la sangre hacia tejido adiposo y músculo • Velocidad de la síntesis de colesterol en el hígado 	<ul style="list-style-type: none"> • Reducción en las concentraciones plasmáticas de ácidos grasos • Oxidación de ácidos grasos en musculo de hígado • Cetogénesis
Metabolismo de proteínas	<ul style="list-style-type: none"> • Transporte de aminoácidos a los tejidos • Síntesis de proteínas en músculo y tejido adiposo 	<ul style="list-style-type: none"> • Degradación de proteínas musculares • Formación de urea

Nota: Tomada de (Tortora & Derrickson, 2012)

1.2.2 GLUCAGÓN

Es un péptido lineal de 29 aminoácidos estructuralmente relacionado con la secretina. Se sintetiza en las células alfa como pro-glucagón que por proteólisis da lugar al glucagón. El pro-glucagón también se expresa en el tracto gastro intestinal pero en vez de transformarse en glucagón da lugar a péptidos tipo glucagón como el GLP-1(Figura 6) (Jácome Roca & Academia Nacional de Medicina de Colombia., 2005).



Figura 6. Molécula tridimensional del glucagón. (Koolman & Röhm, 2012)

La secreción de glucagón depende de la concentración de glucosa en plasma ya que ésta tiene un efecto directo y otro indirecto mediado por insulina, esto debido a que durante el ayuno y el ejercicio se produce una caída de la glucemia que determina un aumento de la secreción de glucagón, asociada a una disminución de la secreción de insulina (Hiriart & Vidaltamayo, 2002). La acción del glucagón se inicia con su unión a un receptor de membrana, que activa a la adenilciclase y produce un aumento del AMPc intracelular que determina la activación de una proteincinasa que fosforila enzimas claves (Tabla 2), poniendo en marcha las acciones biológicas del glucagón, todo esto se lleva a cabo principalmente en el hígado y tejido adiposo (Figura 7) (Brandan et al., 2011).

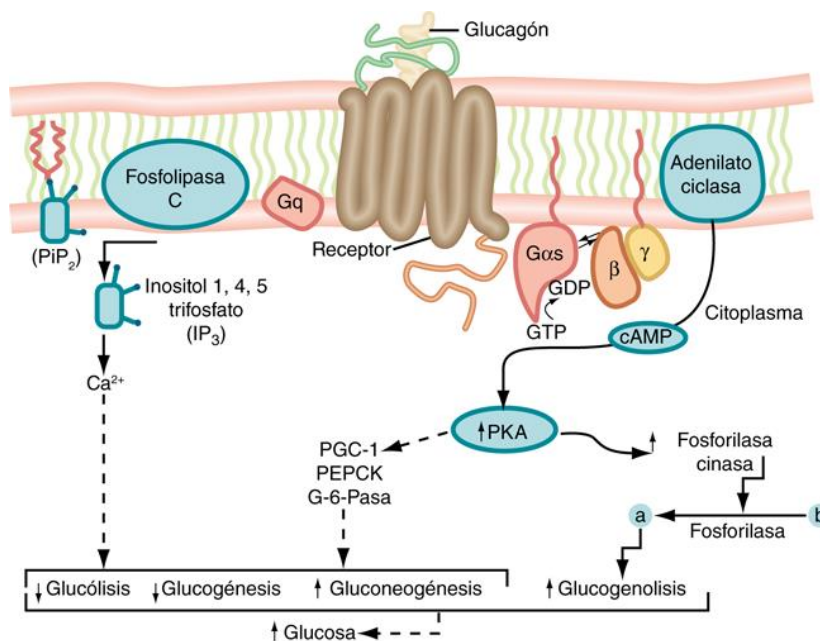


Figura 7. Efectos celulares mediados por el receptor del glucagón (Hershel & Levizky, 2013).

1.2.2.1 EFECTOS FISIOLÓGICOS DEL GLUCAGÓN

El glucagón es la principal hormona que participa en la prevención y control de la regulación de la hipoglucemia. En la tabla 2 se resumen los pasos enzimáticos clave regulados por el glucagón que median la estimulación de la producción de glucosa hepática.

Tabla 2. Efecto metabólico de acuerdo a la enzima activada por el glucagón	
Enzima	Respuesta metabólica
Fosforilación de la glucógeno fosforilasa	Estimula la glucogenólisis
Inhibición de la glucógeno sintasa	Inhibe la síntesis de glucógeno
Expresión de fosfoenolpiruvato carboxilasa	Estimula la gluconeogénesis
Desactivación de la fosfofructocinasa-2 y activación de la fructosa 6 fosfatasa	Inhibe la glucólisis Estimula la gluconeogénesis
Supresión de la piruvato cinsasa	Disminuye la glucólisis

Nota: Tomada de (Tortora & Derrickson, 2012)

1.2.3 REGULACIÓN ENTRE INSULINA Y GLUCAGÓN

El mantenimiento de los niveles de glucosa en sangre (glucemia) resulta esencial para el organismo humano, esto debido a que hay tejidos que dependen de la glucosa para la obtención de energía como lo es el cerebro (Murray & Harper, 2009).

La principal fuente de energía que tienen las células son los carbohidratos; éstos son digeridos para obtener los monosacáridos correspondientes y de esta forma son absorbidos en el intestino y transportados a través del torrente sanguíneo a los diferentes tejidos para que éstos los empleen en el metabolismo celular con el fin de obtener energía en forma de adenosintrifosfato (ATP) (Tortora & Derrickson, 2012).

La elevación de la glucemia, después de la digestión de alimentos ricos en carbohidratos, estimula la secreción de insulina en el páncreas, la cual al unirse a su receptor en las células adiposas y de músculo esquelético activa la cascada de señalización que permite la entrada de glucosa a estas células, normalizando los niveles en sangre (D. Pacheco, 2004).

Cuando los niveles de ATP se elevan en los tejidos las moléculas de glucosa remanentes se almacenan en el hígado y en el músculo en forma de glucógeno por medio de la glucogénesis,

el glucógeno resultante se almacena para degradarse y así mantener la concentración de glucosa en sangre durante el ayuno nocturno (Koolman & Röhm, 2012). Cuando la glucosa en sangre disminuye (hipoglucemia) las fibras nerviosas simpáticas liberan adrenalina y noradrenalina, que inhiben la secreción de insulina y aumentan la de glucagón. Este tipo de regulación es muy importante en la respuesta a situaciones de estrés, en las que también participa la adrenalina, que se produce en la médula de las glándulas suprarrenales (Hiriart & Vidaltamayo, 2002). Así, el principal efecto fisiológico del glucagón es mantener las concentraciones plasmáticas de glucosa al estimular la producción de glucosa hepática de novo a través de gluconeogénesis, desdoblamiento de glucógeno y por la disminución de la glucólisis, de esta manera se previene y se regula la hipoglucemia (Figura 8).

Mientras que el control y la regulación de la glucosa en el organismo dependen sustancialmente de la interacción entre las hormonas pancreáticas sus acciones son antagónicas a nivel del metabolismo energético y son claves para mantener un equilibrio de oferta y demanda (Revollo, 2015).

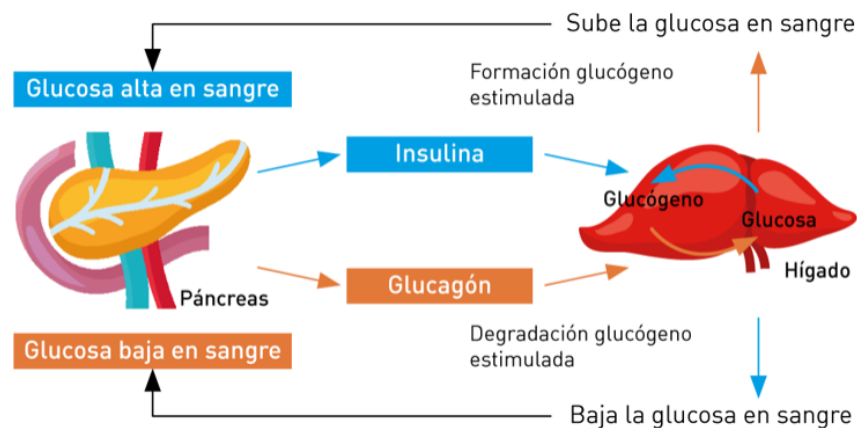


Figura 8. Regulación de la glucosa en el sistema a través de las hormonas insulina y glucagón (Modificado de Hershel & Levizky, 2013).

1.3.-CLASIFICACIÓN DE LA DIABETES

Actualmente, se ha clasificado a la Diabetes en tres tipos principales: DT1, DT2, Diabetes gestacional; pero también existe un tipo de Diabetes menos frecuente, la Diabetes monogénica y la Diabetes secundaria (FDI, 2017). El diagnóstico de un tipo de Diabetes a un individuo a menudo depende de las circunstancias presentes en el momento del sujeto, y muchos individuos diabéticos no encajan fácilmente en una sola clase, por estas mismas razones la Asociación Americana de Diabetes (ADA) realizó una clasificación ésta (Tabla 3).

Tabla 3. Clasificación de los diferentes tipos de Diabetes por la ADA

	Diabetes tipo 1	Diabetes tipo 2	Diabetes gestacional	Otros tipos de Diabetes
Edad de Aparición	Más frecuente en jóvenes	Cualquier edad, sin embargo, hay más casos en adultos jóvenes y personas de la tercera edad	Durante el segundo o tercer semestre del embarazo	Antes de los 25 años
Poblacion a nivel mundial	5-10%	87-91%	7%	1-2%
Factores de riesgo	Autoinmune con múltiples predisposiciones genéticas	Factores genéticos y ambientales como obesidad, vida sedentaria, dieta alta en carbohidratos y grasas	Predisposición genética de DT2	Mutación genética autosómico dominante en el gen
Características	Es causada por una reacción autoinmunitaria que produce una autodestrucción y selectiva de las células beta de los islotes de languerhans.	La DT2 tiene su origen en la incapacidad del cuerpo para utilizar eficazmente la insulina, lo que podría ser consecuencia del exceso de peso o la inactividad física (WHO, 2018). La mayoría de las personas con DT2 pueden producir insulina, pero no en las cantidades suficientes que el organismo necesita para su correcto funcionamiento (ADA, 2018)	Se ha definido como cualquier grado de intolerancia a la glucosa con inicio o primer reconocimiento durante el embarazo. Aunque la mayoría de los casos se resuelven con el parto, la definición se aplica si la condición persistió o no después del embarazo y no excluyó la posibilidad de que la intolerancia a la glucosa no reconocida haya sido anterior o iniciada concomitantemente con el embarazo.	Se les conoce como Diabetes de inicio juvenil (MODY) y se caracterizan por una secreción de insulina alterada con defectos mínimos o nulos en la acción de la insulina. Se heredan en un patrón autosómico dominante. Hasta la fecha se han identificado anomalías en trece loci genéticos en diferentes cromosomas.
Diagnóstico	Pruebas de anticuerpos Glucosa en ayuno $\geq 125\text{mg/dL}$ Glucosa postprandial 2 hrs $\geq 199\text{mg/dl}$ HbA1C $\geq 6.5\%$ (ADA, 2018)	Glucosa en ayuno $\geq 125\text{mg/dl}$ Glucosa postprandial $\geq 200\text{mg/dl}$ HbA1C $\geq 6.5\%$ (ADA, 2018)	Curva de tolerancia a la glucosa y el diagnóstico será confirmado si se alcanzan los siguientes valores: Ayuno = 92 mg/dl 1 hora = 180 mg/dl 2 horas= 153 mg/dl	Glucosa en ayunas estable 100-150 mg/dl Anticuerpos negativos HbA1c $\leq 7.5\%$ Test de diagnostico molecular
Tratamiento	Casi siempre es necesaria la prescripción de insulina	Hipoglucemiantes y en algunos casos insulina	Menús especiales y actividad física, en algunas ocasiones inyecciones con insulina	Medicamento oral o Insulina

1.3.1.- DIABETES TIPO 2

La Diabetes es una enfermedad metabólica ampliamente distribuida a nivel mundial, producida por una deficiencia absoluta o relativa de insulina (Koolman & Röhm, 2012). Ante esto se producen cambios metabólicos que aseguran el aporte suficiente de energía a los órganos vitales, preferentemente el cerebro y a su vez se disminuye el consumo de glucosa en el músculo, el tejido adiposo y el hígado, y se ponen en marcha mecanismos de producción de glucosa y posteriormente de otros nutrientes, como ácidos grasos libres y cuerpos cetónicos (Figura 9) (Best et al., 2011).

Con la deficiencia de insulina se produce un incremento de las hormonas contraregulatoras glucagón, noradrenalina y cortisol que contribuyen a reducir el consumo de glucosa, posteriormente se pone en marcha la glucogenólisis hepática mediada por la fosforilasa; una vez que se agotan las reservas de glucógeno hepático, la hipoinsulinemia, la hiper glucagonemia, y la elevación de las hormonas contrainsulares ponen en marcha la lipólisis, con escisión de los triglicéridos para obtener glicerol y ácidos grasos libres, que son vertidos a la sangre en grandes cantidades (Defronzo & Ferrannini, 2015).

Una vez agotadas las reservas hepáticas de glucógeno, la glucosa aportada a la circulación proviene de la gluconeogénesis. Este proceso de gluconeogénesis se realiza en el hígado y en el riñón, ya que son los únicos dotados de glucosa-6-fosfatasa, enzima imprescindible para la síntesis de glucosa *de novo*. Los sustratos empleados son aminoácidos, lactato, piruvato y glicerol, que se originan en el músculo, el tejido adiposo y el intestino, mediados por el descenso de la insulina y elevación de cortisol, de la hormona del crecimiento (GH), glucagón y noradrenalina (Rothman, Magnusson, Katz, Shulman, & Shulman, 2013).

Se acelera la rotura del tejido muscular, con gran producción de lactato que, ante la inhibición del ciclo de Krebs por la beta oxidación de los ácidos grasos libres, es transaminado a alanina (ciclo glucosa-alanina) o liberado a la circulación, y llega al hígado, donde sirve para sintetizar glucosa (ciclo de Cori). Los ácidos grasos por lipólisis en los adipocitos se liberan al torrente sanguíneo en forma de glicerol. La energía necesaria para realizar la gluconeogénesis proviene de la oxidación de los ácidos grasos libres y la degradación de aminoácidos provenientes de músculo y la activación de la enzima clave de dicho proceso, la piruvato carboxilasa, estimulada por el producto final de la beta oxidación de los ácidos

grasos libres, la acetil coenzima A1. La gluconeogénesis renal se realiza a expensas de la glutamina, que acarrea producción de amonio, necesario, a su vez, para la eliminación de cuerpos cetónicos (Albero, Sanz, & Playán, 2004).

La lipólisis puesta en marcha tras la depleción del glucógeno hepático aumenta los valores plasmáticos de glicerol y de ácidos grasos libres. El aporte elevado de estos últimos a todo el organismo incrementa su oxidación. En las mitocondrias sufren una beta oxidación, con gran formación de acetil coenzima A y citrato, y se produce una inhibición del ciclo de Krebs, con la consecuente disminución del metabolismo de la glucosa. Todos estos procesos hacen que la acetil coenzima A derive hacia la formación de grandes cantidades de cuerpos cetónicos (acetoacetato y beta-hidroxibutirato) (Koolman & Röhm, 2012).

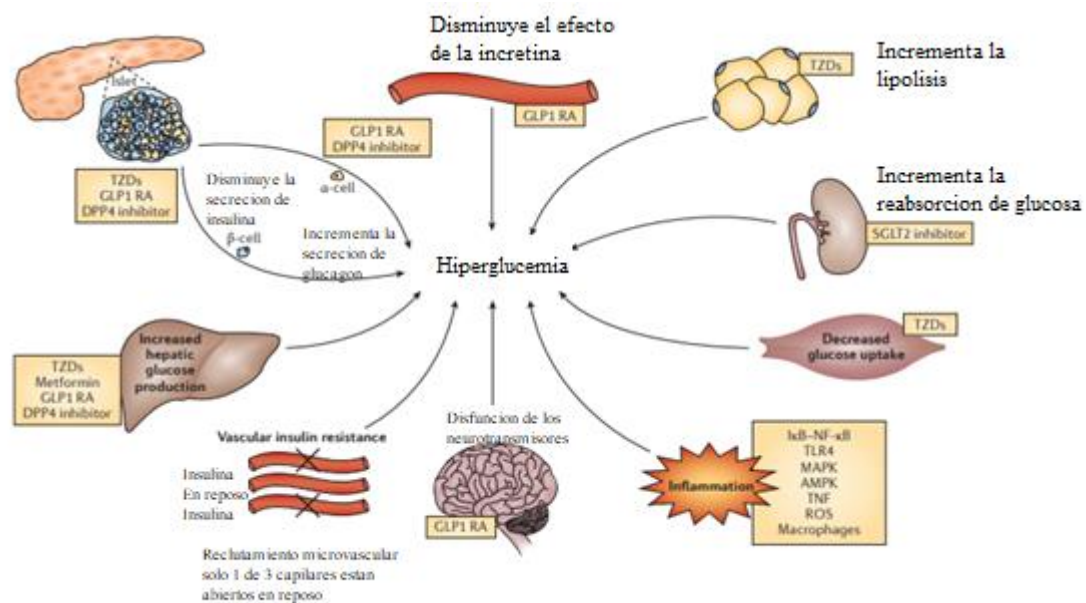


Figura 9. Fisiopatología de la Diabetes tipo 2 Modificado de (F. Pacheco, 2007).

1.3.1.1.-FACTORES DE RIESGO DE DIABETES TIPO 2

La DT2 es una enfermedad que resulta de una compleja interacción herencia-ambiente junto con otros factores de riesgo como es la obesidad, la acción alterada de la insulina (disfunción secretora de la insulina) y aumento de la producción de glucosa endógena. Aunque existe evidencia sustancial de que las tres primeras de estas anomalías están presentes en la mayoría de las personas antes del inicio de la Diabetes, no es clara la secuencia con la que se desarrollan y sus contribuciones a la intolerancia a la glucosa y, en última instancia, a DT2 (Weyer, Bogardus, Mott, & Pratley, 2012).

1.3.1.2.-RESISTENCIA A LA INSULINA

La resistencia a la insulina (RI) es la incapacidad de los tejidos periféricos efectores para responder apropiadamente a concentraciones circulantes normales de insulina, y para mantener la euglucemia. En muchas ocasiones esta condición antecede al inicio de DT2 por varios años. La compensación de la RI con un incremento en la liberación de la hormona por medio del páncreas es eficaz sólo en forma transitoria conforme se incrementa la RI, se desarrolla intolerancia a la glucosa y, por último, la incapacidad o agotamiento de las células β del páncreas ocasiona una disminución paulatina en la secreción de insulina. La combinación de RI y de la alteración de la función de las células β es la característica clínica de DT2 (WHO, 2018). Los principales tejidos que se ven afectados son hígado, músculo, cerebro y tejido adiposo y la causa principal se encuentra en la inhibición de la vía de señalización de insulina como se explica más adelante (Alejandro Castillo Barcias, 2014).

1.3.1.2.1.-Epidemiología de RI

La resistencia a la insulina es un trastorno en el cual el nivel de glucosa en la sangre es más alto de lo normal pero no suficientemente alto como para un diagnóstico de Diabetes. Con el tiempo, el exceso de glucosa en la sangre pone a la persona en peligro de sufrir una enfermedad cardíaca o un derrame cerebral, o de tener Diabetes de tipo 2. De acuerdo al el Centro de Control y Prevención de Enfermedades, en Estados Unidos hay 79 millones de adultos de 20 años o más que tienen preDiabetes. A medida que la población aumenta en edad, engorda y se mantiene inactiva, el número de adultos con preDiabetes se incrementa. El número de niños y jóvenes adultos que tienen preDiabetes también está aumentando.

Anualmente, 1 de cada 10 personas con preDiabetes desarrolla Diabetes de tipo 2 pero solo el 10 por ciento lo sabe.(CDC, 2017)

1.3.1.2.2.-Factores patológicos de la resistencia a la insulina

La inflamación es uno de los mecanismos patológicos de la RI, el cual en la mayoría de los casos proviene de un estado de obesidad, la cual ha sido asociada a un estado inflamatorio crónico leve a moderado, que se manifiesta a nivel sistémico por un aumento de los factores inflamatorios y los leucocitos circulantes. También existe un incremento en la acumulación de lípidos, particularmente en el tejido adiposo, lo cual provoca el aumento en el tamaño de las células adiposas, la expansión del tejido adiposo y la alteración en la secreción de adipocinas y citocinas proinflamatorias, así como la liberación aberrante de ácidos grasos libres (AGL).(Gutiérrez-Rodelo et al., 2017)

Además, se ha demostrado que la obesidad incrementa la infiltración de macrófagos en el tejido adiposo y que esto contribuye de manera sustancial a la producción y secreción de citocinas en respuesta a la obesidad. Entre las citocinas proinflamatorias secretadas en el tejido adiposo y por macrófagos se incluyen la resistina, el factor de necrosis tumoral α (TNF- α), las interleucinas IL-6, 18 y 1 β , la proteína quimiotáctica de monocitos 1 y la Ang II. Estos factores, por una parte, contribuyen al estado local y generalizado de la inflamación asociada a la obesidad y, por otra, como en el caso del TNF- α , la IL-6, la IL-18, la IL-1 β y la Ang II, directamente pueden inducir RI.(Gutiérrez-Rodelo et al., 2017)

Lo más interesante de estos hallazgos es que la contribución del proceso inflamatorio a la RI en el tejido adiposo no sólo es local, sino también sistémica, como es el caso de citocinas la RI se induce a través de múltiples mecanismos, como la activación de cinasas de Ser/Thr, la disminución en la expresión de IRS-1, GLUT-4 y receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas, o la expresión y activación de SOCS-3.(Carrasco, 2013; Gutiérrez-Rodelo et al., 2017)

Otro factor importante en la inflamación asociada a la obesidad es la activación de los receptores de tipo toll (TLR), en particular la de TLR-2 y TLR-4. Los TLR son una familia

de receptores que pertenecen al sistema inmune innato, y que inducen inflamación a través de la vía del factor nuclear κ B (NF- κ B). A pesar de que los TLR se expresan de manera ubicua, se ha observado que la expresión de los TLR-4 se encuentra elevada en el tejido muscular y adiposo en condiciones de obesidad. Un hallazgo interesante indica que los Acidos grasos son agonistas de los TLR-4, lo que sugiere un papel potencial de estos receptores en la inflamación crónica de bajo grado inducida por la obesidad (Figura 10) (Carrasco, Galgani, & Reyes, 2013)

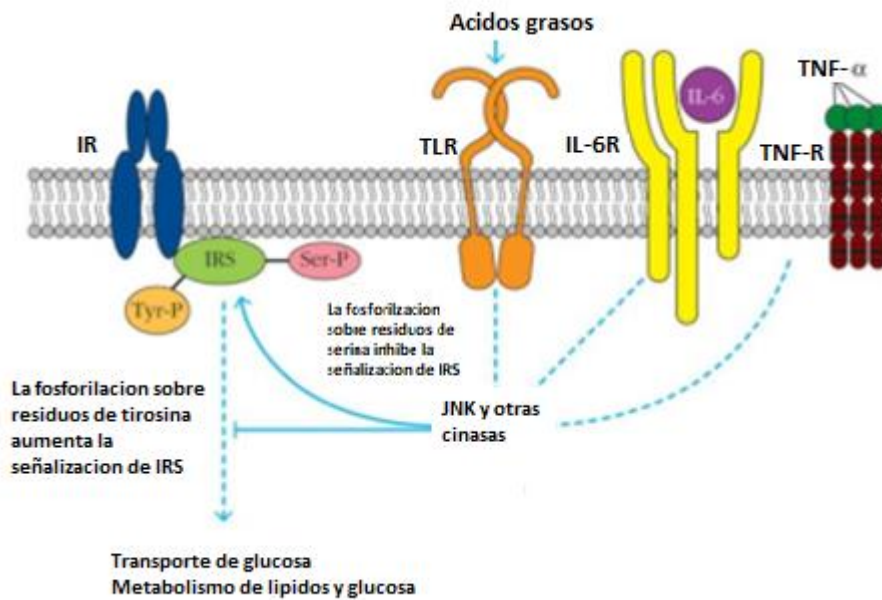


Figura 10. Eventos celulares que interfieren en la señalización insulínica Modificada de (Carrasco et al., 2013).

El exceso de lípidos inducen una acumulación de ceramidas y diglicéridos lo que induce una lipotoxicidad (Galgani, Moro, & Ravussin, 2008). Estas especies de lípidos afectan en última instancia a la señalización de insulina a través de diferentes mecanismos, ya sea por aumento de la fosforilación de serina del receptor de insulina y del sustrato 1 de receptor de insulina o fosforilación de serina reducida de PKB (Figura 11) (Moro, Bajpeyi, & Smith, 2008).

1.3.1.2.3 Evaluación de RI

La RI puede ser determinada mediante diferentes técnicas una de ellas es el clamp euglicémico-hiperinsulinémico, el cual es el estándar de oro para medirla. Se basa en la infusión por vía venosa de una cantidad fija de insulina (previamente estipulada) y una cantidad variable de glucosa con el fin de mantener la glucemia del sujeto en un valor de euglucemia prefijado (DeFronzo, Tobin, & Andres, 2012). Otro de los métodos más utilizados en la actualidad es el es el cálculo del índice HOMA-IR (*Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance*) y se relaciona con la medición de la glucemia e insulinemia en un estado basal (ayuno), lo que permite el cálculo de un índice de RI (HOMA-IR) a través de la fórmula:

$$HOMA - IR = \frac{\text{glucemia} \left(\frac{mg}{dl}\right) \times \text{insulinemia} \left(\frac{uU}{ml}\right)}{405}$$

Un estudio en 120 adultos aparentemente sanos entre 19 y 40 años, observó que el promedio correspondía a un índice HOMA de 2.5, proponiéndose así este valor como punto de corte en adultos para definir RI en la práctica clínica y para estudios poblacionales (Pollak C., 2016). La aplicación de estos métodos llega a ser compleja, laboriosa y costosa, lo cual ha incentivado el desarrollo de otras métodos para evaluar la RI (Muniyappa, Lee, Chen, & Quon, 2008).

Recientemente, el índice TyG, un producto de los niveles de triglicéridos y glucosa en ayunas, presentó resultados prometedores como marcador para la evaluación de RI en pacientes mexicanos (Vasques et al., 2011). Ya que la dislipemia es una de las principales características de los sujetos con RI y este aumento de triglicéridos llegan a interferir con el metabolismo muscular de la glucosa, lo cual es consistente con la hipótesis de que la elevación de los TAG en el suero y tejidos está relacionada con una disminución en la sensibilidad a la insulina (Reaven, 2005). En este sentido, la relación entre la concentración plasmática de TAG y la glucosa ha sido sugerida como una alternativa útil para la estimación de la acción de la insulina (Unger, Benozzi, Perruzza, & Pennacchiotti, 2014).

1.4.- OBESIDAD

La obesidad ha sido reconocida durante mucho tiempo como una condición que afecta el bienestar de las personas, como fue indicado por el médico griego Hipócrates al darse cuenta de la asociación de la obesidad y la DT2, señalando que *"la muerte súbita es más común en aquellos que son naturalmente gordos que en los delgados"* (Javier & Sarmiento, 2016).

El sobrepeso y la obesidad se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa, y una de las causas fundamentales de esto es debido a un desequilibrio energético entre las calorías consumidas y las gastadas (SS & Bloom, 2011). Uno de los indicadores más simples para identificar el sobrepeso y la obesidad en los adultos es por medio del índice de masa corporal (IMC) el cual es la relación entre el peso y la talla (Porter, 2003), este se calcula dividiendo el peso de una persona en kilos por el cuadrado de su talla en metros (Kg/m^2).

La OMS define el IMC como *"La medida más útil para el diagnóstico de sobrepeso y la obesidad en la población, puesto que es la misma para ambos sexos y para los adultos de todas las edades"* (en la tabla 4 se observa la clasificación de acuerdo a esto) (WHO, 2018).

Tabla 4. Clasificación de la obesidad por IMC (de acuerdo al OMS) y circunferencia de la cintura.				
	IMC (Kg/m^2)	Clase de Obesidad	Riesgo de Enfermedad	
Circunferencia de cintura			Hombre \leq 102	Hombre \geq 102
			Mujer \leq 88	Mujer \geq 88
Bajo Peso	< 18.5			
Normal	18.5-24.9			
Sobrepeso	25.0-29.9		Aumentado	Aumentado
Obesidad	30.0-34.0	I	Alto	Alto
	35.0-39.9	II	Muy alto	Muy alto
Obesidad extrema	>40.0	III	Extremadamente alto	Extremadamente alto

Nota: Tomada de (Dávila-Torres, González-Izquierdo, & Barrera-Cruz, 2015)

La obesidad ha sido reconocida actualmente como uno de los retos más importantes de la salud pública en el mundo, debido a su magnitud, la rapidez de su incremento y el efecto negativo que ejerce sobre la salud de la población que la padece. Se estima que el 90 % de los casos de DT2 son atribuibles a la obesidad (Mitchell, Catenacci, Wyatt, & Hill, 2011).

1.4.1.-EPIDEMIOLOGIA DE LA OBESIDAD

El exceso de peso corporal es un de las causas de defunción en el mundo, cada año fallecen alrededor de 3.4 millones de personas adultas como consecuencia de esto (Manuel Moreno, 2012).

En México siete de cada diez adultos sufren sobrepeso u obesidad, esto equivale a 48.6 millones de personas que se enfrentan al principal factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades crónicas, como la DT2, padecimientos cardiovasculares y algunos tipos de cáncer (Dávila-Torres et al., 2015). Por ende la elevada tasa de obesidad ubica a nuestro país como el segundo con mayor incidencia después de Estados Unidos de acuerdo a la Organización de Cooperación del Desarrollo Económico (OCDE) (C. Gómez, 2014).

Este problema empieza en la infancia, permanece en la adolescencia y se exagera en la vida adulta por lo que uno de cada tres niños y adolescentes tiene sobrepeso u obesidad, sin embargo, a partir de los 20 años esta prevalencia se duplica, en consecuencia un niño que es obeso tiene 50% de probabilidades de seguir siéndolo en la adultez, incluso si se le detecta en edad escolar (Lobstein, Baur, & Uauy, 2004).

Esta situación puede atribuirse a que durante los últimos 30 años, México ha sufrido varios cambios demográficos, económicos, ambientales y culturales que han impactado de manera negativa en el estilo de vida y bienestar de la población, en donde la incidencia de obesidad ha alcanzado proporciones casi epidémicas, principalmente en las localidades urbanas, en donde hay una amplia disponibilidad de alimentos y bebidas procesadas, con alto contenido de sal, azúcares refinados y grasas, con baja disponibilidad de vitaminas, minerales y fibra, aunado a una vida sedentaria y a una creciente urbanización (Hernández-Cordero et al., 2017; Kumanyika, 2018).

En México, se ha estimado que en 2017 los costos por pérdida de productividad relacionadas con obesidad y sobrepeso ascendieron a 72,951 millones de pesos, mientras que los relacionados con atención médica están en los 77,909 millones de pesos. (Solórzano-Santos & Miranda-Novales, 2009).

1.4.2.-FACTORES DE RIESGO EN LA OBESIDAD

La obesidad y el sobrepeso no son sólo el resultado de malos hábitos alimenticios y una falta de actividad física, también se debe a la expresión de factores genéticos que conllevan a alterar los mecanismos biológicos de regulación del peso corporal. Comúnmente, se considera que existen dos formas de obesidad: la obesidad monogénica, que se debe a un solo gen disfuncional adquirido naturalmente y es a la vez severa y poco frecuente, y la obesidad poligénica causada por alteraciones en varios genes y que representa la forma más frecuente de la enfermedad (Marchat L, 2007).

De acuerdo a estudios con gemelos, que han sido un modelo muy utilizado para permitir la evaluación del componente genético de un rasgo dado, se ha informado que la concordancia de la masa grasa entre los gemelos monocigotos varía del 70% al 90%, mientras que en los gemelos dicigotos es del 35% al 45% (Hebebrand & Friedel, 2013).

Las diferencias en la prevalencia de la obesidad entre los diferentes grupos étnicos también proporcionan una visión genética; por ejemplo, existe una prevalencia del 35% o menos en las poblaciones caucásicas y asiáticas, mientras que en los indios Pima y las poblaciones del Mar del Sur hay hasta el 50% o más (Knowler, Pettitt, Saad, & Bennett, 1990).

En modelos de ratones con sobrepeso, permitió asociar la obesidad con aproximadamente 200 mutaciones localizadas en 11 genes distintos. De manera interesante, la mayoría de estos genes codifican para proteínas relacionadas con la transmisión de información del tejido adiposo al cerebro, para regular el equilibrio entre saciedad y apetito. En este modelo lipostático de control del peso corporal, la región hipotálamica del cerebro es considerada un centro regulador que dirige y armoniza la producción de una serie de factores hormonales que participan en la regulación del equilibrio energético del organismo (Marchat L, 2007).

Tales hallazgos apoyan firmemente el concepto de que los genes juegan un papel central en la determinación del IMC y, en consecuencia, en la patogénesis de la obesidad. Sin embargo,

en general ha resultado difícil identificar la causa genética subyacente específica de la obesidad, y esto se debe a las complejas interacciones involucradas en la regulación de la adiposidad (Hebebrand & Friedel, 2013).

1.4.3.- FISIOPATOLOGÍA DE LA OBESIDAD

El adipocito es la principal célula del tejido adiposo y está especializada en almacenar el exceso de energía en forma de triacilglicéridos, y liberarlos en situaciones de necesidad, así el tejido adiposo está formado por adipocitos inmersos en una red de fibras de colágeno junto con otras células como fibroblastos, leucocitos y preadipocitos (López & Maselli, 2009). Actualmente, este tejido es considerado un órgano dinámico involucrado en muchos procesos fisiológicos y metabólicos. Se sabe que expresa y secreta una gran variedad de péptidos activos conocidos como adipocinas, entre las que se encuentran la leptina y la adiponectina, las cuales han sido muy estudiadas (Suárez, Sánchez, & González, 2017).

La leptina es un péptido de 167 aminoácidos, con un peso molecular de 16 kDa y codificado por el gen *ob* localizado en el cromosoma 7q31.3 en humanos. La concentración de leptina se correlaciona positivamente con la grasa corporal total, el estado nutricional del individuo y el contenido de triglicéridos de los adipocitos; por lo que, los niveles séricos de leptina son elevados en individuos obesos comparados con individuos de peso normal actuando como un “marcador” de las reservas energéticas del organismo, su concentración en sangre varía acorde al ritmo circadiano y se encuentra regulada por la cantidad de insulina y de otras hormonas, y en términos fisiológicos esta hormona puede regular el apetito. El estímulo de leptina inhibe el hambre y la ingestión de comida, sin embargo, la existencia de niveles elevados de leptina en pacientes obesos sin que se manifiesten sus efectos fisiológicos, permite suponer que en estas personas existe un proceso de resistencia a la leptina (Elisondo & Rosso, n.d.; Suárez et al., 2017).

La adiponectina es la más abundante de las adipocinas circulantes, es un péptido con un peso molecular de 30 kDa, codificado por el gen APM1 (3q27) y constituye el 0.05% del total de proteínas plasmáticas, es producida exclusivamente en el tejido adiposo blanco e incrementa la sensibilidad a la insulina en diversas células epiteliales y del estroma de varios tejidos, y sus niveles son inversamente proporcionales al nivel de obesidad (López & Maselli, 2009).

En individuos obesos, la acumulación de grasa abdominal produce liberación de ácidos grasos a través de la vena porta y ocasiona un exceso de síntesis hepática de triglicéridos, RI e hiperinsulinemia. La grasa tisular tiene aparentemente dos mecanismos de actuación en la fisiopatología de la Diabetes, por un lado, aumenta la demanda de insulina y por otro, en individuos obesos, aumenta la RI y por consiguiente la hiperinsulinemia. (Daza, 2002).

La RI en la obesidad se puede atribuir en parte a la disminución de los receptores de insulina y también a defectos post-receptores intracelulares. La reducción de peso en obesos con DT2 mejora el control glicémico y concomitantemente contribuye a la reducción de problemas como la hipertensión arterial y la hiperlipidemia (Daza, 2002).

2.-VARIACIONES EN EL GENOMA Y POLIMORFISMOS ASOCIADOS A DT2

La variabilidad genética se origina durante el desarrollo de los tejidos, la transformación en órganos y también durante la vida del individuo. Existen numerosos mecanismos moleculares bien conocidos que pueden originar los polimorfismos, como la recombinación homóloga, la segregación de cromosomas, las mutaciones, las duplicaciones y las transposiciones (Waalén, 2014).

La revolución tecnológica en el genotipado ha permitido la investigación de factores genéticos, desde genes únicos que afectan predominantemente una característica fenotípica, hasta múltiples factores genéticos, involucrados en enfermedades crónico degenerativas como la Diabetes (Waalén, 2014). La forma más común de variación en el DNA en los individuos es la sustitución de un único nucleótido por otro (SNP). Se estima que los SNPs se producen en una frecuencia de aproximadamente uno cada 300-400 pb, estos cambios simples son estables y no perjudiciales para los organismos (Olsson et al., 2014).

De acuerdo a diferentes estudios el 50% de los SNP's se encuentran en regiones no codificantes. Mientras que el otro 50% están en regiones codificantes y reciben el nombre de polimorfismos génicos; esta clase de polimorfismos tienen un efecto sobre el fenotipo. Sin embargo los polimorfismos génicos, sin efecto fenotípico, son los más comunes y son los responsables de la diversidad genética normal entre individuos (Saenko & Rogounovitch, 2018). Mientras que los polimorfismos que afectan al fenotipo pueden modificar las características bioquímicas, fisiológicas e incluso morfológicas de la célula, originando procesos patológicos en ciertos casos, esta variación da lugar a la adaptación de los individuos, generando la evolución de las especies, influyendo en la susceptibilidad a presentar distintas enfermedades (Valdespino-gómez & Margarita, 2015).

Recientes estudios de asociación del genoma (GWAS) han identificado numerosos *loci* genéticos asociados con la Diabetes y sus rasgos relacionados. Sin embargo, estas variantes solo explican una pequeña proporción de la heredabilidad estimada para la Diabetes,

proponiendo que hay factores genéticos adicionales que pueden incluir variantes genéticas que interactúan con mecanismos epigenéticos y ambientales (Olsson et al., 2014).

2.1.-FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN: KLF14

El DNA experimenta dos procesos clave, el primero es la síntesis del DNA, lo que permite repartir equitativamente el material genético a las células hijas durante el proceso de división celular, y el segundo es el de expresión génica, en el que están incluidos dos procesos clave como es la transcripción y la traducción.

La transcripción es la síntesis de RNA mensajero (RNAm), a partir de la secuencia nucleotídica de un gen, este proceso ocurre dentro del núcleo en los organismos, posteriormente el RNA experimenta ciertas modificaciones localizándose, finalmente, en el citoplasma, en donde sirve como molde en el proceso de traducción, que es la lectura del RNAm para generar una proteína, todo este proceso es conocido como el dogma central de la biología molecular (Strachan, 2008).

El inicio de la transcripción es un proceso complejo, esto debido a la variedad de secuencias de iniciación y a las numerosas proteínas que se unen; una de las secuencias en el DNA son los promotores, los cuales se encuentran próximos al gen que regulan (o en ocasiones dentro de él) y tienen una localización fija con respecto al punto de inicio de la transcripción, del mismo modo, para que los promotores sean reconocidos, son necesarias proteínas accesorias llamadas factores de transcripción, que se unen a la secuencias de DNA con el fin de guiar y activar a la RNA polimerasa, y dependiendo del factor, la transcripción del gen adyacente es regulada positiva o negativamente utilizando diferentes mecanismos para regular la expresión genética (Figura 12) (Pierce, 2016).

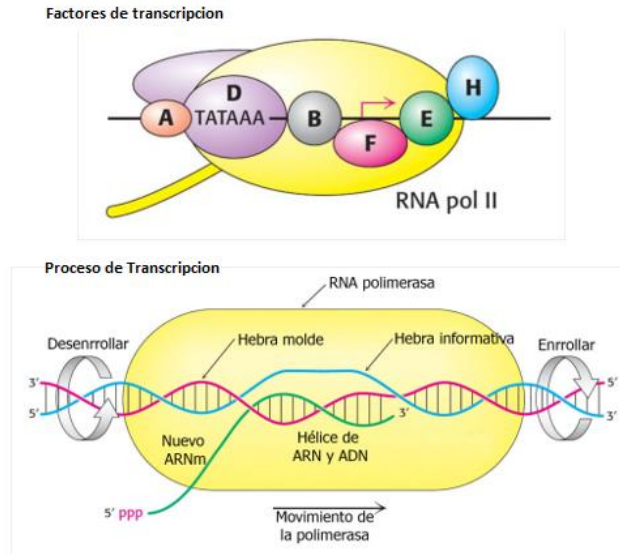


Figura 12. Proceso de la transcripción mediado por lo factores de transcripción (Strachan, 2008).

2.1.1.-FAMILIA DE KLF

KLF (Factor Krüppel) es una familia de factores de transcripción que controlan una variedad de procesos biológicos a nivel celular, tisular y sistémico. La familia KLF regula el metabolismo de la glucosa, los lípidos y los aminoácidos con el fin de mantener la homeostasis del metabolismo sistémico (Olsson et al., 2014).

Las funciones de las proteínas KLF en los tejidos metabólicos también son importantes en las respuestas a las lesiones y la inflamación. Los factores KLF también participan en el control de la función de las células inmunitarias, como los macrófagos, que participan en los procesos inflamatorios que subyacen a las enfermedades cardiovasculares y metabólicas (Olsson et al., 2014).

Hasta la fecha se han identificado 18 factores de transcripción que pertenecen a la familia de KLF, que se caracterizan por la presencia de tres dedos de zinc (Cys₂/His₂) conservados en sus dominios C-terminales y se unen a secuencias consenso similares (elementos CACCC-, GC- o GT-box) ubicadas dentro de los promotores y potenciadores de los genes diana. A pesar de su unión a secuencias similares, los genes que las codifican y sus funciones son diversos (Oishi & Manabe, 2018).

Los mecanismos por los cuales la familia de KLF tiene funciones distintas, se deben principalmente a que la expresión de KLF a menudo depende del tipo de célula y las señales ambientales, también a sus variadas secuencias N-terminal, a las interacciones con otros factores de transcripción y correguladores, y a las modificaciones post-traduccionales (Oishi & Manabe, 2018).

Los factores de transcripción KLF forman una red de proteínas significativamente importantes para mediar fenotipos de enfermedad en muchos organismos, que van desde moscas hasta humanos. Diversos estudios demuestran que la familia KLF regula la expresión de una serie de proteínas involucradas en diferentes vías metabólicas por lo cual su alteración ha sido asociada con síndromes metabólicos comunes, como obesidad y RI, así como DT2 (Prosdocimo, Sabeh, & Jain, 2015).

2.1.2.-KLF14

En el caso de *KLF14*, éste es un factor de transcripción que está sometido a impronta y sólo se expresa la copia materna del gen, al igual que los otros miembros de la familia, *KLF14* tiene tres dominios con dedos de zinc cerca del extremo C, los tres son del tipo clásico C₂H₂ y se encuentran en los aminoácidos 195-219, 225-249 y 255-277 (Figura 14) . El gen que codifica para la proteína *KLF14* se localiza en el brazo largo del cromosoma siete, región tres banda dos sub-banda dos, la longitud de su secuencia es de 972 nucleótidos (Figura 13).(NCBI, 2018).

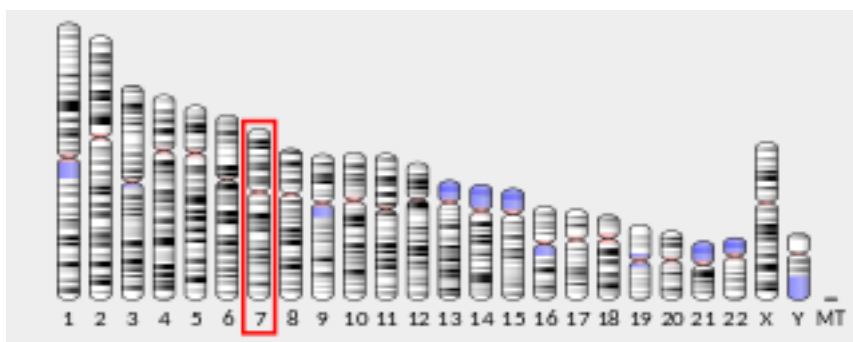


Figura 13. Localización cromosómica de *KLF14* en el brazo largo del cromosoma 7 región 3 banda 2 subbanda 2 (7q32.2) (NCBI, 2018).

Entre sus principales funciones se encuentra como enlace de la cromatina ya que interactúa de forma selectiva y no covalente con la cromatina, la red de fibras de DNA, proteínas y, a veces, RNA que forman los cromosomas del núcleo eucariótico durante la interfase; también sirve como enlace de iones metálicos, tiene actividad como factor de transcripción de unión a DNA, RNA específico de polimerasa II, unión específico de secuencia de DNA y activación transcripcional, RNA polimerasa II región reguladora de la secuencia específica de unión a DNA (Parker & Carson, 2007).

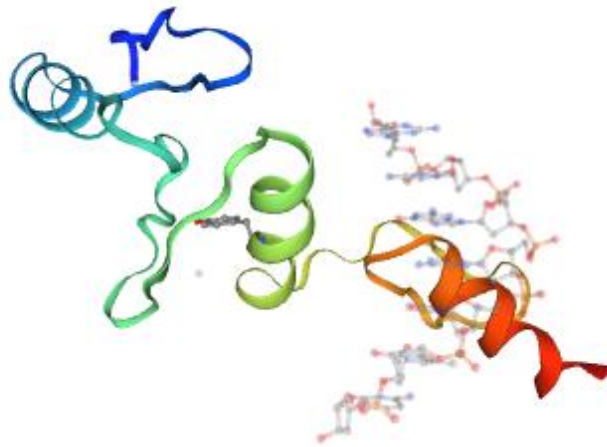


Figura 14. Estructura del dedo de zinc de la proteína codificada por *KLF14* (EXPASY, 2018)

Se identificó como un regulador de la señalización de lípidos al unirse a las regiones ricas en GC en los promotores de esfingosin-cinasa (*Sk1*) y en el factor de crecimiento de fibroblastos (*FGF2*), estos estudios proponen a *KLF14* como un *transregulador* de expresión de múltiples genes (hasta 385), que están asociados principalmente con fenotipos metabólicos en el tejido adiposo, diferenciación celular reguladora T y señalización mediada por lípidos a través de un mecanismo distinto. También se ha identificado que *KLF14* tiene un papel en la regulación del metabolismo de HDL y la capacidad de flujo de salida de colesterol mediante la modulación de la producción de ApoA-I (Guo et al., 2015). Un estudio in vitro mostró que *KLF14* mejora la sensibilidad a la insulina e incrementa la captación de glucosa en las células HEPA1-6 y en estudios con ratones se demostró que la expresión de *KLF14* en el hígado está relacionada con el estado de nutrición, ya que mientras se mantenía el ayuno en los ratones éste incrementaba su expresión y que cuando se alimentaban la insulina se regulaba y los niveles de proteínas se mantenían; durante el ayuno los niveles de insulina disminuían

mientras que los glucocorticoides y el glucagón aumentaban, como resultado se produjo un aumento de la glucogenólisis. Este estudio demostró que el glucagón y la insulina están directamente relacionados con la regulación de la expresión de *KLF14*. También se demostró que *KLF14* regula a PGC-1 α , pues la sobreexpresión de *KLF14* afecta directamente a PGC-1 α , el cual es un coactivador de factores de transcripción involucrado en la biogénesis mitocondrial y el metabolismo oxidativo, es por ello que se ha propuesto a éste último como un gen maestro de la gluconeogénesis, activando las enzimas de esta ruta, principalmente de PEPCCK y glucosa-6-fosfato, cabe mencionar que la sobreexpresión de PGC-1 α lleva al desarrollo de hiperglicemia y RI (L. Wang et al., 2017).

Recientemente se ha propuesto que las variantes genéticas en *KLF14* podrían participar disminuyendo la expresión de *KLF14*, por lo que este factor podría estar asociado a enfermedades metabólicas como la Diabetes y obesidad. Este factor además regula la expresión de enzimas de la β -oxidación y de la síntesis de ácidos grasos, y su desregulación por lo tanto podría provocar alteraciones en la lipogénesis y cambios en la estructura del tejido adiposo, por lo que a nivel morfológico la reducción de la expresión de *KLF14* podría llevar a defectos en la formación de las células de tejido adiposo, lo que se ha asociado con una reducción en el número de adipocitos y el aumento de su tamaño (Small et al., 2018).

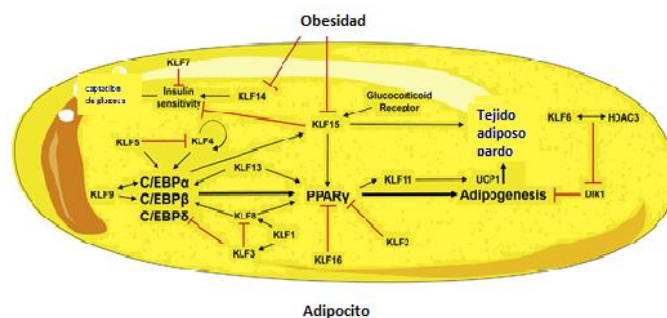


Figura 15. Control en la diferenciación de adipocitos mediada por los factores de KLF modificado de (Pollak, Hoffman, Goldberg, & Drosatos, 2018)

3.- JUSTIFICACIÓN

La obesidad es uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial y México es el segundo país con el mayor número de personas obesas y el primero en obesidad infantil; esta se ha visto asociada al desarrollo de Resistencia a la Insulina, lo que posteriormente puede llevar a DT2.

La principal causa de estas alteraciones metabólicas es la exposición a los diferentes factores de riesgo en el estilo de vida actual por ejemplo: la falta de actividad física, el sedentarismo, y las dietas altas en azúcar y grasas sin embargo, en los últimos años se ha demostrado que los factores genéticos juegan también un papel muy importante en la patogenia de estas tres condiciones, y actualmente se describen alrededor de 600 genes y regiones cromosómicas implicadas. Diversos estudios de asociación han propuesto genes candidatos cuya variación puede influir en el riesgo a desarrollar Diabetes, entre los que se encuentra el factor de transcripción *KLF14* implicado a través de la regulación de la expresión y diferenciación de los adipocitos y el metabolismo de carbohidratos y lípidos.

Estudios recientes en poblaciones asiáticas han sugerido una asociación entre los polimorfismos rs4731702 y rs972283 del gen *KLF14* con alteraciones metabólicas y DT2, lo que sugiere su participación en el desarrollo de obesidad, RI y DT2. En México no hay información suficiente sobre el estudio de variantes genéticas asociados a estas tres entidades, por lo que determinar la frecuencia de las variantes genéticas rs4731702 y rs972283 del gen *KLF14*, como marcadores genéticos sería beneficioso para identificar a la población en riesgo e implementar medidas preventivas para retrasar su aparición y sus complicaciones.

4. OBJETIVOS

4.1.- OBJETIVO GENERAL

Determinar la frecuencia de los polimorfismos rs4731702 y rs972283 del gen *KLF14* en sujetos con obesidad, RI y DT2 en sujetos que acuden al Hospital Juárez de México por medio de genotipificación con sondas Taqman a través de PCR-RT como posible marcador genético en el desarrollo de Diabetes tipo 2.

4.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Caracterizar bioquímica y antropométricamente a la población portadora de los polimorfismos rs4731702 y rs972283 del gen *KLF14* con obesidad, RI y DT2 del Hospital Juárez de México
- Estudiar la frecuencia de los polimorfismos rs4731702 y rs972283 del gen *KLF14* en población del Hospital Juárez de México
- Correlacionar los resultados bioquímicos y antropométricos con los hallazgos moleculares de la población de estudio.

5. HIPÓTESIS

Se encontrará una mayor frecuencia de los SNPs rs4731702 y rs972283 en los grupos de obesidad, RI y DT2 comparada con la población control.

6.-MATERIALES Y MÉTODOS

6.1.-POBLACIÓN DE ESTUDIO

Para la captación de las personas participantes en el estudio se realizaron acciones de diversa índole que incluyeron la invitación directa, la publicación de anuncios y el reclutamiento de voluntarios que se encontraban en el área de consulta del Hospital Juárez de México.

Igualmente, se les entregó una carta de consentimiento informado que fue firmado como requisito indispensable para participar en el estudio.(Anexo 4)

A los sujetos interesados en el proyecto de investigación y que cumplieron con los requisitos de inclusión se les tomó una muestra de sangre periférica en dos tubos con EDTA para la prueba de hemoglobina glicosilada y extracción de DNA, y en un tubo sin anticoagulante para la realización de pruebas bioquímicas

6.2.-TAMAÑO DE LA MUESTRA

El tamaño de la muestra se calculó a partir de la fórmula de poblaciones finitas tomando en cuenta una prevalencia de 9.6% de personas con DT2

Calculo de poblaciones finitas

$$n = \frac{(N) * z^2 * p * q}{(N - 1) * e^2 + z^2 * p * q}$$
$$\frac{6,400000 * 1.96^2 * 0.005 * 0.95}{0.05^2(6,400000 - 1) + 1.96^2 * 0.05 * 0.95} = 385$$

N=Tamaño de la poblacion

z2=1.96

n= Tamaño de la muestra

z=1.96 para el 95% de confianza

p=frecuencia de DT2

q=1-p

e=error admitido

6.2.1.- CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Tabla 6. Criterios de Inclusión			
Control	Obesidad	RI	DT2
<ul style="list-style-type: none">○ Mayores de 50 años○ Sin diagnóstico de Diabetes○ Sin antecedentes de DT2 en al menos dos generaciones	<ul style="list-style-type: none">○ Mayores de 18 años○ IMC > a 30kg/m²Padres con obesidad	<ul style="list-style-type: none">○ Mayores de 18 años○ Glucosa en ayunas > 100 mg/dl y < 126 mg/dl○ HbA1c > 5.7% y < 6.5%	<ul style="list-style-type: none">○ Mayores de 18 años○ Glucosa en ayunas > 126 mg/dl○ HbA1c > a 6.5%

6.2.2.- CRITERIOS DE EXCLUSION

- Menores de 18 años
- Con alguna enfermedad crónico degenerativa diferente a DT2 (cáncer, enfermedades autoinmunes, pancreatitis, hepatitis, etc.)
- Participantes con consanguinidad

6.3.- DATOS SOMATOMÉTRICOS

El cálculo de índice de masa corporal (IMC) se realizó mediante la fórmula de Bray que divide el peso en kilogramos entre la talla en metros elevado al cuadrado, por lo que las unidades son Kg/m². La clasificación de sobrepeso y obesidad se realizó de acuerdo a la OMS. El índice de cintura cadera (ICC) se determinó dividiendo la circunferencia de la cintura en centímetros entre la circunferencia de la cadera en centímetros (WHO, 2018)

6.4.-PERFIL BIOQUÍMICO

La evaluación del perfil bioquímico se realizó mediante el equipo automatizado ADVIA 2000 que consistió en la determinación de las concentraciones séricas de glucosa, colesterol total, HDL, LDL, TGO, TGP y triglicéridos de acuerdo a las instrucciones de los kits utilizados. El método por el cual se realizó cada prueba se puede consultar en el anexo 1.

6.5.- EXTRACCION DE DNA

A los participantes se les tomaron 4 ml de sangre venosa con sistema de vacío en un tubo con EDTA para la extracción de DNA mediante la técnica modificada de Miller et. al fueron cuantificadas en el espectrofotómetro NanoDrop Lite se verificó la integridad mediante electroforesis en geles de agarosa al % 1.5 a 90V por 30 min y se realizaron diluciones a una concentración de 20ng/ul para el análisis de genotipificación (Anexo 2)

6.6.- GENOTIPIFICACIÓN

Para la genotipificación de SNPs se utilizó la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR)

Este proceso se realizó mediante el equipo *CFX96 Bio-Rad Real Time PCR System*™ y se utilizaron las sondas *Taqman*® SNP Genotyping assay rs4731702 (C__11422078_10) y rs972283 (C___7614445_10) para *KLF14* .por discriminación alélica (Anexo 6)

EL programa fue de 50°C por 120 seg 95°C por 10 min posteriormente 50 ciclos de desnaturalización 92°C por 15 seg y alineación 57°C por 1 min seguido de 60°C por 30 seg. Como control de calidad el 10% de las muestras fueron genotipificadas por duplicado

6.7.-ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los análisis estadísticos se realizaron con el software SPSS v21. Las pruebas de Shapiro–Wilkinson y Kolmogorov-Smirnov se utilizaron para determinar la distribución de las variables, en casos pertinentes se transformaron las variables por logaritmo para determinar si cumplían con la normalidad. Para comparar las variables bioquímicas y antropométricas se aplicó la prueba de Kruskal Wallis. Mediante la prueba exacta de Fisher se compararon las frecuencias alélicas. El equilibrio de Hardy – Weinberg se determinó por chi cuadrada.

Las correlaciones genotipo–fenotipo se llevaron a cabo mediante un análisis multivariante. La asociación entre los polimorfismos y la obesidad, RI y DT2 se llevó a cabo a través de una regresión logística multinomial. Tanto las correlaciones como las asociaciones se ajustaron por sexo, IMC y edad. Un valor de $P < 0.05$ se consideró como significativo.

7.-RESULTADOS

7.1.-DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

El total de sujetos captados fue de 394. De estos sujetos se registraron medidas antropométricas, se determinaron los parámetros bioquímicos y se llevó a cabo el estudio genético. De toda la muestra únicamente obtuvimos DNA de buena calidad de 358, a éstos se les realizó la genotipificación para identificar a los portadores de los polimorfismos rs4731702 y rs972283 del gen *KLF14*. Los sujetos captados fueron distribuidos en los cuatro grupos (Tabla 6).

Tabla 6. Distribución de los grupos en el estudio

Parámetro	Controles	Obesidad	RI	DT2
n=	22	38	68	229
n mujeres=224	17	22	40	145
n hombres =134	5	16	26	42

7.2.-RESULTADOS SOMATOMETRICOS Y BIOQUÍMICOS

En los datos somatométricos y bioquímicos de la población, encontramos las características generales de cada grupo. El grupo con obesidad presenta el mayor IMC y de ICC de los cuatro grupos. El grupo con RI tiene sobrepeso con alteraciones en la HbA1c y en el índice TyG característico de este trastorno, por último el grupo de DT2 al igual que los demás grupos presenta sobrepeso de acuerdo a su IMC e ICC y un aumento en la glucosa en ayuno al igual que en la HbA1c y en los triglicéridos como esperábamos. También es importante mencionar que en los grupos de RI y DT2 se presentaron valores más altos en las concentraciones de triglicéridos.

Tabla 7. Datos Somatométricos de la población participante del Hospital Juárez de México

Parámetro	Controles	Obesidad	RI	DT2
n=	22	38	68	229
Edad (años)	49 (42-57)	48 (41-55) c,d	56(48-63) ^b	54 (47-62) ^b
IMC (Kg/m ²)	28 (27-31) ^b	34 (28-37) a,c,d	29 (26-32) ^b	29 (26-33) ^b
Circunferencia de Cintura				
Mujeres (cm)	89(82-96) ^d	100 (93-107)	99(74-108)	104 (98-117) ^a
Hombres (cm)	96 (93-98)	104 (96-121)	103 (95-113)	103 (98-109)
ICC Mujeres	0.89(.83-.93) ^d	0.88 (0.84-.93) ^d	0.90(.83-.95) ^d	0.95 (0.90-1) ^{a,b,c}
ICC Hombres	1 (.94-1.0)	0.98 (0.94-1.05)	0.97 (.96-1.0)	1 (0.96-1.03)
Presión sistólica (mmHg)	120 (6-136)	125 (109-140)	120 (110-134)	128 (116-140)
Presión diastólica (mmHg)	76 (110-134) ^b	84 (77-90) ^a	80 (71-90)	80 (73-90)

a vs. controles; b vs obesidad; c vs RI; d vs Diabetes. Los datos se presentan medianas y percentiles (p25-p75). Las comparaciones se realizaron con la prueba de Kruskal Wallis de acuerdo a la distribución de los datos. En negritas se encuentran los datos estadísticamente significantes. Abreviaciones: IMC, índice de masa corporal; ICC, índice cintura cadera. a vs. Controles, b vs. Obesidad, c vs. RI, d vs. DT2 P>0.05

Tabla 8. Datos Bioquímicos de la población participante del Hospital Juárez de México

Parámetro	Controles	Obesidad	RI	DT2
Glucosa (mg/dL)	83(80-89)	90 (84-97) ^d	93(87-104) ^d	90 (84-97) ^{a,b,c}
HbAc1 (%)	5.4(5.2-5.6) ^{c,d}	5.7 (5.5-5.9) ^d	6.0(5.7-6.2) ^{a,d}	5.7 (5.5-5.9) ^{a,b,c}
Colesterol (mg/dL)	174(158-204)	174 (160-193)	181(154-208)	174 (160-193)
LDL (mg/dL)	124(85-139)	122 (105-132)	120(94-147)	122 (105-132)
HDL (mg/dL)				
mujeres	49(40-58)	37 (34-46)	47(40-58)	42 (35-47)
hombres	38 (35-47)	37 (34-46)	39 (33-44)	37 (35-47)
Triglicéridos (mg/dL)	138(112-162) ^d	144 (124-210)	151(109-192)	168 (128-237) ^a
TyG	8.6(8.4-8.9) ^d	8.8 (8.0 – 10.0) ^d	8.8(8.5-9.1) ^d	9.3 (9.0 – 10.0) ^{a,b,c}
Creatinina (mg/dL)				
mujeres	0.69(.064-0.84)	0.64 (0.58-0.73)	0.75(0.62-0.90) ^d	0.14 (0.59-0.80) ^c
Hombres	0.74 (.74-.81)	0.97 (0.87-1.10)	.92 (.73 – 1.0)	0.91 (0.80-1.03)
Nitrógeno ureico (mg/dL)	14(11-18)	13 (12-15) ^{d,c}	16(12-18) ^b	15 (12-17) ^b
Urea (mg/dL)	30(24-39)	28 (26-32) ^c	32(27-38) ^b	32 (26-36)
TGO (mg/dL)	21(10-27)	25 (23-34)	24(21-30)	26 (21-33)
TGP (mg/dL)	24(12-32)	35 (23-48)	28(21-43)	27 (19-40)

a vs. controles; b vs obesidad ; c vs RI; d vs Diabetes. Los datos se presentan como medianas y percentiles (p25-p75). Las comparaciones se realizaron con la prueba de Kruskal Wallis de acuerdo a la distribución de los datos. En negritas se encuentran los datos estadísticamente significantes. Abreviaciones: HbAc1, hemoglobina glicosilada; LDL, lipoproteínas de baja densidad; HDL, colesterol de alta densidad; TyG, índice triglicéridos glucosa; TGO, transaminasa oxalacética; TGP, transaminasa glutámico oxalacética. a vs. Controles, b vs. Obesidad, c vs. RI, d vs. DT2 P>0.05

7.3.-RESULTADOS GENETICOS

Para el rs4731702 en la tabla 10 muestran las frecuencias del alelo de riesgo (C) para los cuatro grupos de estudio (control, obesidad, RI y DT2). Las frecuencias alélicas para cada grupo fueron de 79.5% para el control, 61.9% para obesidad, 57.4% para RI y 59.6% para RI. En cuanto a el equilibrio de Hardy Weinberg todos los grupos se encuentran en equilibrio.

Con respecto a rs972283 se observaron las siguientes frecuencias para el alelo de riesgo (G): 65.9% para control, 64.5% para obesidad, 59.6% para RI y 60.0% para DT2; en este caso no todos los grupos se encuentran en equilibrio de Hardy – Weinberg, los grupos que no cumplieron el equilibrio fueron el control y el de DT2.

rs4731702		Control	Obesidad	RI	DT2
N		22	38	68	229
Genotipos	CC	14 (63.6)	14(36.8)	25(36.8)	85(37.1)
	CT	7(31.8)	19(50.0)	28 (41.2)	103(45.0)
	TT	1(4.5)	5(13.2)	15(22.1)	41(17.9)
Equilibrio de Hardy Weinberg		0.795	0.714	0.191	0.318
Alelos	C	35 (79.5)	47(61.9)	78 (57.4)	273(59.6)
	T	9(20.4)	29(38.1)	58 (42.6)	185(40.4)
rs972283		Control	Obesidad	RI	DT2
Genotipos	AA	2 (9.1)	4(10.5)	15(22.1)	43(18.8)
	AG	11 (50.0)	19(50.0)	25(36.8)	93(40.6)
	GG	9 (40.9)	15(39.5)	28(41.2)	93(40.6)
Equilibrio de Hardy Weinberg		0.037	0.645	0.205	0.025
Alelos	A	15(34.1)	27(35.5)	55(40.4)	179(39.0)
	G	29(65.9)	49(64.5)	81(59.6)	279(61.0)

7.4.-COMPARACION CON OTRAS POBLACIONES

Se realizó la comparación de las frecuencias alélicas obtenidas en población mexicana con las demás poblaciones del mundo. Como se puede observar las frecuencias observadas en la población mexicana no fueron diferentes de las presentes en poblaciones europea, asiática y africana.

Mientras que en la tabla 11, se realizó un análisis no paramétrico entre los genotipos y los valores de adiponectina entre los grupos de obesidad, RI y DT2, no se encontraron diferencias significativas

Tabla 10. Comparación de las frecuencias de la población mexicana y la población europea, asiática y africana de los polimorfismos rs4731702 y rs972283 de *KLF14*

Gen	SNP	Alelo	Población mexicana	Población europea	Población asiática	Población africana
KLF14	rs4731702	C	0.674	0.551	0.610	0.759
		T	0.326	0.449	0.390	0.241
	rs972283	A	0.372	0.439	0.370	0.307
		G	0.628	0.561	0.630	0.693

Se realizó chi cuadrada. Una $P < 0.05$ se consideró significativa de acuerdo a la población mexicana estudiada en el Hospital Juárez de México, los datos de las poblaciones europeas asiáticas y africanas se tomaron del proyecto 1000 Genomas.

Tabla 11. Valores de Adiponectina asociada al genotipo de las variantes de *KLF14*

rs4731702	n	Control	n	obesidad	n	Resistencia a la Insulina	n	Diabetes	p
CC	4	6.75(3.60-9.76)	10	9.36(6.56-10.46)	8	2.75(1.77-7.27)	6	9.49 (7.41-11.96)	0.078
CT	0	---	16	6.82(4.13-9.46)	6	5.65(5.23-8.25)	7	9.0 (6.81-10.36)	0.702
TT	1	2.18	4	8.05(5.53-11.83)	6	3.53(1.92-10.43)	3	8.39 (7.67-10.18)	0.555
<i>p</i>				0.235		0.374		0.813	

rs972283	n	Control	n	Obesidad	n	Resistencia a la insulina	n	Diabetes	p
AA	1	2.18	11	9.24(4.72-9.95)	10	4.54 (1.94-8.81)	7	8.39(7.18-10.36)	0.146
AG	2	9.76(6.89-8.86)	16	7.67(4.57-9.46)	5	5.23(4.11-5.69)	6	9.15(6.89-11.42)	0.220
GG	2	7.73(6.6-8.86)	3	10.43(8.26-12.04)	5	5.09 (1.92-10.43)	3	10.22(8.48-11.09)	0.512
<i>p</i>		0.301		0.453		0.965		0.959	

Se realizó un análisis no paramétrico entre grupos por genotipo, se utilizó la prueba de Kruskal Wallis y se consideró una $P < 0.05$.

7.5.-CORRELACIÓN ENTRE LOS PARÁMETROS BIOQUÍMICOS Y SOMATOMETRICOS CON LOS POLIMORFISMOS DEL GEN *KLF14*

Para evaluar el efecto de las variantes estudiadas sobre las características clínicas en toda la población se realizó un análisis comparativo mediante el modelo lineal general univariante de acuerdo a los modelos de herencias dominante, recesivo y aditivo. La variante rs4731702 presentó una correlación significativa con las concentraciones séricas de TGP en el grupo de Obesidad utilizando un modelo recesivo y con los valores de IMC en el grupo de RI con un modelo aditivo. Mientras que la variante rs972283 mostró una correlación significativa con los valores de IMC en el grupo de RI bajo un modelo dominante.

Tabla 12. Correlacion de genotipos y fenotipos en sujetos con **obesidad** para los polimorfismos rs4731702 y rs972283 en el gen *KLF14*

Obesidad	rs4731702			rs972283			
	RECESIVO	CT/TT(24)	CC(14)	P	AA/AG(23)	GG(15)	P
IMC (Kg/m ²)		34±5	35±7	0.493	34±6	34±6	0.810
Cintura (cm)		101(95-108)	106(92-113)	0.669	101(95-109)	106(92-113)	0.119
ICC		0.93(0.88-0.98)	0.96(0.86-1.01)	0.200	0.93(0.86-0.97)	0.97(0.88-1.01)	0.471
Presión sistólica(mmHg)		130(117-143)	118(109-137)	0.520	129(115-136)	126(111-142)	0.148
Presión diastólica(mmHg)		87±12	83±11	0.722	87±12	83±11	0.645
Glucosa (mg/dl)		91(86-96)	90(82-98)	0.509	91(83-93)	90(87-98)	0.978
HbA1c(%)		5.7(5.4-5.8)	5.8(5.6-6)	0.079	5.6±.35	5.8±.34	0.101
Colesterol (mg/dl)		182±48	179±22	0.744	176±34	188±48	0.485
TAG(mg/dl)		139(120-244)	153(127-210)	0.490	138(120-186)	160(130-216)	0.736
LDL(mg/dl)		125±39	120±25	0.885	121±33	126±36	0.420
HDL(mg/dl)		42±10	46±9	0.177	42±11	47±8	0.140
TYG(mg/dl)		9(8.5-9.3)	9(8.6-9)	0.515	8.8(8.5-9.1)	8.9(8.7-9.1)	0.942
TGO(mg/dl)		30±8	27±11	0.069	29±8	28±11	0.219
TGP(mg/dl)		39±16	32±13	0.025	37±16	35±13	0.420
Creatinina(mg/dl)		0.73(0.61-0.90)	0.79(0.71-0.95)	0.510	0.80±0.22	0.80±0.19	0.249
Urea(mg/dl)		29(26-32)	28(26-30)	0.377	29±10	29±3	0.804
Nitrógeno(mg/dl)		14±4	13±2	0.358	13±5	14±2	0.810

Se realizó un análisis univariante con una P<0.05. Los datos con una distribución normal se presentan como la media ± SD, los datos que no presentan una distribución normal se presentan en percentiles. En negrita se representan los parámetros estadísticamente significativos, bajo un modelo recesivo para las dos variantes. Covariables: IMC, edad, sexo.

Tabla 13. Asociación de genotipos y fenotipos en sujetos con **RI** para los polimorfismos rs4731702 y rs972283 del gen *KLF14*

RI	rs4731702			rs972283		
DOMINANTE	TT (15)	CT/CC (53)	P	AA (11)	GA/GG (37)	P
IMC (Kg/m ²)	31(29-36)	29(25-31)	0.015	30(28-36)	29(26-32)	0.021
Cintura (cm)	104 ± 9	102 ± 16	0.955	103±10	102±16	0.490
RCC	0.96(0.93-0.97)	0.96(0.90-0.98)	0.862	0.96(0.93-0.97)	0.95(0.90-0.98)	0.521
Presión sistólica (mmHg)	120 (117-136)	121 (114 – 135)	0.288	126±16	121±24	0.116
Presión diastólica (mmHg)	80 (78-88)	80 (73-90)	0.783	79±11	82±13	0.398
Glucosa (mg/dl)	96(90-103)	92(85-104)	0.296	96(89-99)	92(87-106)	0.669
HbA1 (%)	6 ± 0.26	6 ± 0.28	0.535	6±0.25	5.9±0.27	0.386
Colesterol (mg/dl)	174(156-183)	185(150--216)	0.261	172(154-178)	185(159-216)	0.105
TAG (mg/dl)	148 +- 63	175+-104	0.375	137±64	178±103	0.142
LDL (mg/dl)	119 +- 24	120+-36	0.437	117±26	120±36	0.400
HDL (mg/dl)	39 (34 – 49)	44 (39-54)	0.228	42(34-49)	46(39-54)	0.144
TYG (mg/dl)	8.6 (8.5 -9.0)	8.8 (8.4-9.2)	0.411	8.6(8.4-8.9)	8.8(8.5-9.2)	0.353
TGO (mg/dl)	24 (23-28)	24 (21-31)	0.974	24(23-28)	23(21-31)	0.853
TGP (mg/dl)	34 (26-45)	28 (20-43)	0.854	33±14	34±23	0.808
Creatinina (mg/dl)	0.87 +- 0.18	0.80 +- 0.19	0.345	0.83±0.16	0.82±0.20	0.710
Urea (mg/dl)	32+-6	34+-8	0.327	32±6	34±8	0.272
Nitrógeno (mg/dl)	15+-3	16+-4	0.204	15±3	16±4	0.209

Se realizó un análisis univariante con una P<0.05. Los datos con una distribución normal se presentan como la media ± SD, los datos que no presentan una distribución normal se presentan en percentiles. En negrita se representan los parámetros estadísticamente significativos, bajo un modelo dominante para las dos variantes. Covariables: IMC, edad, sexo.

Tabla 14. Asociación de genotipos y fenotipos en sujetos con **RI** en un modelo recesivo para los polimorfismos rs4731702 y rs972283 en el gen *KLF14*

RI	rs4731702			rs972283			
	RECESIVO	CT/TT (29)	CC (19)	P	AA/AG (28)	GG (20)	P
IMC (Kg/m ²)		30(28-34)	29(27-32)	0.981	30(28-34)	29(27-32)	0.336
Cintura (cm)		105±12	103±16	0.459	108±12	101±15	0.195
ICC		0.96(0.90-0.98)	0.96(0.91-0.98)	0.949	0.97(0.91-0.99)	0.95(0.91-0.97)	0.533
Presión sistólica (mmHg)		125±15	125±18	0.821	125±15	125±18	0.489
Presión diastólica (mmHg)		82±12	81±12	0.646	81±12	81±12	0.174
Glucosa (mg/dl)		96(90-104)	93(90-110)	0.964	96(90-104)	97(90-107)	0.550
HbA1 (%)		6±0.30	6±0.25	0.957	5.9±0.27	6±0.28	0.351
Colesterol (mg/dl)		183±31	182±60	0.748	182±31	184±58	0.757
TAG (mg/dl)		170±84	165±129	0.298	158±65	182.5±140	0.904
LDL (mg/dl)		121±26	128±40	0.268	121±27	127±40	0.610
HDL (mg/dl)		45(39-58)	44(36-54)	0.736	45±9	45±16	0.575
TYG (mg/dl)		8.8(8.5-9)	8.7(8.4-9.1)	0.146	8.8(8.5-9)	8.9(8.4-9.2)	0.947
TGO (mg/dl)		24±6.5	34±18	0.443	24±6	34±17	0.282
TGP (mg/dl)		32±17	42±33	0.655	30±14	44±34	0.222
Creatinina (mg/dl)		0.87±0.20	0.82±0.18	0.671	.82±.18	.88±.20	0.142
Urea (mg/dl)		31±7	33±7	0.720	31±7	34±7	0.749
Nitrógeno (mg/dl)		15±3.6	15±3.3	0.471	15±3.3	15±3.7	0.777

Se realizó un análisis univariante con una $P < 0.05$. Los datos con una distribución normal se presentan como la media \pm SD, los datos que no presentan una distribución normal se presentan en percentiles. En negrita se representan los parámetros estadísticamente significativos, bajo un modelo recesivo para las dos variantes

Tabla 15. Asociación de genotipos y fenotipos en sujetos con RI en un modelo aditivo para los polimorfismos rs4731702 y rs972283 en el gen *KLF14*

RI	rs4731702				rs972283			
	TT (11)	CT (18)	CC (19)	P	AA (11)	AG (17)	GG (20)	P
IMC (Kg/m ²)	34 ±9	30 ± 6	29 ± 5	0.028	33 ± 10	30 ± 6	29 ± 5	0.071
Cintura (cm)	108±8	104±14	103±16	0.717	108±9	107±14	101±15	0.386
ICC	0.96(0.95-0.97)	0.94(0.88-1)	0.96(0.91-.98)	0.985	0.96±0.02	0.94±0.14	0.94±0.05	0.825
Presión sistólica (mmHg)	127±14	124±17	125±18	0.555	126±13	124±18	125±18	0.223
Presión diastólica (mmHg)	84±11	79±13	81±12	0.787	84±11	80±14	81±12	0.245
Glucosa (mg/dl)	97(94-104)	94(88-106)	93(90-110)	0.528	96(91-103)	96(89-106)	97(90-107)	0.427
HbA1 (%)	6±0.26	5.9±0.32	6±0.25	0.777	6±0.25	5.9±0.29	6±0.28	0.444
Colesterol (mg/dl)	177(156-186)	193(150-202)	185(145-226)	0.360	176(154-183)	195(161-202)	185(149-227)	0.137
TAG (mg/dl)	151±60	182±95	165±129	0.194	136±62	171±65	183±140	0.374
LDL (mg/dl)	121(112-126)	130(94-149)	125(91-161)	0.513	116±27	125±27	127±40	0.447
HDL (mg/dl)	45±11	47±12	44±15	0.477	46±10	45±9	45±16	0.457
TYG (mg/dl)	8.8±0.39	8.7±0.76	8.7±0.74	0.089	8.6(8.5-8.8)	8.8(8.6-9.1)	8.9(8.4-9.2)	0.255
TGO (mg/dl)	25±5	24±8	34±18	0.695	25±4	23±7	34±17	0.445
TGP (mg/dl)	34(28—45)	24(19-33)	28(18-61)	0.834	33±15	28±14	44±34	0.367
Creatinina (mg/dl)	0.87±0.20	0.86±0.20	0.82±0.18	0.642	0.80±0.16	0.83±0.20	0.88±0.20	0.267
Urea (mg/dl)	31±6	32±8	33±7	0.620	30±6	32±8	34±7	0.453
Nitrógeno (mg/dl)	14±3	15±4	15±3	0.441	14±3	15±4	15±4	0.344

Se realizó un análisis univariante con una P<0.05. Los datos con una distribución normal se presentan como la media ± SD, los datos que no presentan una distribución normal se presentan en percentiles. En negrita se representan los parámetros estadísticamente significativos, bajo un modelo aditivo para las dos variantes

Tabla 16. Correlacion de genotipos y fenotipos en sujetos con **DT2** para los polimorfismos rs4731702 y rs972283 en el gen *KLF14*

Diabéticos	rs4731702			rs972283			
	RECESIVO	CT/TT (144)	CC (85)	P	AA/AG (136)	GG (93)	P
IMC (Kg/m ²)		30 (26-33)	29 (26-33)	0.838	29 (26-33)	29 (27-33)	0.709
Cintura (cm)		103 (98-114)	105 (100-114)	0.451	103 (98-114)	106 (101-114)	0.546
ICC		0.97 (0.93-1.02)	1.0 (.91-1.02)	0.560	0.97 (0.93-1.02)	0.98 (0.93-1.02)	0.463
Presión sistólica (mmHg)		130 (117-140)	123 (116-139)	0.815	130 (119-141)	120 (110-140)	0.108
Presión diastólica (mmHg)		80 (73-90)	80 (73-90)	0.645	80 (76-92)	80 (70-89)	0.068
Glucosa (mg/dl)		140 (113-191)	135(114-176)	0.965	137 (111-185)	136 (116-192)	0.349
HbA1 (%)		7.6 (6.6-9.2)	7.5(6.5-9.4)	1.000	7.6 (6.6-9.5)	7.5 (6.6-9)	0.992
Colesterol (mg/dl)		195 ± 41	190±41	0.750	193 ± 42	192 ± 40	0.625
TAG (mg/dl)		166 (129-256)	179(134-226)	0.917	176 (129-244)	168 (142-229)	0.725
LDL (mg/dl)		115 (97-138)	121(95-141)	0.225	115 (95-136)	121 (101-141)	0.226
HDL (mg/dl)		46 (41-56)	45(38-54)	0.636	49 ± 15	47 ± 12	0.508
TYG (mg/dl)		9.3 (8.9-9.8)	9.4(9.0-9.8)	0.106	9.3 (8.9 - 9.8)	9.4 (9-9.9)	0.041
TGO (mg/dl)		25 (20-32)	27(22-33)	0.662	25 (20-33)	27 (22-33)	0.381
TGP (mg/dl)		26 (18.5-40)	29(19-40)	0.460	24 (18-38)	30 (21-41)	0.092
Creatinina (mg/dl)		0.76 (0.60-0.90)	0.80(0.60-1.0)	0.775	0.80 (0.60-0.98)	0.75 (0.60-0.90)	0.388
Urea (mg/dl)		30 (26-36)	32 (26-38)	0.787	30 (26-36)	34 (26-38)	0.511
Nitrógeno (mg/dl)		14 (13-17)	15 (12-17)	0.645	15 (13-17)	15 (12-18)	0.981

Se realizó un análisis univariante con una P<0.05. Los datos con una distribución normal se presentan como la media ± SD, los datos que no presentan una distribución normal se presentan en percentiles. En negrita se representan los parámetros estadísticamente significativos, bajo un modelo recesivo para las dos variantes. Covariables: IMC, edad, sexo.

Tabla 17. Correlacion de genotipos y fenotipos en sujetos con **DT2** para los polimorfismos rs4731702 y rs972283 en el gen *KLF14*

Diabéticos	rs4731702				rs972283			
	TT (41)	CT (103)	CC (85)	P	AA (43)	AG (93)	GG (93)	P
IMC (Kg/m ²)	30 (26-33)	30 (26 - 33)	29 (26 - 33)	0.944	30 (26 - 33)	29(25-33)	29(27-34)	0.874
Cintura (cm)	104 (100-111)	103 (98 - 116)	105 (100 - 114)	0.440	102 (100 - 110)	103(97-117)	106(111-114)	0.450
RCC	0.97 (0.90-1.02)	0.98 (0.94 - 1.02)	1 (0.91 - 1.02)	0.553	0.94 (0.90 - 0.98)	0.98(0.94-1.02)	0.98(0.93-1.02)	0.425
Presión sistólica (mmHg)	132 (120-151)	130 (118 - 140)	124 (117 - 140)	0.659	131±20	131±19	126±19	0.262
Presión diastólica (mmHg)	82 (76-94)	80 (77 - 91)	80 (74-90)	0.589	80(77-90)	87(80-95)	80(73-90)	0.173
Glucosa (mg/dl)	140 (114-168)	139 (113-198)	135 (114 - 176)	0.633	140 (112-168)	137(111-207)	136(116-192)	0.324
HbA1 (%)	7.6 (6.6-9.5)	7.6 (6.7-9)	7.5 (6.5 - 9.4)	0.844	7.5 (6.8 - 8.7)	7.7(6.6-9.7)	7.5(6.6-9)	0.913
Colesterol (mg/dl)	194 ± 36	195 ± 43	191 ± 41	0.646	194 ± 30	194±46	192±40	0.611
TAG (mg/dl)	160 (132-259)	168 (129 - 244)	179 (134 - 226)	0.984	173 (138 - 234)	176(122-257)	168(142-229)	0.705
LDL (mg/dl)	117 (100-134)	114 (94 - 138)	121 (95 - 141)	0.475	117 (102 - 133)	114(88-137)	121(101-141)	0.480
HDL (mg/dl)	51.3 ± 16	48.3 ± 14	46.4 ± 12	0.402	49.8 ± 16	48.8±14	46.7±12	0.648
TYG (mg/dl)	9.2 (8.8 - 9.8)	9.3 (8.9 - 9.8)	9.4 (9.0 - 9.8)	0.088	9.2 (8.9 - 9.8)	9(8.9-9.8)	9.5(9-9.9)	0.107
TGO (mg/dl)	25 (21 - 31)	26 (21 - 33)	27 (22 - 33)	0.701	24 (22 - 30)	26(20-35)	27(22-33)	0.374
TGP (mg/dl)	27(21 - 37)	26 (19 - 42)	29 (20 - 40)	0.727	27 (20 - 40)	24(19-38)	31(21-42)	0.161
Creatinina (mg/dl)	14 (13 - 19)	15 (12 - 17)	15 (12 - 17)	0.847	14 (13 - 18)	15(13-17)	15(12-18)	0.923
Urea (mg/dl)	0.80 (0.70 - 0.90)	0.70 (0.60 - 0.90)	0.80 (0.60 - 1.0)	0.836	0.81 (0.68 - 0.92)	0.77(0.60-0.99)	0.75(0.60-0.90)	0.603
Nitrógeno (mg/dl)	30(28 - 41)	30 (26 - 36)	32 (26 - 38)	0.875	30 (27 - 36)	32(27-36)	32(26-38)	0.476

Se realizó un análisis univariante con una $P < 0.05$. Los datos con una distribución normal se presentan como la media \pm SD, los datos que no presentan una distribución normal se presentan en percentiles. En negrita se representan los parámetros estadísticamente significativos, bajo un modelo aditivo para las dos variantes. Covariables: IMC, edad, sexo.

7.6.-ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN DE LAS VARIANTES CON EL GRUPO CONTROL

Se llevó a cabo la asociación de los polimorfismos rs4731702 y rs972283 del gen *KLF14* con obesidad, RI y DT2. Se obtuvo una asociación del polimorfismo rs972283 con obesidad ($P = 0.057$) por el modelo dominante. Este mismo polimorfismo fue asociado con RI ($P = 0.030$) por un modelo dominante. El polimorfismo rs4731702 se asoció con DT2 por el modelo recesivo ($P = 0.013$).

Tabla 18. Análisis de asociación de las diferentes variantes en los polimorfismos rs4731702 y rs972283 del gen *KLF14* en el de **Obesidad** en un modelo dominante y recesivo

DOMINANTE		Frecuencia Alélica		P	OR IC 95%
SNP	Alelo	Control 23	Obesidad 38		
rs4731702	C	35 (79.5)	47(61.8)	0.382	0.355 (0.035-3.61)
	T	9 (20.4)	29(38.2)		
rs972283	A	15 (34.09)	27(35.5)	0.057	0.299 (0.087-1.034)
	G	29 (65.90)	49(64.5)		
RECESIVO					
rs4731702	C	35 (79.5)	47(61.8)	0.702	1.48 (0.198-11.07)
	T	9 (20.4)	29(38.2)		
rs972283	A	15 (34.09)	27(35.5)	0.602	0.719 (0.209-2.47)
	G	29 (65.90)	49(64.5)		

Los valores de P y OR fueron calculados a través de una regresión logística multinomial usando un modelo dominante y recesivo para ambas variantes con un ajuste del IMC edad y sexo. Resaltado en negritas se encuentran los alelos de riesgo asociados a Diabetes tipo 2.

Tabla 19. Análisis de asociación de las diferentes variantes en los polimorfismos rs4731702 y rs972283 del gen *KLF14* en el grupo de **RI** en un modelo dominante y recesivo

DOMINANTE		Frecuencia Alélica		P	OR IC 95%
SNP	Alelo	Control 23	RI 68		
rs4731702	C	35 (79.5)	78 (57.35)	0.102	0.164 (0.19-1.433)
	T	9 (20.4)	58 (42.64)		
rs972283	A	15 (34.09)	55 (40.44)	0.030	0.319 (0.113-0.897)
	G	29 (65.90)	81 (59.55)		
RECESIVO					
rs4731702	C	35 (79.5)	78 (57.35)	0.228	0.364 (0.070-1.88)
	T	9 (20.4)	58 (42.64)		
rs972283	A	15 (34.09)	55 (40.44)	0.801	1.139 (0.414-3.132)
	G	29 (65.90)	81 (59.55)		

Los valores de P y OR fueron calculados a través de una regresión logística multinomial usando un modelo dominante y recesivo para ambas variantes con un ajuste del IMC edad y sexo. Resaltado en negritas se encuentran los alelos de riesgo asociados a Diabetes tipo 2.

Tabla 20. Análisis de asociación de las diferentes variantes en los polimorfismos rs4731702 y rs972283 del gen *KLF14* en el grupo de **DT2** en un modelo dominante y recesivo

DOMINANTE		Frecuencia alélica		P	OR IC 95%
SNP	Alelo	Controles 22	Diabéticos 229		
rs4731702	C	35 (79.5)	273(59.6)	0.163	0.234 (0.030-1.802)
	T	9 (20.4)	185(49.4)		
rs972283	A	15 (34.09)	179(39.1)	0.273	0.432 (0.096-1.938)
	G	29 (65.90)	279(60.9)		
RECESIVO					
rs4731702	C	35 (79.5)	273(59.6)	0.013	0.312 (.124-.784)
	T	9 (20.4)	185(49.4)		
rs972283	A	15 (34.09)	179(39.1)	0.995	0.997 (.406-2.446)
	G	29 (65.90)	279(60.9)		

Los valores de P y OR fueron calculados a través de una regresión logística multinomial usando un modelo dominante y recesivo para ambas variantes con un ajustando por IMC, edad y sexo. Resaltado en negritas se encuentran los alelos de riesgo a Diabetes tipo 2.

8.-DISCUSIÓN

El aumento del tejido adiposo es una de las principales características de la obesidad que en conjunto con el aumento de la producción de citocinas proinflamatorias, son factores importantes en el desarrollo de RI que precede al desarrollo de DT2 (Ros Pérez & Medina-Gómez, 2011).

Actualmente en México el consumo de alimentos altos en azúcares y grasas y la falta de actividad física han aumentado considerablemente, estos son las principales causas en el desarrollo de obesidad. Sin embargo, también se ha observado la participación de los factores genéticos. (Dávila-Torres et al., 2015)

Durante la última década los estudios de asociación que analizan las variaciones del genoma presentes en las poblaciones humanas y comparan los resultados obtenidos en pacientes con Diabetes con aquellos obtenidos en personas sin la enfermedad, han podido identificar genes candidatos cuya variación puede influir en el riesgo a desarrollar Diabetes. Estas variantes identificadas explican únicamente una proporción de la variación de la enfermedad atribuida a factores genéticos, por lo que todavía quedan componentes por identificar (Billings & Florez, 2010).

En los últimos años se han asociado con DT2 genes que codifican para proteínas involucradas en la vía de señalización de leptina, insulina y en el metabolismo de lípidos (Sánchez-Pozos & Menjívar, 2016).

Hallazgos en estudios con poblaciones asiáticas y europeas demostraron que las variantes rs4731702 y rs972283 del gen *KLF14* están asociadas al desarrollo de obesidad y DT2, gen que codifica para el factor de transcripción del mismo nombre, implicado en la regulación de la expresión de genes involucrados en el metabolismo de las células del tejido adiposo, por lo que se decidió estudiar estos dos polimorfismos.

En las características generales de la población de acuerdo a sus datos somatométricos y bioquímicos (Tabla 7) encontramos que el grupo de obesidad representa una población más joven (48 años) y cuenta con un IMC mayor que el resto de los grupos (mediana de 34 Kg/m²), como lo esperábamos. Aunque el IMC nos indica el peso ideal de las personas de

acuerdo a su talla, esta medida siempre debe complementarse con el Índice cintura cadera (ICC) y la circunferencia de cintura, puesto que el IMC no distingue si el sobrepeso se debe a hipertrofia muscular fisiológica como es el caso de los deportistas o a un aumento de la grasa corporal. De acuerdo con esto podemos encontrar que la población de mujeres en general tiene un aumento de la grasa abdomin visceral lo cual podría representar un aumento en el riesgo cardiometabólico (Al, 2019).(Moreno González, 2010).

La presión arterial de los participantes se observó dentro de los valores normales de referencia (mediana de 120/80 mg/Hg), sin embargo, hay una diferencia significativa entre los grupos de obesidad, RI y DT2 esto puede deberse a que en el presente estudio el 26% de los participantes son hipertensos, de los cuales más de la mitad tenían DT2 (16%) y el resto presentaban obesidad (10%). Los principales factores de riesgo para presentar hipertensión arterial (HTA) son una mala alimentación y una vida sedentaria comúnmente presentados en personas con obesidad, y en personas con DT2, debido a las complicaciones macro y microvasculares (Campbell & Leiter, 2009).

Una de las principales características de las personas con DT2 es la glucosa en ayuno >126 mg/dl como se observa en la tabla 8 (mediana de 137mg/dl), y la hemoglobina glicosilada $> 6.5\%$ como se puede ver en la misma (mediana de 7.6%). De acuerdo con ADA estas dos pruebas son indicadores del control de las personas con esta enfermedad. Cuando se mide la fracción A1c, el valor de referencia de una persona sana debe oscilar entre 4-6%, mientras que en una persona con DT2 el objetivo es que se mantengan en 7% lo cual representaría una glucemia de 154mg/dl. En el caso del grupo con RI, los sujetos de este grupo debieron encontrarse con valores de Hb1Ac entre los 5.7-6.5% lo que equivaldría a 126 mg/dl (medianas de HbA1c : 6% y Glucosa: 93mg/dl) . En el grupo con obesidad no se encontraron alteraciones en estos parámetros (medianas de HbA1c 5.7% y Glu. 90 mg/dl) , de igual manera en el grupo control (medianas de HbA1c 5.4% y Glu. 85 mg/dl).(ADA, 2018; Calle, 2010).

Por otro lado para el diagnóstico de RI utilizamos los criterios indicados por la ADA en el que refiere una HbA1c $> 5.7\%$ y glucosa en ayuno >100 mg/dl y de manera confirmatoria utilizamos un marcador de RI como es el índice TyG en el que los valores > 8.8 pertenecen a personas con resistencia a la insulina como se observa en el grupo con esta característica al

igual que en el grupo de Obesidad y DT2, este grupo en particular también se ve influenciado por el aumento de triglicéridos (168 mg/dl) (Guerrero & Simental, 2010).

Tanto el nitrógeno ureico, la urea y la creatinina son indicadores de la función renal y estos se encuentran normales en todos los grupos. Por otro lado en RI hay una diferencia significativa en la creatinina en comparación con los demás grupos, investigaciones han demostrado que la insuficiencia renal crónica se puede presentar aun en los estadios más tempranos de la enfermedad lo que marcaría una diferencia entre grupos (Gorriz & Iranzo, 2008).

También se realizó la determinación de adiponectina (Tabla 11), hormona secretada principalmente por los adipocitos, cuya principal función es estimular la oxidación de ácidos grasos, reducir los triglicéridos plasmáticos y mejorar el metabolismo de la glucosa. Su concentración plasmática es elevada (5-30 ng/ml) y algunos estudios realizados con diferentes poblaciones han revelado que las concentraciones bajas de adiponectina pueden predecir de forma independiente el desarrollo futuro de RI (Rodríguez & Liseti, 2009). Es precisamente en el grupo con RI que se observa una disminución en la concentración de adiponectina, aunque es importante mencionar que ésta a diferencia de otras adipocitocinas, disminuye su expresión en el tejido adiposo al igual que su concentración plasmática en individuos con obesidad, dado que la adiponectina se estimula por la insulina y se inhibe por el TNF- α , por lo que es posible que esta sea la causa de la disminución en el grupo de RI, ya que además de sobrepeso, tienen alterada la glucosa en ayuno, lo que podría estar contribuyendo a la disminución de la adiponectina en este grupo (Rodríguez & Liseti, 2009).

El factor genético se evaluó a través de la presencia de dos polimorfismos rs4731702 y rs972283 en *KLF14* asociados al desarrollo de DT2 en población asiática, gen que codifica para el factor de transcripción con el mismo nombre, involucrado principalmente en la regulación de genes del tejido adiposo, y en las vías metabólicas asociadas, aunque se desconoce exactamente como las regula. La variante genética rs4731702 se ha visto asociada principalmente al aumento de las concentraciones de LDL y en DT2, mientras que la segunda variante en estudio rs972283, se ha visto implicada en reducir la expresión de los genes involucrados en la regulación de la insulina (Voight et al., 2010; J. Wang et al., 2014). En la tabla 9 se observa que ambas variantes tienen una mayor frecuencia en el alelo de

susceptibilidad en el grupo control, en comparación con lo demás grupos, esto puede deberse al tamaño de la muestra, por lo cual se debe aumentar la n (Lazcano, 2018). Aunque de acuerdo a los datos obtenidos por el proyecto 1000 Genomas, en Europa y África más del 50% de la población presentan estas variantes, mientras que en China y Japón es aproximadamente el 35% al igual que en la población mexicana, estos datos demuestran que la susceptibilidad puede estar ligada a un sexo y sólo a ciertas etnias, a pesar de esto no se han realizado los suficientes estudios que demuestren que estos SNPs estén asociados a una mayor susceptibilidad a DT2 en la población mexicana (Huang et al., 2013; Small et al., 2018).

El impacto de estas variantes en *KLF14* ha llevado a su estudio en poblaciones europeas, y de estos estudios se han asociado alrededor de 12 *loci* de susceptibilidad a DT2. De acuerdo a Smalls y col., rs972283 y rs4731702 de *KLF14*, el alelo de riesgo para ambas variantes está asociado con una mayor concentración de insulina en ayuno, lo que indica que el efecto primario sobre el riesgo de Diabetes está mediado por una disminución de la sensibilidad a la insulina,

Para determinar el efecto de las variantes en el fenotipo, se realizó un análisis comparativo mediante un modelo lineal general univariante con parámetros bioquímicos. En la tabla 12 del grupo con obesidad bajo un modelo recesivo se observó una correlación entre la concentración sérica de TGP y una ligera tendencia en la concentración de TGO con la variante rs4731702. Estos hallazgos concuerdan con el estudio realizado por Grey y col., donde *KLF14* está involucrado en la regulación de la gluconeogénesis, recordemos que TGO y TGP son enzimas utilizadas para la formación de oxalacetato lo cual posteriormente formara glucosa para aumentar sus niveles en sangre demostrando que no solo la presencia de factores ambientales causan las alteraciones en la glucosa sino que además podría haber un trasfondo genético involucrado (Gray et al., 2007).

En cuanto a la tabla 13 al grupo con RI tiene diferencias significativas en el IMC en ambas variantes de riesgo (C y G) bajo un modelo dominante, mientras que en la tabla 15, rs4731702 se encuentra también relacionado con el IMC en el modelo aditivo. En el estudio realizado por Smalls y col., se evidencia que las variantes genéticas de *KLF14* están involucradas en un aumento del tamaño de los adipocitos y en el desplazamiento de la grasa corporal de las

reservas ginoideas a la parte abdominal, lo que a su vez influye en el aumento de lípidos principalmente colesterol y triacilglicéridos. (Huang et al., 2013; Small et al., 2018).

Se llevó a cabo la asociación de las variantes con los factores de riesgo a DT2 (obesidad y RI) y con DT2, para estimar el riesgo de las variantes en los diferentes grupos estudiados y se observó una significancia estadística en el grupo con obesidad ($P= 0.057$) con el polimorfismo rs972283 de que este asociado a un factor de protección al igual que con el grupo con DT2 en un modelo recesivo ($P= 0.013$) con la variante rs4731702. Un estudio realizado por Kong y col. demuestra en sus resultados que el alelo G de rs972283 era protector en personas con DT2, estos hallazgos sugieren la importancia del gen *KLF14* en la modulación metabólica no obstante no observamos un fenotipo relacionado a esta variante muy probablemente por el tamaño de las muestras (Kong et al., 2015).

Mientras que en el grupo con RI hay una significancia estadística del polimorfismo rs972283 con el IMC ($P=0.030$) bajo un modelo dominante y con rs4731702 ($P= 0.013$) con un modelo recesivo, aunque los portadores no presentaron un aumento en el valor de IMC, Small y col. demostraron que *KLF14* esta involucrado en la regulación de la expresión de genes implicados en la morfología del tejido adiposo, si comparamos esto con los resultados de las pruebas bioquímicas en el que no hay un aumento de colesterol y triglicéridos pero hay un proceso de inflamación derivado de el sobrepeso que se presentan y los niveles bajos de adiponectina en este grupo podemos decir que es probable que sea una variante de protección y no de riesgo.

Finalmente, la presencia de polimorfismos asociados a obesidad, RI y DT2 demuestra la presencia de variantes genéticas de susceptibilidad en estos grupos, sin embargo, se sugiere ampliar y profundizar en la investigación así como aumentar el tamaño de muestras en los grupos.

9.-CONCLUSIONES

Para el presente estudio no se encontraron diferencias significativas entre las frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos rs4731702 y rs972283 entre los grupos de estudio (obesidad, resistencia a la insulina y Diabetes Tipo 2).

Sin embargo al realizar la correlación entre los parámetros bioquímicos con ambos polimorfismos (rs4731702 y rs972283) se presentó una asociación significativa con el índice de masa corporal y la alanina-aminotransferasa bajo un modelo recesivo en los grupos de obesidad y de resistencia a la insulina para rs972283; mientras que el SNP rs4731702 fue asociado con Diabetes Tipo 2 bajo un modelo recesivo.

Estos hallazgos, nos llevan a concluir que ambos polimorfismos en *KLF14* podrían estar implicados en la susceptibilidad a desarrollar Diabetes Tipo 2.

10.-REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ADA. (2018). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 27 Suppl 1(suppl 1), S5–S10. <https://doi.org/10.2337/diacare.27.2007.s5>
- Al, M. (2019). Body composition changes in diabetes and aging. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 33(6), 451–459. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2019.03.007>
- Albero, R., Sanz, A., & Playán, J. (2004). Metabolismo en el ayuno. *Endocrinología y Nutrición*, 51(4), 139–148. [https://doi.org/10.1016/S1575-0922\(04\)74599-4](https://doi.org/10.1016/S1575-0922(04)74599-4)
- Alejandro Castillo Barcias, J. (2014). *Fisiopatología de la diabetes mellitus tipo 2 (DM2)*. Retrieved from https://www.endocrino.org.co/wp-content/uploads/2015/10/Fisiopatologia_de_la_Diabetes_Mellitus_Tipo_2_J_Castillo.pdf
- Awad, A. (2002). History of Diabetes Mellitus. *Medical Journal*, 23. Retrieved from https://www.researchgate.net/profile/Awad_Ahmed/publication/291274449_history_of_diabetes_mellitus/links/569f37b808aee4d26ad06c05/history-of-diabetes-mellitus.pdf
- Beagley, J., Guariguata, L., Weil, C., & Motala, A. A. (2014). Global estimates of undiagnosed diabetes in adults. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 103(2), 150–160. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2013.11.001>
- Bello, O., Rojas, R., Aguilar, C. A., & Hernández, M. (2017). Epidemiology of diabetes mellitus in Mexico. *Nutrition Reviews*, 75(suppl 1), 4–12. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuw030>
- Best, C. H., Taylor, N. B., Dvorkin, M. A., Cardinali, D. P., & Iermoli, R. H. (2011). *Best & Taylor bases fisiológicas de la práctica médica*. Médica Panamericana.
- Billings, L. K., & Florez, J. C. (2010). The genetics of type 2 diabetes: What have we learned from GWAS? *Annals of the New York Academy of Sciences*. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05838.x>
- Brandan, N., Llanos, I., & Miño, C. (2011). Hormonas Pancreaticas. *Catedra Bioquímica - Facultad de Medicina UNNE*. Retrieved from <https://med.unne.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/Carrera-Medicina/BIOQUIMICA/hpancreas.pdf>
- Calle, J. (2010). El papel de la hemoglobina glucosilada. Retrieved from <https://www.fundaciondiabetes.org/general/articulo/100/el-papel-de-la-hemoglobina->

glucosilada

- Campbell, N., & Leiter, L. (2009). Hypertension in diabetes: A call to action. *Canadian Journal of Cardiology*, 25(5), 299–302. [https://doi.org/10.1016/S0828-282X\(09\)70493-3](https://doi.org/10.1016/S0828-282X(09)70493-3)
- Carrasco, F. (2013). Síndrome De Resistencia a La Insulin Resistance Syndrome : Diagnosis and Management, 24(5), 827–837.
- Carrasco, F., Galgani, J., & Reyes, M. (2013). Síndrome de resistencia a la insulina. estudio y manejo. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 24(5), 827–837. [https://doi.org/10.1016/s0716-8640\(13\)70230-x](https://doi.org/10.1016/s0716-8640(13)70230-x)
- CDC. (2017). Informe nacional de estadísticas de la diabetes. *National Center for Chronic Disease*, 1–20.
- Dávila-Torres, J., González-Izquierdo, J., & Barrera-Cruz, A. (2015). Panorama de la obesidad en México. *Revista Médica Del Instituto Mexicano Del Seguro Social*, 53(2), 240–249.
- Daza, C. H. (2002). La obesidad: un desorden metabólico de alto riesgo para la salud. *Colombia Médica*.
- DeFronzo, R. A., Tobin, J. D., & Andres, R. (2012). Glucose clamp technique: A method for quantifying insulin secretion and resistance. *American Journal of Physiology Endocrinology Metabolism and Gastrointestinal Physiology*, 6(3). <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1979.237.3.e214>
- DeFronzo, R., & Ferrannini, E. (2015). Regulation of Intermediary Metabolism During Fasting and Feeding | Clinical Gate. *Endocrinology Diabetes and Metabolism*. Retrieved from <https://clinicalgate.com/regulation-of-intermediary-metabolism-during-fasting-and-feeding/>
- Elissondo, N., & Rosso, L. G. (n.d.). *Bioquímica Clínica Actualización Adiponectina: una adipocitoquina con múltiples funciones protectoras* Adiponectin: an adipocytokine with multiple protective functions*.
- ENSANUT. (2016). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. *Encuesta Nacional de Salud Publica y Nutricion*. Retrieved from http://oment.uanl.mx/wp-content/uploads/2016/12/ensanut_mc_2016-310oct.pdf
- EXPASY. (2018). SWISS-MODEL | Q8TD94. Retrieved November 19, 2019, from <https://swissmodel.expasy.org/repository/uniprot/Q8TD94?csm=D77A87CA6C61C4B3>

- FDI. (2017). *Diabetes Atlas. Federación Internacional de Diabetes* (Vol. 8). <https://doi.org/2-930229-80-2>
- Galgani, J. E., Moro, C., & Ravussin, E. (2008). Metabolic flexibility and insulin resistance. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 295(5), E1009-17. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.90558.2008>
- Goeddel, D. V., Kleid, D. G., & Bolivar, F. (1979). Expression in *Escherichia coli* of chemically synthesized genes for human insulin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 76(1), 106–110. <https://doi.org/10.1073/pnas.76.1.106>
- Gómez, C. (2014). Estrategia mundial sobre régimen alimentario, actividad física y salud. In *Nutricion Clinica y Dietetica Hospitalaria*.
- Gómez, E. S. (2014). Historia de la diabetes. *Enciclopedia Medicas*. <https://doi.org/10.1016/j.angio.2014.05.001>
- Gorritz, J., & Iranzo, M. (2008). Tratamiento de la hipertensión arterial en la diabetes mellitus Tipo 2 | Nefrología, 1–55. Retrieved from <https://www.revistanefrologia.com/es-tratamiento-hipertension-arterial-diabetes-mellitus-tipo-2-articulo-X188897000800010X>
- Gray, S., Wang, B., Orihuela, Y., Hong, E. G., Fisch, S., Haldar, S., ... Jain, M. K. (2007). Regulation of Gluconeogenesis by Krüppel-like Factor 15. *Cell Metabolism*, 5(4), 305–312. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2007.03.002>
- Guerrero, F., & Simental, L. E. (2010). The product of triglycerides and glucose, a simple measure of insulin sensitivity. Comparison with the euglycemic-hyperinsulinemic clamp. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 95(7), 3347–3351. <https://doi.org/10.1210/jc.2010-0288>
- Guo, Y., Fan, Y., Zhang, J., Lomber, G. A., Zhou, Z., Sun, L., ... Chen, Y. E. (2015). Perhexiline activates KLF14 and reduces atherosclerosis by modulating ApoA-I production. *The Journal of Clinical Investigation*, 125(10), 3819–3830. <https://doi.org/10.1172/JCI79048>
- Gutiérrez-Rodelo, C., Roura-Guiberna, A., & Olivares-Reyes, J. A. (2017). Mecanismos moleculares de la resistencia a la insulina: Una actualización. *Gaceta Medica de Mexico*, 153(2), 214–228. Retrieved from <http://www.idf.org>
- Hebebrand, J., & Friedel, S. (2013). Perspectives: molecular genetic research in human obesity. *Obesity Reviews : An Official Journal of the International Association for the Study of*

- Obesity*, 4(3), 139–146. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12916815>
- Hernández-Ávila, M., Gutiérrez, J. P., & Reynoso-Noverón, N. (2013). [Diabetes mellitus in Mexico. Status of the epidemic]. *Salud Pública de México*.
<https://doi.org/10.21149/spm.v55s2.5108>
- Hernández-Cordero, S., Cuevas-Nasu, L., Morán-Ruán, M. C., Méndez-Gómez Humarán, I., Ávila-Arcos, M. A., & Rivera-Dommarco, J. A. (2017). Overweight and obesity in Mexican children and adolescents during the last 25 years. *Nutrition & Diabetes*.
<https://doi.org/10.1038/nutd.2016.52>
- Hershel, R., & Levizky, M. (2013). *Fisiología médica, un enfoque por aparatos y sistemas* (1st ed.). McGraw-Hill.
- Hiriart, M., & Vidaltamayo, R. (2002). Cuestion de hormonas : El papel de las hormonas del páncreas en la salud y en la diabetes. *Revistaciencia*. Retrieved from
https://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/53_3/cuestion_hormonas.pdf
- Huang, P., Yin, R. X., Huang, K. K., Zeng, X. N., Guo, T., Lin, Q. Z., ... Pan, S. L. (2013). Association of the KLF14 rs4731702 SNP and serum lipid levels in the Guangxi Mulao and Han Populations. *BioMed Research International*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/231515>
- Hubbard, S. R. (2007). Crystal structure of the activated insulin receptor tyrosine kinase in complex with peptide substrate and ATP analog. *EMBO Journal*, 16(18), 5572–5581.
<https://doi.org/10.1093/emboj/16.18.5572>
- Imamura, F., O'Connor, L., Ye, Z., Mursu, J., Hayashino, Y., Bhupathiraju, S. N., & Forouhi, N. G. (2015). Consumption of sugar sweetened beverages, artificially sweetened beverages, and fruit juice and incidence of type 2 diabetes: systematic review, meta-analysis, and estimation of population attributable fraction. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 351, h3576. Retrieved from
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26199070>
- INEGI. (2017). ESTADÍSTICAS A PROPÓSITO DEL DÍA MUNDIAL DE LA POBLACIÓN (11 DE JULIO) DATOS NACIONALES. *Instituto Nacional de Estadística y Geografía*. Retrieved from http://www.conapo.gob.mx/es/CONAPO/Proyecciones_Datos.
- Jácome Roca, A., & Academia Nacional de Medicina de Colombia. (2005). *Fisiología endocrina*. Academia Nacional de Medicina.
- Javier, F., & Sarmiento, P. (2016). La obesidad en la niñez, 352–387.

- Jensen, M., & De Meyts, P. (2009). Molecular Mechanisms of Differential Intracellular Signaling From the Insulin Receptor. *Vitamins and Hormones*. [https://doi.org/10.1016/S0083-6729\(08\)00603-1](https://doi.org/10.1016/S0083-6729(08)00603-1)
- Knowler, W. C., Pettitt, D. J., Saad, M. F., & Bennett, P. H. (1990). Diabetes mellitus in the Pima Indians: incidence, risk factors and pathogenesis. *Diabetes/Metabolism Reviews*, 6(1), 1–27. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2192853>
- Kong, X., Zhang, X., Xing, X., Zhang, B., Hong, J., & Yang, W. (2015). The association of type 2 diabetes loci identified in genome-wide association studies with metabolic syndrome and its components in a Chinese population with type 2 diabetes. *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143607>
- Koolman, J., & Röhm, K.-H. (2012). *Bioquímica humana : texto y atlas*. Médica Panamericana. Retrieved from <https://books.google.com.mx/books?id=QUCtGAAAJ&dq=koolman&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwio1s-m7JDIAhVJQq0KHW-8AUwQ6AEINDAB>
- Kumanyika, S. (2018). The sociocultural context for obesity prevention and treatment in children and adolescents: influences of ethnicity and gender. *Pediatric Obesity. Contemporary Endocrinology*. Retrieved from https://doi.org/10.1007/978-3-319-68192-4_40
- Lazcano, E. (2018). Estudios epidemiológicos de casos y controles. Retrieved from <http://saludpublica.mx/index.php/spm/article/view/6302/7560>
- Lobstein, T., Baur, L. a, & Uauy, R. (2004). Obesity in children and young people: A crisis in public health. *Obesity Reviews*. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2004.00133.x>
- López, C., & Maselli, M. (2009). *INFLUENCIA DE LA LEPTINA Y LA ADIPONECTINA SOBRE EL CÁNCER DE PRÓSTATA @ CORRESPONDENCIA*. *Urología Experimental e Investigación Arch. Esp. Urol* (Vol. 62).
- Manning, B. D., & Cantley, L. C. (2007, June 29). AKT/PKB Signaling: Navigating Downstream. *Cell*. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.06.009>
- Manuel Moreno, G. (2012). Definición y clasificación de la obesidad. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 23(2), 124–128. [https://doi.org/10.1016/S0716-8640\(12\)70288-2](https://doi.org/10.1016/S0716-8640(12)70288-2)
- Marchat L, Z. A. (Escuela P. de M. y H. (2007). De la obesidad y su origen: genes y ambiente. *La Casa Del Tiempo*, 99, 62–67. Retrieved from

http://www.uam.mx/difusion/casadeltiempo/99_may_jun_2007/casa_del_tiempo_num99_62_67.pdf

Mitchell, N. S., Catenacci, V. A., Wyatt, H. R., & Hill, J. O. (2011). Obesity: Overview of an Epidemic. *Psychiatric Clinics of North America*, 34(4), 717–732.

<https://doi.org/10.1016/j.psc.2011.08.005>

Moreno González, M. I. (2010). Circunferencia de cintura: una medición importante y útil del riesgo cardiometabólico. *Revista Chilena de Cardiología*. <https://doi.org/10.4067/s0718-85602010000100008>

Moro, C., Bajpeyi, S., & Smith, S. R. (2008). Determinants of intramyocellular triglyceride turnover: implications for insulin sensitivity. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 294(2), E203–E213. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00624.2007>

Muniyappa, R., Lee, S., Chen, H., & Quon, M. J. (2008, January). Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: Advantages, limitations, and appropriate usage. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*.

<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00645.2007>

Murray, R. K., & Harper, H. A. (2009). *Harper, Bioquímica ilustrada*. McGraw-Hill. Retrieved from

<https://books.google.com.mx/books?id=aDhkcgAACAAJ&dq=bioquimica+de+harper&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwje0Kb46pDIAhVDb60KHY85B7MQ6AEISjAF>

NCBI. (2018). KLF14 Kruppel como factor 14 [Homo sapiens (humano)]. Retrieved November 19, 2019, from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/136259>

Oishi, Y., & Manabe, I. (2018). Krüppel-Like Factors in Metabolic Homeostasis and Cardiometabolic Disease. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 5, 69.

<https://doi.org/10.3389/fcvm.2018.00069>

Olsson, A. H., Volkov, P., Bacos, K., Dayeh, T., Hall, E., Nilsson, E. A., ... Ling, C. (2014).

Genome-wide associations between genetic and epigenetic variation influence mRNA expression and insulin secretion in human pancreatic islets. *PLoS Genetics*, 10(11), e1004735.

<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004735>

Pacheco, D. (2004). *Bioquímica Humana* (Limusa). Mexico.

Pacheco, F. (2007). Estado postprandial y estado postabsortivo. Retrieved November 19, 2019,

from <http://163.178.103.176/Fisiologia/fendocrino/ejercicios/ejercicio6/planzer467.jpg>

- Parker, L., & Carson, A. R. (2007). Identification of the Imprinted KLF14 Transcription Factor Undergoing Human-Specific Accelerated Evolution. *PLoS Genetics*, 3(5), e65. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0030065>
- Pierce, B. (2016). *Genetica, Un enfoque conceptual*. Medica Panamericana.
- Pollak C., F. (2016). RESISTENCIA A LA INSULINA: VERDADES Y CONTROVERSIAS. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 27(2), 171–178. <https://doi.org/10.1016/j.rmclc.2016.04.006>
- Pollak, N. M., Hoffman, M., Goldberg, I. J., & Drosatos, K. (2018). Krüppel-Like Factors: Crippling and Uncrippling Metabolic Pathways. *JACC: Basic to Translational Science*. <https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2017.09.001>
- Porter, M. D. (2003). PUSKA World Health Organization. Retrieved from http://www.who.int/dietphysicalactivity/media/en/gsfes_obesity.pdf
- Prosdocimo, D. A., Sabeh, M. K., & Jain, M. K. (2015). Kruppel-like factors in muscle health and disease. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 25(4), 278–287. <https://doi.org/10.1016/j.tcm.2014.11.006>
- Ramírez-Domínguez, M. (2016). Historical Background of Pancreatic Islet Isolation (pp. 1–9). Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-39824-2_1
- Reaven, G. M. (2005). Compensatory hyperinsulinemia and the development of an atherogenic lipoprotein profile: The price paid to maintain glucose homeostasis in insulin-resistant individuals. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*. W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2004.12.001>
- Revollo, A. (2015). Fisiología de la secreción de insulina y glucagón. *Asociación Colombiana de Endocrinología*. Retrieved from https://www.endocrino.org.co/wp-content/uploads/2015/10/Fisiologia_de_la_Secrecion_de_Insulina_AJ_Fortich.pdf
- Rodríguez, D., & Liseti, R. (2009). Adiponectina, insulina y glicemia, en individuos con sobrepeso u obesidad sometidos a un régimen de alimentación rico en carbohidratos complejos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 59(3), 296–303. Retrieved from <https://www.alanrevista.org/ediciones/2009/3/art-10/>

- Roglic, G., & Unwin, N. (2015). Mortality attributable to diabetes: Estimates for the year 2010. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 87(1), 15–19.
<https://doi.org/10.1016/J.DIABRES.2009.10.006>
- Ros Pérez, M., & Medina-Gómez, G. (2011). Obesidad, adipogénesis y resistencia a la insulina. *Endocrinología y Nutrición*, 58(7), 360–369. <https://doi.org/10.1016/j.endonu.2011.05.008>
- Rothman, D. L., Magnusson, I., Katz, L. D., Shulman, R. G., & Shulman, G. I. (2013). Quantitation of hepatic glycogenolysis and gluconeogenesis in fasting humans with ¹³C NMR. *Science (New York, N.Y.)*, 254(5031), 573–576. <https://doi.org/10.1126/science.1948033>
- Saenko, V. A., & Rogounovitch, T. I. (2018). Genetic Polymorphism Predisposing to Differentiated Thyroid Cancer: A Review of Major Findings of the Genome-Wide Association Studies. *Endocrinology and Metabolism (Seoul, Korea)*, 33(2), 164–174.
<https://doi.org/10.3803/EnM.2018.33.2.164>
- Sánchez-Pozos, K., & Menjívar, M. (2016, October 1). Genetic Component of Type 2 Diabetes in a Mexican Population. *Archives of Medical Research*. Elsevier Inc.
<https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2016.12.007>
- Small, K. S., Todorčević, M., Civelek, M., El-Sayed Moustafa, J. S., Wang, X., Simon, M. M., ... McCarthy, M. I. (2018). Regulatory variants at KLF14 influence type 2 diabetes risk via a female-specific effect on adipocyte size and body composition. *Nature Genetics*, 50(4), 572–580. <https://doi.org/10.1038/s41588-018-0088-x>
- Solórzano-Santos, F., & Miranda-Navales, M. G. (2009). Boletín Médico del Hospital Infantil de México. *Boletín Médico Del Hospital Infantil de México*.
- SS, H., & Bloom, S. (2011). The pharmacological treatment and management of obesity. *Postgrade Med*.
- Strachan, T. (2008). *Genetica Humana*. McGraw-Hill.
- Suárez, W., Sánchez, A. J., & González, J. A. (2017). Fisiopatología de la obesidad: Perspectiva actual. *Revista Chilena de Nutricion*, 44(3), 226–233. <https://doi.org/10.4067/s0717-75182017000300226>
- Tortora, G., & Derrickson, B. (2012). *Principios de Anatomía y Fisiología* (13th ed., Vol. 66). nueva jersey: Medica Panamericana.

- Turnes, A. L. (2007). *INTRODUCCIÓN A LA HISTORIA DE LA DIABETES MELLITUS, DESDE LA ANTIGÜEDAD HASTA LA ERA PRE-INSULÍNICA*. uruguay. Retrieved from http://www.iqb.es/d_mellitus/historia/h01.htm
- Unger, G., Benozzi, S. F., Perruzza, F., & Pennacchiotti, G. L. (2014). Índice triglicéridos y glucosa: Un indicador útil de insulinoresistencia. *Endocrinología y Nutrición*, *61*(10), 533–540. <https://doi.org/10.1016/j.endonu.2014.06.009>
- Valdespino-gómez, V. M., & Margarita, P. (2015). Organización estructural y funcional del genoma humano : variación en el número de copias predisponentes de enfermedades degenerativas, *12*(6), 426–432.
- Vasques, A., Novaes, F., de Oliveira, M., Matos Souza, J., Yamanaka, A., & Pareja, J. C. (2011). TyG index performs better than HOMA in a Brazilian population: A hyperglycemic clamp validated study. *Diabetes Research and Clinical Practice*, *93*(3). <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2011.05.030>
- Voight, B. F., Scott, L. J., Steinthorsdottir, V., Morris, A. P., Dina, C., Welch, R. P., ... McCarthy, M. I. (2010). Twelve type 2 diabetes susceptibility loci identified through large-scale association analysis. *Nature Genetics*, *42*(7), 579–589. <https://doi.org/10.1038/ng.609>
- Waalén, J. (2014). The genetics of human obesity. *Translational Research*, *164*(4), 293–301. <https://doi.org/10.1016/J.TRSL.2014.05.010>
- Wang, J., Zhang, J., Shen, J., Hu, D., Yan, G., Liu, X., ... Sun, C. (2014). Association of KCNQ1 and KLF14 polymorphisms and risk of type 2 diabetes mellitus: A global meta-analysis. *Human Immunology*, *75*(4), 342–347. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2014.01.008>
- Wang, L., Tong, X., Gu, F., Zhang, L., Chen, W., Cheng, X., ... Zhang, H. (2017). The KLF14 transcription factor regulates hepatic gluconeogenesis in mice. *Journal of Biological Chemistry*, *292*(52), 21631–21642. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA117.000184>
- Weyer, C., Bogardus, C., Mott, D. M., & Pratley, R. E. (2012). The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *The Journal of Clinical Investigation*. <https://doi.org/10.1172/jci7231>
- White, M. F. (2003, December 6). Insulin Signaling in Health and Disease. *Science*. <https://doi.org/10.1126/science.1092952>
- WHO. (2018). Diabetes.

You, W.-P., & Henneberg, M. (2016). Type 1 diabetes prevalence increasing globally and regionally: the role of natural selection and life expectancy at birth. *BMJ Open Diabetes Research & Care*, *4*(1), e000161. <https://doi.org/10.1136/bmjdr-2015-000161>

Zheng, Y., Ley, S. H., & Hu, F. B. (2018). Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nature Reviews Endocrinology*, *14*(2), 88–98. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.151>

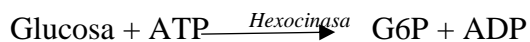
ANEXO 1

Determinaciones Bioquímicas del equipo ADVIA 2000

a) Determinación Glucosa

El sistema ADVIA chemistry usa un reactivo de dos componentes. La muestra se añade al reactivo 1 que contiene ATP y NAD. Se anotan las lecturas de las absorbancias de la muestra y se utiliza como corrección por las sustancias interferentes en la muestra. Se añade el reactivo 2 que inicia la conversión de glucosa y el desarrollo de la muestra a 340nm. La diferencia de concentraciones es proporcional a la concentración de glucosa

Ecuación de la reacción



b) Determinación de HbA1

Para medir la HbA1c se usa un análisis de inhibición de la aglutinación en látex. Una segunda proteínasa en el reactivo hidroliza aún más la muestra de HbA1c en un glucopentapeptido que compite con el aglutinador para el anticuerpo HbA1c de manera que se reduce la velocidad de aglutinación y se lee a 694nm

c) Determinación de Colesterol Total

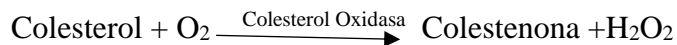
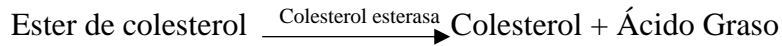
La colesterol esterasa hidroliza los esteres para originar colesterol libre y ácidos grasos. El colesterol libre preformado se oxida en presencia de la colesterol oxidasa para dar colest-4-en-3-ona y peróxido de hidrogeno. Se produce quinoaminina la cual se lee a 500nm y se obtiene cuando el fenol se acopla oxidativamente con 4 aminofenazona en presencia de peroxidasa con peróxido de hidrogeno. La intensidad del color rojo final es proporcional a la concentración de colesterol



d) Determinación de Colesterol HDL

El método consta de 2 etapas

La primera es la eliminación de los quilomicrones colesterol VLDL y LDL mediante la colesterol-esterasas y colesterol oxidasa



La segunda etapa es la medición específica del colesterol HDL tras su liberación por la acción de la azida sódica. La intensidad del colorante quinoneimina producido por la reacción de Trinder es proporcional a la concentración de colesterol en la muestra determinada a 596 nm.

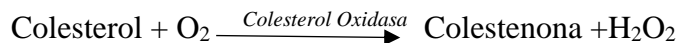
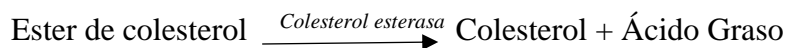


HDAOS: N-(2hidroxi-3-sulfopropil)-3-5-dimetoaxianilina

e) Determinación de Colesterol LDL

El método consta de 2 etapas

La primera es la eliminación de los quilomicrones colesterol VLDL y LDL mediante la colesterol-esterasas y colesterol oxidasa



La segunda etapa es la medición específica del colesterol HDL tras su liberación por la acción de la azida sódica. La intensidad del colorante quinoneimina producido por la reacción de Trinder es proporcional a la concentración de colesterol en la muestra determinada a 596 nm.

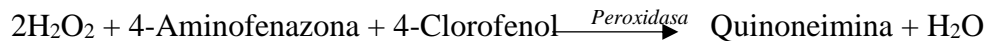
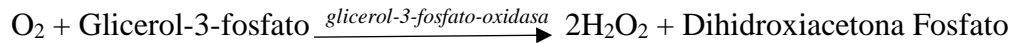


TOOS: N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-metilanilina

f) Determinación de Triacilgliceridos

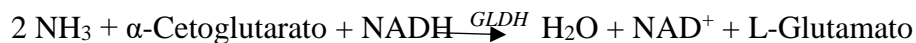
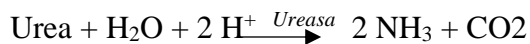
Los triacilgliceridos se transforman en glicerol y ácidos grasos libres por acción de la lipasa. A continuación el glicerol se transforma en glicerol 3 fosfato por la glicerol-cinasa y después

en peróxido de hidrogeno por la acción de la glicerol 3 fosfato oxidasa bajo la acción de la peroxidasa se forma un complejo coloreado la 4-aminofenazona y 4 clorofenol y se lee a 694 nm.



g) Determinación de Urea

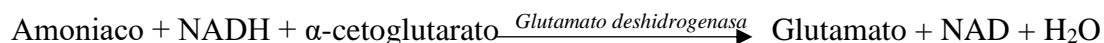
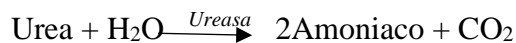
La ureasa cataliza la hidrólisis de la urea, presente en la muestra, en amoníaco (NH₃) y anhídrido carbónico (CO₂). El amoníaco formado se incorporan al α-cetoglutarato por acción de la glutamato deshidrogenasa (GLDH) con oxidación paralela de NADH a NAD⁺ :



La disminución de la concentración de NAD⁺ en el medio es proporcional a la concentración de urea de la muestra.

h) Determinación de Nitrógeno Ureico

La urea se hidroliza en presencia de agua y ureasa para producir amoniaco y dióxido de carbono, el amoniaco reacciona con 2 oxoglutarato en presencia de glutamato-deshidrogenasa y NADH, La oxidación del NADH a NAD se lee a 410nm



i) Determinación de Creatinina

La determinación de creatinina está basado en la reacción descrito por Jaffé. La creatinina reacciona con el picrato alcalino formando un complejo rojizo. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de creatinina en la muestra

j) Determinación de ALT

La reacción se inicia mediante la adición de α -cetoglutarato y la concentración de NADH se mide por su absorbancia a 410nm; la velocidad de la disminución de la absorbancia es proporcional a la actividad de ALT

ALT+P5P \rightarrow ALT activada

L-alanina + α -cetoglutarato \xrightarrow{ALT} Piruvato + L-glutamato

Piruvato + NADH $\xrightarrow{\text{Lactato deshidrogenasa}}$ Lactato + NAD

k) Determinación de AST

La reacción se inicia mediante la adición de α -cetoglutarato y la concentración de NADH se mide por su absorbancia a 410nm; la velocidad de la disminución de la absorbancia es proporcional a la actividad de AST

L-aspartato + α -cetoglutarato \xrightarrow{AST} Oxalacetato + L-glutamato

Oxalacetato + NADH $\xrightarrow{\text{Malato deshidrogenasa}}$ Malato + NAD

ANEXO 2

Extracción de DNA

El DNA se extrajo mediante una técnica estándar modificada por precipitación de sales de Miller y Co. A partir de leucocitos en sangre periférica

Se colocaron 3 ml de sangre periférica en un tubo falcón de 15 ml se les añadió 6.5 ml de sacarosa tritón 2x y se llevó a un volumen de 12 ml con agua nivel biología molecular se incubaron durante 10min posteriormente se centrifugaron a 2500 rpm durante 15 min a 4°C y se decantaron cuidadosamente

Se lavó el botón con 2ml de sacarosa tritón 1x se centrifugo a 2500rpm por 10 min a 4°C y se decantó cuidadosamente el sobrenadante y se lavó hasta conseguir una coloración rosada en el pellet

Se agregó 1 ml de Buffer de lisis nuclear, 55ul de SDS al 27% y 25 ul de proteinasa K (5mg/ml) y se dejó incubando 24hrs a 37°C con agitación

Posterior a la incubación se agregó 600ul de cloruro de sodio saturado y se centrifugo 10min a 2500rpm, al sobrenadante se le agregó etanol al 100% frio y se retira la hebra de DNA con una pipeta Pasteur sellada y se resuspende en 200ul de agua biología molecular y se incubo en el equipo ACCUBLOCK™ digital Dry Bath de LABNET a 37°C por 20min

Cuantificación del DNA

Posterior a la incubación del DNA a 37°C se realiza la cuantificación de este mediante espectrofotometría para determinar la concentración y pureza a partir de la capacidad de absorbancia de la muestra de DNA a 260nm la cual se midió a partir de 1ul de muestra con el equipo NanoDrop™ Lite

Mientras que la pureza se evaluó con la relación de absorbancias 260/280 se considera que un DNA de pureza óptima tiene un valor entre 1.8-2.0. Un DNA de pureza aceptable debe tener al menos una relación $A_{260}/A_{280} > 1.6$. Un valor $A_{260}/A_{280} < 1.6$ indica una posible contaminación por compuestos aromáticos como fenoles y proteínas. Un radio $A_{260}/A_{280} > 2.1$ podría deberse a la presencia de RNA en la muestra.

Electroforesis

Para evaluar la integridad del DNA extraído se realizaron geles de agarosa y se observaron en una cámara de UV

Preparación del gel de agarosa al 1%

- Se pesó 0.60 gr de agarosa y disolvió en 60 ml de buffer TBE al 1x
- Calentó en el microondas durante lapsos de 15 seg hasta disolver obtener una apariencia transparente
- Se enfrió el gel a temperatura ambiente y se colocó 1ul de bromuro de etidio (10mg/ml) y se mezcló hasta quedar una mezcla homogénea
- Se colocó en la cámara de electroforesis junto con los peines y se retiraron las burbujas
- Se dejó enfriar hasta la polimerización del gel

- Posteriormente se cubrió el gel con 400ml de buffer TBE 1x
- En cada pozo se colocó 5ul de muestra de DNA con 20ng/ul y 3ul de amortiguador de carga
- Y se corrió a 80V durante 1hr

ANEXO 3

PREPARACION DE REACTIVOS

Cloruro de sodio saturado (1L)

En un vaso de precipitado 500 ml de agua destilada

Agregar 350gr de cloruro de sodio (NaCl) solubilizar

Añadir 500ml de agua destilada.

Almacenar a temperatura ambiente

Sacarosa Triton 2X (1L)

Agregar en un vaso de precipitado 219gr de sacarosa 2.42gr de tris base 2.03gr de cloruro de magnesio.

Disolver en 500ml de agua destilada solubilizar

Agregar 10ml de triton 100X transferir a un matraz aforado ajustar a 1000ml con agua destilada filtrar y almacenar a 4°C

Buffer de lisis nuclear (500ml)

En un vaso de precipitado 500ml de agua destilada

Agregar 1.21gr de tris base 23.4 de NaCl y 0.75gr de Na₂EDTA,

Solubilizar, esterelizar y almacenar a temperatura ambiente

Buffer TBE 5X (500ml)

En un vaso de precipitado con 250ml de agua esteril agregar 27gr de tris base y 13.5gr de acido borico

Disolver lo más posible y transferir a un matraz aforado

Agregar 10ml de EDTA a 0.5M pH 8.0

Ajustar a la marca de 500ml con agua destilada filtrar y almacenar a temperatura ambiente

ANEXO 4

Consentimiento informado



SALUD
SECRETARÍA DE SALUD



HOSPITAL JUÁREZ
DE MÉXICO

Dirección de Investigación y Enseñanza
División de Investigación
Servicio (Unidad)

CONSENTIMIENTO INFORMADO GRADUAL PARA LA REALIZACIÓN DE ESTUDIOS GENÉTICOS

Título del protocolo:

**** Evaluación del gen KLF14 como marcador genético de síndrome metabólico con número de registro HJM 0571/19-1.**

El Investigador que informa cDra. María Guadalupe Ortiz López del Laboratorio de Endocrinología Molecular, de la División de Investigación del Hospital Juárez de México

.....

Teléfono de emergencia 5747 7560*Ext. 7389 (disponible las 24 horas) _____

Persona a quien se informa:, de de edad.

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

****1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.**

El síndrome metabólico es el conjunto de alteraciones metabólicas que implican: elevación de colesterol y/o triglicéridos, presión arterial alta, glucosa alterada en ayuno, resistencia a la insulina y colesterol "bueno" disminuido. La búsqueda de factores genéticos que participan en la aparición de síndrome metabólico ayudará a identificar a aquel sector de la población que podría tener más riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 en un futuro, lo que permitirá crear medidas de prevención. Del mismo modo, en la medida que entendamos los mecanismos que intervienen en su desarrollo y los factores de riesgo, podremos proponer programas de salud, con la finalidad de prevenir a las personas en riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 y enfermedades cardiovasculares.



****2. OBJETIVO DEL ESTUDIO**

A usted se le está invitando a participar en un estudio de investigación que tiene como objetivo identificar si el gen KLF14 participa en el desarrollo de síndrome metabólico, con el fin de detectar personas en riesgo, y tomar medidas de prevención para evitar su aparición. ***3. BENEFICIOS DEL ESTUDIO**

En estudios realizados anteriormente por otros investigadores se ha observado que hay cambios en genes que podrían provocar que una persona tenga mayor riesgo a presentar alteraciones metabólicas y por lo tanto síndrome metabólico.

Con este estudio se conocerá si el gen KLF14 está participando en el desarrollo de síndrome metabólico. En un futuro esta información podría servir en el laboratorio y al médico para identificar a personas en riesgo de desarrollar diabetes tipo 2.

Este estudio no tiene un beneficio directo para los sujetos participantes, sin embargo permitirá que en un futuro otros pacientes puedan favorecerse del conocimiento obtenido, ya que con la información se podría saber que sector de la población con síndrome metabólico está en mayor riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 y con ello tomar medidas preventivas.

Después de la extracción de sangre le serán entregados los resultados bioquímicos (glucosa, colesterol, triglicéridos, ácido úrico, creatinina).

****4. PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO**

Los pacientes serán invitados a participar en la consulta del Servicio de Endocrinología en el Hospital Juárez de México, con la colaboración de la Dra. María Concepción Aguilera Cartas, quien seleccionará e invitará a participar a los pacientes que cumplan los criterios de inclusión. Los pacientes que acepten participar serán llevados al Laboratorio 6 de Endocrinología Molecular de la División de Investigación para realizar la toma de una muestra de sangre total (5 ml aproximadamente).

En caso de aceptar participar en el estudio se le realizarán algunas preguntas sobre usted, sus hábitos y sus antecedentes médicos, se registrarán sus medidas de cintura, cadera, talla y peso, adicionalmente se tomará una muestra de sangre (5 ml).

La técnica puede fracasar por no conseguir la extracción de ADN o por otros problemas de laboratorio que impidan la emisión de un diagnóstico completo.

Es responsabilidad del Investigador Principal mantener la confidencialidad de sus datos personales bajo la normatividad vigente.

Usted tiene derecho a conocer los datos genéticos que se obtengan a partir del análisis de las muestras donadas. La información que se obtenga puede tener implicaciones para sus familiares, cuando éste fuera el caso, usted será quien les transmita dicha información.



Se le advierte sobre la posibilidad de descubrimientos inesperados en el proceso de análisis de la muestra, no relacionados con la patología de diagnóstico, y respecto a los mismos manifiesta:

- Quiero conocerlos No quiero conocerlos Delego en el médico esa decisión

Al término de la investigación, se contará con su muestra de ADN, desea que esa muestra:

- Se destruya Se almacene para futuras investigaciones

En caso de desear que su muestra se almacene para futuras investigaciones, usted podrá ser contactado con posterioridad con el fin de obtener su consentimiento, cómo prefiere ser contactado:

Usted tiene derecho a revocar este consentimiento en cualquier momento, y a decidir también la destrucción de su muestra.

****5. RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO**

De acuerdo con el artículo 17 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud esta investigación es considerada como:

- Sin Riesgo Riesgo Mínimo Riesgo Mayor al mínimo

Este estudio consta de una fase solamente en la cual se le tomará una muestra de sangre. Posterior a *la toma de sangre* se pueden presentar molestias temporales ocasionadas por la punción con la aguja y hematomas, que desaparecerán de 24 a 48 h después de la toma de muestra.

****6. PROTECCIÓN DE DATOS PERSONALES**

a. Normatividad

El tratamiento de sus datos personales de identificación y datos personales sensibles, se realiza con fundamento en lo establecido en el artículo 1, 2 fracción V y VI, 3, 8, 16, 17, 18, fracción VII del 22, 26, 27 y demás relativos de la Ley General de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados; 1 del Decreto por el que se crea el Hospital Juárez de México, como un Organismo Descentralizado de la Administración Pública Federal, publicado en el Diario Oficial de la Federación, el 26 de enero de 2006; 1, 2 fracción I y 3 fracción I, II, III del Estatuto Orgánico del Hospital Juárez de México, publicado en el Diario Oficial de la Federación 17 de octubre de 2016.

b) Descripción de los Datos Personales que se solicitarán

* Datos Personales de Identificación: nombre, fecha de nacimiento, edad, escolaridad,



* Datos Personales sensibles: domicilio, antecedentes de enfermedades personales y en la familia, tratamiento farmacológico para controlar la diabetes, presión arterial y/o dislipidemias.

c) Tratamiento

El tratamiento y resguardo de sus datos personales será llevado a cabo por las siguientes personas:

Nombre: cDra. María Guadalupe Ortiz López, Dra. Katy Alejandra Sánchez Pozos, Dra. María Concepción Aguilera Cartas, M en C Joel Jaimes Santoyo.

Los datos personales serán tratados estadísticamente sin que se vulnere su identidad mediante el proceso de disociación. (Si tiene duda, pregunte al Investigador Principal en qué consiste el proceso de disociación)

d) Transferencias

(se deberá marcar con una X, la opción correspondiente)

- Sus datos personales y/o resultados que arroje el estudio, NO serán transferidos a ninguna persona física o moral ()
- Sus datos personales y/o resultados del estudio podrán ser transferidos ()
Especificar los datos que serán transferidos _____
Especificar a quien serán transferidos _____

e) Aviso de Privacidad simplificado:

El Investigador principal del protocolo de Investigación es el responsable del tratamiento de los datos personales y datos personales sensibles que usted proporcione con motivo de la participación en un protocolo de Investigación, mismos que serán tratados estadísticamente en materia de salud sin que se vulnere su identidad mediante el proceso de disociación, para proteger la identificación de los mismos, de conformidad con los artículos 1, 2, 3, 8, 16, 17, 18, fracción VII del 22, 26, 27 y demás relativos de la Ley General de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados, mismo que podrá consultar en el Portal Institucional:

<http://www.hospitaljuarez.salud.gob.mx>

****7. ACLARACIONES**

Su decisión de participar en el estudio es completamente voluntaria.

No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la invitación. Si decide participar en el estudio puede retirarse en el momento que lo desee, -aun cuando el investigador responsable no se lo solicite-, pudiendo informar o no, las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad.

No tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio.

No recibirá pago por su participación.

En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo, al investigador responsable.

La información obtenida en este estudio, utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores.



Usted también tiene acceso a los Comités de Investigación y Ética en Investigación del Hospital Juárez de México a través del Dr. José Moreno Rodríguez, Director de Investigación o del M. en C. Reynaldo Sánchez Rodríguez Presidente del Comité de Ética en Investigación. En el edificio de Investigación del Hospital Juárez de México.

Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado que forma parte de este documento.

Yo, _____ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

****Firma del participante o del padre o tutor Fecha**

****Testigo 1 Fecha (parentesco)**

****Testigo 2 Fecha (parentesco)**

****Esta parte debe ser completada por el Investigador (o su representante):**

He explicado al Sr(a). _____ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación con seres humanos y me apego a ella.

Una vez concluida la sesión de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

Firma del investigador Fecha

****8. CARTA DE REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO**

Título del protocolo:

Investigador principal: _____

Sede donde se realizará el estudio: _____

Nombre del participante: _____



Por este conducto deseo informar mi decisión de retirarme de este protocolo de investigación por las siguientes razones: (Este apartado es opcional y puede dejarse en blanco si así lo desea el paciente)

Si el paciente así lo desea, podrá solicitar que le sea entregada toda la información que se haya recabado sobre él, con motivo de su participación en el presente estudio.

Firma del participante o del padre o tutor Fecha

Testigo Fecha

Testigo Fecha

c.c.p El paciente.

(Se deberá elaborar por duplicado quedando una copia en poder del paciente)



ANEXO 5

Cuestionario de salud

LABORATORIO DE ENDOCRINOLOGIA MOLECULAR

CUESTIONARIO DE SALUD



Fecha: _____

Nombre: _____ Fecha de nacimiento: _____ Sexo: _____

DOMICILIO:

Lugar de nacimiento _____

Teléfono _____ celular: _____

Profesión u ocupación _____

Escolaridad _____

Estado civil: Soltero () Casado () Viudo () Separado () Cintura: _____ Cadera: _____

Estatura: _____ Peso: _____ IMC: _____ N° de expediente: _____ Grupo sanguíneo: _____

Presion Arterial: _____

1. ¿Que enfermedades tiene (tenia) su madre?
2. ¿Qué enfermedades tiene (tenia) su padre?
3. ¿Qué enfermedades tiene (tenia) su hermano(a)?
4. ¿Sus padres y abuelos son (fueron) de nacionalidad mexicana? _____ Otra _____

En las siguientes preguntas marque si o no a la opción correcta. Estas respuestas son confidenciales

5. ¿Considera que tiene una vida saludable? SI NO
6. ¿Realiza ejercicio frecuentemente? SI NO
7. ¿Considera que goza de buen estado de salud? SI NO
8. ¿Bebe más de 6 tazas de café al día? SI NO
9. ¿Toma refresco frecuentemente? SI NO ¿Cuántos vasos al día? _____
10. ¿Fuma? SI NO ¿Cuántos cigarros al día? _____
11. ¿Dejo de fumar? SI NO ¿Duarante cuantos años fumo? _____
12. ¿Bebe alcohol habitualmente? SI NO ¿Cuántas copas al día? _____
13. ¿Durante el último año ha tenido algún cambio en su estado de salud general? SI NO
14. ¿Se encuentra actualmente bajo los cuidados de algún medico? SI NO ¿Cuándo fue su ultima revisión medica? _____
15. ¿Ha tenido usted alguna enfermedad grave o ha sufrido alguna intervención quirúrgica durante los últimos 5 años? SI NO Si la respuesta es afirmativa ¿Cuál fue la causa?
Tiene o ha padecido alguna de las siguientes enfermedades
16. ¿Enfermedades cardiovasculares (infartos,accidentes cerebrovasculares) SI NO
17. ¿Le han diagnosticado diabetes? SI NO
18. ¿Le han diagnosticado resistencia a la insulina? SI NO
19. ¿Tiene otros problemas tiroideos? SI NO
20. ¿Le han diagnosticado hipertensión? SI NO
21. ¿Problemas renales? SI NO
22. ¿Tiene una enfermedad crónica? SI NO
¿Cual? _____

23. ¿Considera tener peso normal? SI NO
24. ¿Ha hecho dietas? SI NO
25. ¿Ha ingerido medicamentos para suprimir el apetito? SI NO
26. ¿Esta tomando algún medicamento? SI NO
¿Cuál? _____
27. ¿Consume habitualmente fármacos (remedios) o drogas? SI NO
¿En caso de ser afirmativo cual y en que dosis? SI NO
28. ¿Es alérgico a algún medicamento? SI NO
¿Cuál? _____ ¿Que gravedad tuvo la reacción alérgica? _____

Usted tiene derecho de controlar el uso de sus datos personales de acuerdo a la Ley Federal de Protección de datos Personales en Posición de Particulares asimismo de solicitar el acceso corrección y oposición de su información personal. La información será procesada de acuerdo a las regulaciones de protección de datos vigentes. Sin embargo cierta información no podrá estar disponible hasta que el estudio sea completado, esto es con la finalidad de proteger la integridad del estudio.

No se revelara la identidad de las personas que participen en el estudio en ningún informe o publicación que se genere a partir de este.

FIRMA _____

ANEXO 6

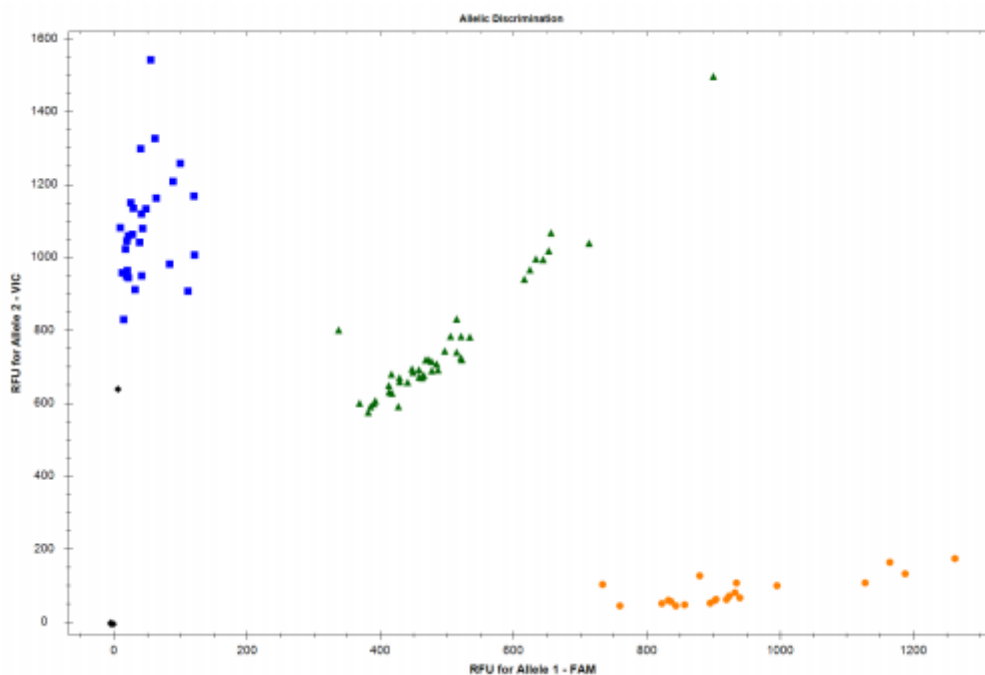
Genotipificación

En un ensayo de discriminación alélica con sondas Taqman las sondas son complementarias para cada uno de los SNPs, ya que poseen un fluorocromo diferente en el extremo 5' y un quencher en el extremo 3'.

Durante la fase de extensión de la reacción de PCR la DNA polimerasa rompe las sondas hibridadas con el DNA, separando los fluorocromos del quencher y detectándose emisión de fluorescencia de ambas.

Secuencias de las sondas de ambos SNP

SNP	Secuencia
rs4731702	AAAACAGCATTATTTCCCACACACA[C/T]CAGTTCCATTTAGCACCAAAAAGAT
rs972283	TGTATACTTGGA AAAAATCCTACCT[A/G]GTCATGGCGCATACTTATTTTTACA



Ensayo de discriminación alélica para el SNP rs4731702 en naranja se muestra el alelo 1 (T) en azul se observa el alelo 2 (C) y en verde los heterocigotos (CT)

Fluoroforos: X: VIC (C) Y: FAM (T)