

# UNIVERSIDAD ABIERTA Y A DISTANCIA DE MÉXICO



## DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA SALUD, BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

### **Frecuencia de polimorfismos PPAR $\gamma$ 2 (Pro12Ala) y PPAR $\beta/\delta$ (+294T/C) en adolescentes de la comunidad de Le Barón, Chihuahua.**

Itzel Almendra Gutiérrez Rivera

Matricula: ES1521204050

#### Asesor externo

Irene Leal Solís (Leal-Berumen), Ph.D.

Profesor ATC Investigador SNI I

Responsable del Laboratorio de Biología Molecular

Facultad de Medicina y Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de  
Chihuahua.

#### Asesor interno

Dra. Diana Elinos Calderón

## Índice

1. Resumen .....	1
2. Justificación .....	1
3. Marco teórico .....	2
3.1 <i>Receptores Nucleares</i> .....	2
3.2 <i>Características estructurales de los receptores nucleares.</i> .....	3
3.3 <i>Receptores activados por los proliferadores de peroxisomas (PPAR)</i> .....	4
3.4 <i>Características estructurales y funcionales de los PPAR.</i> .....	5
3.5 <i>Localización y efectos en humanos producidos por los PPARs</i> .....	6
3.5.1 PPAR $\alpha$ .....	6
3.5.2 PPAR $\beta/\delta$ .....	7
3.5.3 PPAR $\gamma$ .....	7
3.6 <i>Ligandos</i> .....	8
3.7 <i>Función fisiológica de PPAR<math>\gamma</math></i> .....	9
3.8 <i>Polimorfismos</i> .....	10
3.9 <i>Polimorfismo Pro12Ala del PPAR<math>\gamma</math></i> .....	11
3.10 <i>Polimorfismo Pro12Ala del PPAR<math>\gamma</math> y su asociación con obesidad, diabetes tipo 2, resistencia a la insulina y dislipidemia</i> .....	12
3.11 <i>Función fisiológica de PPAR <math>\beta/\delta</math></i> .....	13
3.12 <i>Polimorfismos +294T/C del PPAR <math>\beta/\delta</math></i> .....	14
3.13 <i>Haplotipos mitocondriales</i> .....	15
3.14 <i>Cuadro de antecedentes</i> .....	17
4. Hipótesis .....	24
5. Objetivos .....	24
5.1 <i>Objetivo general</i> .....	24
5.2 <i>Objetivos particulares</i> .....	24
6. Consideraciones Éticas .....	24
7. Metodología .....	24

7.1 Obtención de muestras .....	25
7.2 Extracción de ADN .....	26
7.3 Amplificación del polimorfismo PPAR $\gamma$ Pro12Ala del ADN.....	27
7.4 Amplificación del polimorfismo PPAR $\beta/\delta$ +294T/C del ADN .....	28
7.4.1 Digestión de fragmentos amplificados.....	29
7.5 Haplotipos .....	29
7.5.1 Digestión de Haplotipos A, C, D, H .....	31
7.6 Métodos estadísticos.....	32
8. Variables .....	32
8.1 Variable independiente.....	32
8.2 Variables dependientes .....	33
8.3 Variables universales .....	39
8.4 Variables confusoras .....	40
8.5 Variables predictivas independientes. ....	41
9. Resultados .....	42
10. Análisis .....	66
11. Conclusiones.....	69
12. Bibliografía .....	71



## 1. Resumen

Los receptores activados por los proliferadores de peroxisomas también conocidos como PPAR, pertenecen a la súper familia de receptores de hormonas nucleares, estas son proteínas que tienen la capacidad de unirse al ADN y activar o reprimir la regulación de la expresión de los genes involucrados en la diferenciación celular, desarrollo, metabolismo e inclusive neoplasias.

El polimorfismo PPAR $\gamma$ 2 (Pro12Ala) está asociado con obesidad, resistencia a la insulina y DM2, mientras que PPAR  $\beta/\delta$  (+294T/C) está asociado con menor colesterol de lipoproteínas de alta densidad así como mayor riesgo de enfermedades coronarias.

Existen estudios contradictorios que difieren los resultados según el tipo de población, sugiriendo una compleja interacción entre el tipo de dieta, los factores ambientales y genéticos de las mismas.

La comunidad de Le Barón es una población de religión mormona, que emigró al Estado de Chihuahua en 1924 desde los Estados Unidos. Se pretende determinar la frecuencia de los polimorfismos de PPAR $\gamma$ 2 (Pro12Ala) y PPAR  $\beta/\delta$  (+294T/C) en un grupo de adolescentes de dicha población, por medio de PCR (reacción en cadena de la polimerasa), electroforesis y digestión enzimática para comparar las frecuencias, con otras comunidades de poblaciones caucásicas.

Se espera tener una tendencia de incremento de obesidad y colesterol en presencia de la variante alélica +294T/C y en ausencia de la variante alélica Pro12Ala.

*Palabras clave: PPAR, obesidad, diabetes, Pro12Ala, T+294C, PPAR $\gamma$ 2, PPAR  $\beta/\delta$ , enfermedades coronarias, BMI.*

## 2. Justificación

El interés creciente en los PPAR y su asociación con enfermedades metabólicas, nos permite hoy relacionar polimorfismos, como el Pro12Ala de PPAR $\gamma$ 2, con mayor riesgo de presentar obesidad, dislipidemia, hipertensión, enfermedad cardiovascular, cáncer, y como factor protector de la DM2, mientras que PPAR  $\beta/\delta$  (+294T/C) está asociado con menor colesterol de lipoproteínas de alta densidad, así como mayor riesgo de enfermedades coronarias.

Existen discrepancias en algunos resultados, sin embargo, se debe tener en cuenta que la frecuencia de la variante alélica es diferente entre poblaciones encontrando que Pro12Ala muestra que los caucásicos tienen la frecuencia más alta (12%), seguido de los Mexicanos (10%), samoanos occidentales (8%), afroamericanos (3%), mientras que los chinos tienen los más bajos (1%).

La comunidad de Le Barón es una población con características culturales distintas a las otras poblaciones (mestiza, tarahumara y menonita) de Chihuahua, de las cuales se obtuvieron como resultados preliminares más riesgo de obesidad en la comunidad mestiza representado por un IMC elevado, mientras que los tarahumaras presentan riesgo de obesidad más alto por la obesidad abdominal. La población con más riesgo cardiovascular fue la tarahumara, con índice aterogénico (IA) alterado, triglicéridos (TG) elevados y c-HDL (colesterol High density lipoprotein) disminuidos. Determinando que la presencia del alelo mutado Ala les confiere menos riesgo de presentar obesidad y colesterol total elevado.

La determinación de una tendencia de estos alelos da la posibilidad de determinar si estos mismos podrían presentar una solución a la obesidad, dislipidemia, hipertensión, DM2, enfermedad cardiovascular y hasta cáncer.

### 3. Marco teórico

#### 3.1 Receptores Nucleares

La súper familia de proteínas responsable de regular la expresión de genes específicos, se les conoce con el nombre de Receptores Nucleares (RN), esta

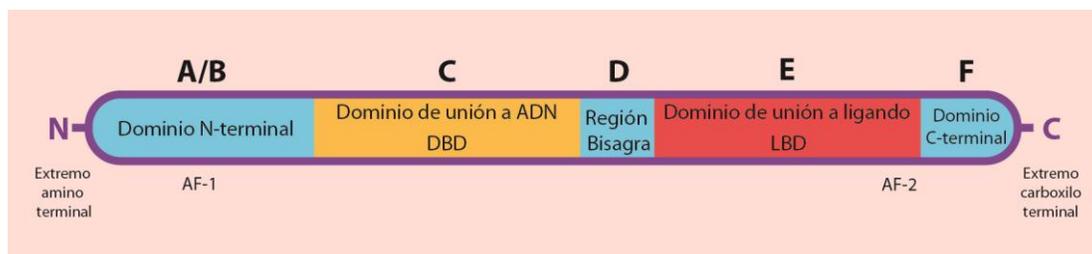
familia se compone por receptores de esteroides que incluyen estrógeno, hormona tiroidea, vitamina D3, y receptores de glucocorticoides (Mangelsdorf et al., 1995).

Los RN tienen la capacidad de adherirse directamente al ADN y regular sus genes de ahí su denominación como factores de transcripción, esto se lleva a cabo cuando un ligando (natural o sintético) está presente y se une a los RN activando esta capacidad (Lonard & O'Malley, 2007).

Cuanto más conocimiento sobre los Receptores nucleares se obtiene es claro que estos están involucrados en múltiples enfermedades en el hombre, los defectos en la señalización de los RN dan como resultado enfermedades como cáncer, diabetes, síndrome de Ovario poliquístico, obesidad, hipertensión, entre otras (Lonard & O'Malley, 2007).

### 3.2 Características estructurales de los receptores nucleares.

Todos los receptores nucleares comparten una estructura dominio en común que es altamente conservada como la que se muestra en la figura 1.



**Figura 1.** Características estructurales de los receptores nucleares (RN).

1. Dominio A/B: Región N-terminal única de longitud variable (100-500 aminoácidos), su función activadora es independiente del ligando, lo que le confiere cierta autonomía esta región también se le denomina AF-1 (activation function -1).
2. Dominio C: Dominio de unión de ADN conocida como DBD por las siglas en inglés "DNA Binding Domain", se localiza cerca del centro de la secuencia

primaria, contiene una estructura denominada dedos de zinc, su habilidad para reconocer secuencias de ADN específica se debe a una cadena polipeptídica que contiene cuatro cisteínas unidas a un átomo de zinc, esta parte interacciona con sitios específicos del ADN llamados elementos de respuesta (RE; Response elements) contiene parte de la señal de localización nuclear (NLS; nuclear localization signal)

3. Dominio D: representa la región bisagra. Contiene el resto de los NLS.
4. Dominio E: Dominio de unión al ligando o LBD por las siglas en inglés "Ligand Binding Dominiun", contiene la función de activación 2 (AF-2) dependiente de la presencia de un ligando unido, se localiza cerca del extremo C terminal, es moderadamente conservada y permite la interacción con otros receptores (o fármacos), en algunos casos funciona como un dominio de represión en ausencia del ligando, formando homodimeros o heterodimeros según las estructuras de los receptores con los que interactúa.
5. Dominio F: Centro de interacción con proteínas coactivadoras (Brandan, Llanos, Miño, Ragazzoli, & Ruiz Díaz, 2008; Lodish H, Berkman A, Matsudaira P, Kaiser C, Krieger M, 2005; Mangelsdorf et al., 1995) .

### 3.3 Receptores activados por los proliferadores de peroxisomas (PPAR)

Los receptores activados por los proliferadores de peroxisomas también conocidos como PPAR por sus siglas en inglés Peroxisome Proliferator Activated Receptors, pertenecen a la súper familia de receptores de hormonas nucleares, estas son un grupo de proteínas que tienen la capacidad de unirse al ADN y activar o reprimir la regulación de la expresión de los genes involucrados en la diferenciación celular, desarrollo, metabolismo e inclusive carcinogénesis (Mp, Attianese, & Desvergne, 2015).

Los PPAR fueron localizados por primera vez en 1990 después de su caracterización como receptores nucleares, en un estudio con ratones donde se observó que aumentaba la presencia de peroxisomas en el tejido del hígado y que mejoraba la sensibilidad a la insulina (Issemann & Green, 1990).

Se han descrito tres subtipos principales de PPARs agrupados en la subfamilia 1C de RN hormonales, los cuales son PPAR $\alpha$  (alfa), PPAR  $\gamma$  (gama), y PPAR  $\beta/\delta$  (delta)(Parra & Mejía, 2001).

Al inicio se demostró que estos receptores se activaban por sustancias como los Fibratos hipolipidémicos, plastificantes de éster de ftalato y herbicidas que causan la proliferación de peroxisomas en el hígado, con más investigación se descubrió que los ácidos grasos también activan los PPARs. (Keller et al., 1993), esto aumento el interés en su papel fisiopatológico como reguladores de lípidos y carbohidratos.

#### 3.4 Características estructurales y funcionales de los PPAR.

Los PPARs como los otros miembros de la familia de receptores nucleares RN están compuestos de tres partes principales: el dominio de unión al ADN (DBD), el dominio de unión al ligando (LBD) y la región NH<sub>2</sub> terminal (Willson, Brown, Sternbach, & Henke, 2000).

Los PPAR se unen al receptor ácido 9-cis retinoico (RXR) formando un heterodímero, luego de lo cual pueden reconocer y unirse a una secuencia de ADN conocida como PPRE (PPAR response element) que consiste en secuencias de seis nucleótidos repetidas y separadas por un nucleótido, conocidas como elementos de respuesta DR-1 (AGGTCA N AGGTCA). A partir de esta unión cualquiera de los ligandos activan el complejo (por ejemplo, ácido graso insaturado de cadena larga al PPAR y ácido cis-retinoico al RXR) como podemos observar en la figura 2, pero la unión simultanea tiene mayor potencia, iniciando con ello la transcripción del gen, mientras que si se une con los represores proteicos se reprime la transcripción(Huang, 2008).



Figura 2. PPAR y RXR formando un heterodímero y unidos a la secuencia de ADN PPRE, con unión simultánea de ligandos a PPAR y RXR.

### 3.5 Localización y efectos en humanos producidos por los PPARs

#### 3.5.1 PPAR $\alpha$

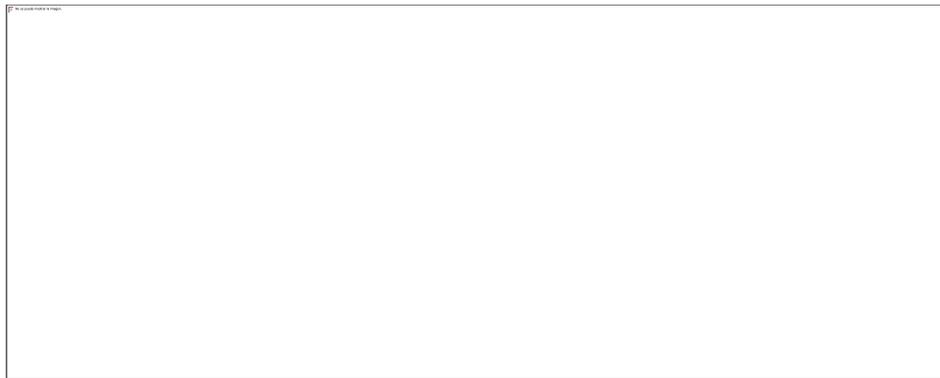


Figura 3. Localización en cromosomas de PPAR $\alpha$ . Obtenido de:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/gdv/browser/?context=gene&acc=5465>

Se expresan esencialmente en el corazón, riñón, hígado, músculo esquelético, macrófagos, las células de músculo liso aórtico, y las endoteliales. Se encuentran en el brazo largo del cromosoma 22 (22q12-q13.1) como se muestra en la figura 3, cuenta con 14 exones comienza con 46,150,521 pb y termina en 46,243,756pb (Buroker, 2017).

### 3.5.2 PPAR $\beta/\delta$

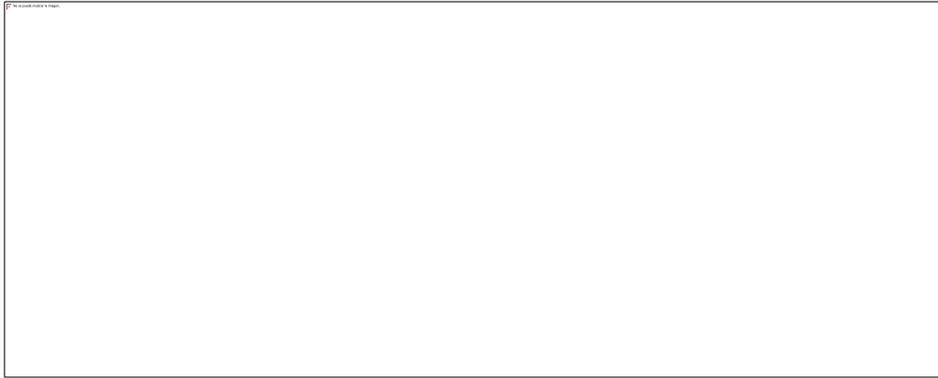


Figura 4. Localización en cromosomas de PPAR  $\beta/\delta$ . Obtenido de:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/gdv/browser/?context=gene&acc=5467>

Es expresado en niveles altos en el hígado, riñones, musculo cardiaco y esquelético, tejido adiposo, cerebro, colon y vasculatura. Se localiza en el brazo corto del cromosoma 6 (6p21.1-p21.2), como se muestra en la figura 4, cuenta con 13 exones comienza en 35,342,558pb y termina en 35,428,191pb (Buroker, 2017).

### 3.5.3 PPAR $\gamma$

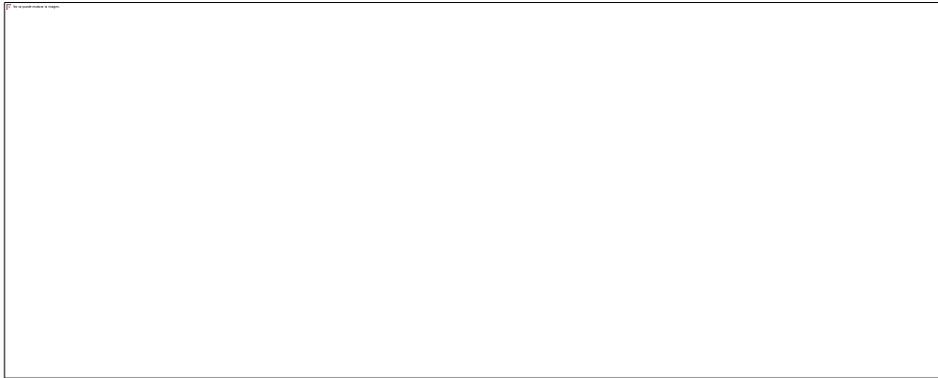


Figura 5. Localización en cromosoma de PPAR $\gamma$ . Obtenido de:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/gdv/browser/?context=gene&acc=5468>

El miembro mejor estudiado de la familia de PPARs, se expresa en adipocitos blancos y marrones y regula la diferenciación de los adipocitos, almacenamiento y liberación de lípidos, el intestino grueso, y en el bazo(Chandra et al., 2008). Su gen se encuentra en el brazo corto del cromosoma 3 (3p25), como se muestra en la figura 5, cuenta con 14 exones y empieza en 12,287,368 pb termina en 12,434,356 pb (Buroker, 2017). Aparece en tres formas proteicas PPAR  $\gamma$ 1, PPAR  $\gamma$ 2, PPAR  $\gamma$ 3

resultado del empalme alternativo que permite que solo un gen pueda modificar para más de una proteína. Las proteínas producidas por los mARNs PPAR $\gamma$ 1 y PPAR $\gamma$ 3 son idénticas mientras que el producto de las PPAR  $\gamma$ 2 contienen una región adicional NH<sub>2</sub>-terminal compuesta por 30 aminoácidos(Janani & Ranjitha Kumari, 2015).

1. PPAR $\gamma$ 1.- Se expresa predominantemente en el tejido adiposo y el colon y en menor grado en otros tejidos como el riñón, el hígado, musculo e intestino(Carvajal, De La Luz Hernández-Esquivel, & Moreno-Sánchez, 2007) .
2. PPAR $\gamma$ 2.- Se expresa en solo en tejido adiposo y de forma mínima en el músculo. Sus extras aminoácidos le confieren una mayor función de activación independiente del ligando(Janani & Ranjitha Kumari, 2015).
3. PPAR $\gamma$ 3.- Se expresa en macrófagos, colon y tejido adiposo (Carvajal et al., 2007).

### 3.6 Ligandos

Los ligandos son moléculas que al unirse al centro activo de una proteína envía una señal de activación o desactivación. Los PPARs a diferencia de otros RN que solo tiene un ligando son activados por ligandos naturales derivados de los lípidos de la dieta, como los ácidos grasos poliinsaturados y sus derivados, aunque aún no se ha identificado con claridad cuáles son los ligandos fisiológicos de los PPARs, sin embargo también son activados por ligandos sintéticos como los fibratos, las glitazonas, los antiinflamatorios no esteroideos (AINES), podemos observar los diferentes tipos de ligando que activan diferentes subtipos de PPAR en la tabla 1.(Carvajal et al., 2007).

Tabla 1. Ligandos naturales y sintéticos de los PPARs. Obtenido de: (Carvajal et al., 2007)

	PPAR $\alpha$	PPAR $\beta$	PPAR $\gamma$
Ligandos naturales	Ácidos grasos poliinsaturados Leucotrieno B4 HETES, HODES	Ácidos grasos saturados insaturados Prostaglandina PG12	Ácidos grasos e poliinsaturados Ácido linoleico (LA u omega 6), Acido $\alpha$ -linolieco (ALA u omega 3) Acido eicosapentaenoico (EPA), Acido docosahexaenoico (DHA). 15-dexosi- $\Delta$ -12PGJ2
Ligandos sintéticos	Fibratos  Antiinflamatorios no esteroideos (AINES)	Gw501516  L165041	Glitazonas  AINES

### 3.7 Función fisiológica de PPAR $\gamma$

El funcionamiento de PPAR $\gamma$  es clave en la adipogénesis conduciendo a una coordinación en las rutas bioquímicas del metabolismo y determinando que los depósitos de energía sean eficientes (Lowell, 1999).

Estas funciones pleiotropicas han sido demostradas por el uso de agonistas sintéticos como las glitazonas o tiazolidinedionas (TZD) que corrigen la hiperglucemia, la hiperinsulinemia y la resistencia a la insulina, sin tener un efecto

sobre la secreción pancreática de la insulina , por lo que se les ha reconocido como "sensibilizadores de insulina"(Lehmann et al., 1995).

PPAR $\gamma$  está relacionada con la regulación de procesos inflamatorios por interacción directa con NF- $\kappa$ B (Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas, del inglés Nuclear factor  $\kappa$ B). PPAR $\gamma$  y NF- $\kappa$ B son ambos factores transcritores involucrados en procesos inflamatorios. NF- $\kappa$ B controla una gran cantidad de genes implicados en la inflamación, mientras que PPAR $\gamma$  puede regularlo mediante una interacción directa con NF- $\kappa$ B (Hou, Moreau, & Chadee, 2012).

Los agonistas de PPAR $\gamma$  tienen la habilidad de redistribuir la grasa visceral a depósitos subcutáneos y aumentar la adiponectina y reducir los factores de necrosis en los tejidos (Janani & Ranjitha Kumari, 2015).

Por lo tanto la desregulación de PPAR $\gamma$  está vinculada con el desarrollo de obesidad, diabetes tipo 2, aterosclerosis y otras enfermedades metabólicas (Janani & Ranjitha Kumari, 2015).

### 3.8 Polimorfismos

Los polimorfismos genéticos son variantes del genoma que aparecen por mutaciones en algunos individuos de la población, estos se transfieren a la descendencia y adquieren cierta frecuencia tras múltiples generaciones, siendo esta proporción significativa de sus diferencias fenotípicas presente en el 0.1% de la secuencia de ADN (Antonio Checa Caratachea, 2007; Iniesta, Guinó, & Moreno, 2005).

Los polimorfismos más frecuentes son cambios de una única base. A éstos se les llama polimorfismos de un único nucleótido (single nucleotide polymorphism [SNP], pronunciado «esnip») (Iniesta et al., 2005).

Los polimorfismos son la base de la evolución y los que se consolidan bien pueden ser silentes o proporcionar una ventaja a los individuos, aunque también pueden

contribuir a causar enfermedades por lo que su estudio y análisis son primordiales en la medicina moderna (Iniesta et al., 2005).

Los polimorfismos presentan una diferencia en los nucleótidos en una posición concreta del genoma denominada locus. A cada posible variante se le denomina alelo, si se trata de un SNP serán 2 los posibles alelos en un locus, por ejemplo: el cambio de T por C, Si el locus corresponde a un cromosoma autosómico (del 1 al 22), cada individuo es portador de 2 alelos, uno en cada copia del cromosoma, que se heredan del padre y madre independiente. Dando como resultado tres posibilidades en basándonos en el ejemplo sería, TT, TC, y CC, dando dos homocigotos y un heterocigoto (Iniesta et al., 2005).

### 3.9 Polimorfismo Pro12Ala del PPAR $\gamma$

Este polimorfismo fue primero identificado por el grupo Shuldiner en 1997, Mostrando la siguiente frecuencia de alelos de la variante Pro12Ala PPAR $\gamma$ 2 por población de 12% en caucásicos americanos, 10% en mexicanos, 8% en samoanos, 3% en afroamericanos, 2% en nativos de Nauru y 1% en chinos (Yen et al., 1997)

En el exón B (codón 12) sucede una sustitución en la posición 34 CCA-GCA causando un cambio de aminoácido de Prolina por Alanina en el codón 12 (Pro12Ala siendo Pro el alelo ancestral y Ala el modificado). Funcionalmente la variante Ala ha demostrado tener una afinidad reducida en los elementos respuesta y una menor capacidad para activar los genes diana, predispone a una acumulación más baja de tejido adiposo aumentado la sensibilidad a la insulina (Yen et al., 1997) (Swarbrick, Chapman, Mcquillan, Hung, & Thompson, 2001).

Los resultados de este polimorfismo han tenido respuestas diferentes en diferentes grupos étnicos siendo la posibilidad que el contexto ambiental, como el carácter de la dieta forme los patrones asociados del polimorfismo Pro12Ala con la composición de la grasa del cuerpo en diferentes poblaciones humanas (He, 2009).

### *3.10 Polimorfismo Pro12Ala del PPAR $\gamma$ y su asociación con obesidad, diabetes tipo 2, resistencia a la insulina y dislipidemia*

La diabetes es una enfermedad crónica grave que sobreviene cuando el páncreas no produce suficiente insulina (hormona que regula la concentración de azúcar (glucosa) en la sangre, o glucemia) o cuando el organismo no puede utilizar de manera eficaz la insulina que produce. A escala mundial se calcula que 422 millones de adultos tenían diabetes en 2014, por comparación con 108 millones en 1980. Desde 1980 la prevalencia mundial de la diabetes (normalizada por edades) ha ascendido a casi el doble —del 4,7% al 8,5%— en la población adulta. Esto se corresponde con un aumento de sus factores de riesgo, tales como el sobrepeso y la obesidad. En el último decenio, la prevalencia de diabetes ha aumentado con más rapidez en los países de ingresos medianos que en los de ingresos altos (Organización Mundial de la Salud, 2016).

La obesidad y el sobrepeso se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. Una forma simple de medir la obesidad es el índice de masa corporal (IMC). Una persona con un IMC igual o superior a 30 es considerada obesa y con un IMC igual o superior a 25 es considerada con sobrepeso. El sobrepeso y la obesidad son factores de riesgo para numerosas enfermedades crónicas, entre las que se incluyen la diabetes, las enfermedades cardiovasculares y el cáncer (Organización Mundial de la Salud, 2016)

De acuerdo con la información de la encuesta ENSANUT en México, la evaluación del estado nutricional de la población de 12-19 años de edad se realizó en 2,581 individuos que representan a 18,492,890 adolescentes en el ámbito nacional. La prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad en la población adolescente fue de 36.3% (IC: 95% 32.6, 40.1), 1.4 puntos porcentuales superior a la prevalencia en 2012 (34.9 (IC: 95% 33.7, 36.2)) (Instituto Nacional de Salud Pública, 2016)

Se espera que los niveles de obesidad sean particularmente altos en los Estados Unidos, México e Inglaterra, donde se proyecta que el 47%, 39% y 35% de la

población, respectivamente, serán obesos en el 2030 (La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE), 2017).

El polimorfismo PPAR $\gamma$ 2 (Pro12Ala) está asociado con obesidad, y resistencia a la insulina, lo cual podría ser crucial para encontrar un tratamiento más eficaz, aunque existen estudios contradictorios que difieren los resultados según el tipo de población, sugiriendo una compleja interacción entre el tipo de dieta, los factores ambientales y genéticos de las mismas (Aguayo-Armendáriz et al., 2018).

Algunos estudios en poblaciones étnicas mexicanas asocian la presencia del alelo Ala, en forma heterocigota u homocigota, con un riesgo de tener mayor índice de masa corporal (IMC), menor sensibilidad a la insulina y aumento de riesgo de diabetes 2 (DM2) (Cole et al., 2000) (Canizales-Quinteros et al., 2007) .

Mientras que en estudios que involucran a una población afroamericana y una población estadounidense blanca, esta mutación se asocia con un IMC más bajo en los afroamericanos y un IMC aumentado en los estadounidenses blancos (Fornage et al., 2005) (Wei et al., 2006).

Algunos estudios en la población Emirati de origen Árabe dan como resultado que los genotipos Pro12Ala en el gen PPAR- $\gamma$ 2 demostraron que no estaban asociados con Diabetes de tipo 2 (Al-Safar et al., 2015).

Mientras que en un meta análisis se concluyó que el polimorfismo PPAR $\gamma$  12Ala se asoció con una reducción en el riesgo de diabetes tipo 2 (razón de probabilidades = 0,86, IC 95%: 0,81, 0,90), con una literatura de 1,734 reportes, de Ascendencia Europea, Ascendencia Asiática y otros (Gouda et al., 2010).

### *3.11 Función fisiológica de PPAR $\beta/\delta$*

PPAR  $\beta/\delta$  está implicado en implantación embrionaria (Lim et al., 1999), diferenciación de preadipocitos controlada por ácidos grasos (Bastie, Holst, Gaillard, Jehl-Pietri, & Grimaldi, 1999) y proliferación (Jehl-Pietri, Bastie, Gillot, Luquet, &

Grimaldi, 2000), diferenciación y proliferación de queratinocitos (Westergaard et al., 2001) (Michalik et al., 2001).

El interés sobre PPAR  $\beta/\delta$  aumento cuando se supo de su rol en el metabolismo energético muscular, las primeras indicaciones de estas se dieron de las observaciones de que la expresión de PPAR  $\beta/\delta$  en el musculo esquelético aumentaba después del ayuno(Holst et al., 2003) y después del ejercicio(Russell, Hesselink, Lo, & Schrauwen, 2005), sugiriendo un papel de PPAR  $\beta/\delta$  en la respuesta adaptativa del musculo esquelético al aumento en la demanda de oxidación de ácidos grasos (Mp et al., 2015).

Se demostró que PPAR  $\beta/\delta$  mejora la utilización de la glucosa en el hígado, vía activación de la vía pentosa-fosfato y promueve lipogénesis en el hígado, recapitulando un efecto insulina sensible (Lee et al., 2012).

### *3.12 Polimorfismos +294T/C del PPAR $\beta/\delta$*

El polimorfismo +294T/C está en el exón 4 del PPAR  $\beta/\delta$ , este polimorfismo altera la afinidad de unirse del factor de transcripción SP1, con los portadores de la variante alélica C teniendo mayor actividad de transcripción que el alelo ancestral T (J Skogsberg et al., 2000).

Estudios anteriores han mostrado una asociación entre el alelo +294T/C y factores de riesgo cardiovascular como el aumento de niveles de colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL-C)(J Skogsberg et al., 2003), el riesgo de accidente cerebrovascular isquémico en poblaciones de Túnez (Chehaibi et al., 2013), concentraciones bajas de HDL en plasma y enfermedades coronarias en sujetos femeninos caucásicos de la Universidad de Hamburgo, Alemania. (Aberle, Hopfer, Beil, & Seedorf, 2006).

También se ha encontrado una relación en las variaciones de PPAR  $\beta/\delta$  y como pueden jugar un papel significativo en la susceptibilidad genética al cáncer de colon en la población Mexicana , revelando una disminución del riesgo de cáncer de colon en pacientes teniendo el genotipo heterocigótico T / C para el polimorfismo +294T/C (Rosales-Reynoso et al., 2017).

### 3.13 Haplotipos mitocondriales

La mitocondria es un orgánulo que se encarga de la respiración celular y con ello aporta la energía necesaria para todas las funciones celulares, esta contiene su propio material genético (ADNmt) que consta de 16.6kb con 37 genes y una región de control no codificante dividida en dos regiones hipervariables, se hereda exclusivamente por vía materna y en comparación con el ADN genómico presenta una alta tasa de mutación por su alta exposición a especies reactivas de oxígeno ya que al carecer de histonas se encuentra desprotegido aunado a un sistema de reparación poco eficaz dando a lugar una acumulación de mutaciones con el tiempo que se propagan por el linaje materno y contribuyen a la diversidad genética en las poblaciones (Anderson et al., 1981).

Por estas características es que el ADNmt es utilizado como herramienta para rastreo de origen y migración en ancestros antiguos de las poblaciones actuales. Los polimorfismos más comunes se encuentran en la región D-loop aunque cuenta con otros polimorfismos en el resto del ADNmt (Ingman, Kaessmann, Pääbo, & Gyllensten, 2000).

Al tener un conjunto de alelos a lo largo del ADNmt se le conoce como haplotipo si un conjunto de personas comparten este mismo haplotipo tienen una relación más cercana compartiendo un ancestro en común, a este grupo de personas que comparten un haplotipo se le conoce como haplogrupo (Guardado-Estrada, Queipo, Meraz-Ríos, & Berumen-Campos, 2008).

Los haplogrupos más estudiados se encuentran en el ADNmt y el ADN de cromosoma Y este último heredado por la línea paterna y compuesto por una región no recombinante que abarca el 95% del cromosoma y contiene los genes para diferenciación masculina y pseudogenes homólogos a ciertos genes del cromosoma X. Sin embargo, la región no recombinante de cromosoma Y presenta una tasa de mutación baja en comparación con ADNmt siendo el cromosoma con el nivel más bajo de polimorfismos (Lahn, 1997).

Los haplogrupos actualmente se designan por letras del alfabeto. En el Continente Americano se encuentran los haplogrupos A, B, C, D y en menor frecuencia el X, estos haplogrupos se consideran fundadores que trajeron los primeros pobladores proveniente de Asia (Bonatto & Salzano, 1997).

La condición mestiza de la población mexicana está dada por el flujo genético amerindio, europeo y en menor proporción africano, aparte, la distribución de los haplogrupos no es uniforme a lo largo del continente americano en las tribus de América central y México se ha encontrado con mayor frecuencia el haplogrupo A (con una distribución que va desde 33% hasta el 53%); después en orden descendente está el B, C y mucho menor frecuencia el D. De los haplogrupos europeos el más frecuente en la población mexicana es el H (Green, Derr, & Knight, 2000; Peñaloza-Espinosa et al., 2007; Salzano, 2002).

### 3.14 Cuadro de antecedentes

Autor, año.	Título	Objetivo.	Población de estudio.	Resultados principales.	Conclusiones.
<b>PPAR<math>\gamma</math>2 polimorfismo Pro12Ala</b>					
Cole S Mitchell B Hsueh Pineda Beamer B (2000)	The Pro12Ala variant Pperoxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ 2 (PPAR- $\gamma$ 2) is associated with measures of obesity in Americans	Estudiar la asociación polimorfismo Pro12Ala del receptor-PPARG2 con el índice de masa corporal de Amerindios Mexicanos mestizos mexicanos.	lan=921mexico del Americanos de San Antonio Texas	Sujetos con al menos un PPAR $\gamma$ Ala (n=210) alelo tenían mayor BMI ( $p=0.011$ ), mayor circunferencia de cintura ( $p=0.028$ ) y niveles de leptina ( $p=0.021$ ). Sin evidencia de más frecuencia en hombres o mujeres.	La variante del polimorfismo Pro12Ala aumenta el riesgo de tener obesidad pero más estudios son necesarios.
Canizales Quinteros (2007)	Association of PPAR $\gamma$ 2 variant with larger body mass index in Mestizo Amerindian populations Mexico.	Estudiar la asociación polimorfismo Pro12Ala and PPAR $\gamma$ 2 con el índice de masa corporal de Amerindios	lan=370 mexicanos (131 mestizos de la Cd de 42 Yaquis de Sonora no diabéticos, 66 Mazahuas del estado de México no diabéticos, 35 Purépechas de Michoacán, 51 Mayas	El alelo Ala estaba en mayor frecuencia en población Amerindia en otras poblaciones.	Los resultados proporcionan mayor apoyo de la asociación entre el alelo Ala del PPAR $\gamma$ 2 y el riesgo de sobrepeso u obesidad en mestizos amerindios con un

mestizos  
mexicanos.

de Yucatán y 45 Mayas  
de Oaxaca).

OR = 3.67; 95% IC,  
1.42-9.48; p =  
0.007.

Fornage M1, Inverse effects of Encontrar la 5115 afroamericanos y En promedio, los Se sugieren roles  
Jacobs DR, the PPAR $\gamma$ 2 asociación del blancos de afroamericanos importantes de IMC  
Steffes MW, Pro12Ala polimorfismo Birmingham, portadores del alelo antecedentes  
Gross MD, polymorphism on Pro12Ala del gen Ala; Chicago, Ill; Ala12 tenían un índice étnicos para influir  
Bray MS, measures of del receptor Minneapolis, Minn; y de masa corporal en las complejas  
Schreiner PJ. adiposity over 15 PPAR $\gamma$ 2 con Oakland, (IMC) inferior a 1,1 kg / relaciones entre la  
(2005) Americans and longitudinales de California, Estados blancos un IMC PPAR $\gamma$ , la  
whites. The adiposidad y Unidos, seguidos superior a 0,6 kg / m<sup>2</sup> adiposidad y la  
CARDIA study. sensibilidad a la prospectivamente ( $p = 0,01$ ), en resistencia a la  
insulina durante la durante 15 años. La comparación con los insulina  
edad adulta en frecuencia del alelo homocigotos Pro12. El  
afroamericanos y Ala12 fue del 2,1% en alelo Ala12 también se  
blancos. los afroamericanos y asoció  
del 12,8% en los significativamente con  
blancos, en un menor riesgo de  
consonancia con síndrome de  
informes anteriores resistencia a la insulina  
incidente en cada raza  
(OR = 0,44,  $p = 0,04$  en  
afroamericanos, OR =  
0,61,  $p = 0,01$  en los  
blancos) y niveles  
medios de 15 años  
más bajos de insulina  
en ayunas ( $p = 0.02$ ),

glucosa ( $p= 0.02$ ) y evaluación del modelo de homeostasis ( $p= 0.01$ ) en afroamericanos pero no en blancos.

Habiba Safar (2015) Al-Association of the Genetic Polymorphisms Transcription Factor 7-Like 2 and Peroxisome Proliferator-Activated Receptors- $\gamma$ 2 with Type 2 Diabetes Mellitus and Its Interaction with Obesity Status in Emirati Population Confirmar asociación de los polimorfismos genéticos en la transcripción del factor 7L2 y el PPAR $\gamma$ 2 con Diabetes Mellitus tipo 2 y su interacción con la obesidad en la población Emirati. lan = 486 de la población Emirati de origen Árabe (272 con DM2 y 216 no diabéticos). El alelo Pro del PPAR $\gamma$ 2 fue similar en los grupos analizados y más del 90% de la población fue mayor riesgo de padecer DM2 en esta población. El polimorfismo Pro12Ala del PPAR $\gamma$ 2 no está asociado con un mayor riesgo de padecer DM2 en esta población.

PPAR  $\beta/\delta$  polimorfismo +294T/C

Josefin Skogsberg, Katja Kannisto, Tobias Cassel, Anders Hamsten, Per Eriksson, Ewa Ehrenborg

Evidence That PPAR  $\beta/\delta$  Proliferator-Activated Receptor  $\delta$  Influences Cholesterol Metabolism in Men.

Explorar el papel de PPAR  $\beta/\delta$  en el metabolismo de lípidos en humanos. años de Estocolmo. Y 282 saludables de 41 a 60 años del público en general.

de 543 hombres de aproximadamente 50 años de Estocolmo. Y 282 saludables de 41 a 60 años del público en general.

Se mostró que el raro alelo C tuvo una mayor actividad de transcripción que el alelo T común. Los ensayos de cambio de movilidad electroforética demostraron que

Estos hallazgos sugieren que PPAR  $\beta/\delta$  desempeña un papel en el metabolismo del colesterol en humanos

(2003)

El polimorfismo 294T/C influyó en la unión de Sp-1. Se produjo una interacción con el polimorfismo PPAR $\alpha$  L162V también

detectado para varios  
parámetros de lípidos

Khouloud Chehaibi & Mohamed Yahia Hrira & Mustapha Rouis Mohamed Najah & Imen Jguirim-Souissi & Samir Noura & Mohamed Naceur Slimane (2013)

Effect of Genetic Polymorphism +294T/C Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Delta on the Risk of Ischemic Stroke in a Tunisian Population

Explorar por primera vez la relación entre el polimorfismo PPAR $\beta/\delta$  y el riesgo de accidente cerebrovascular isquémico en poblaciones de Túnez

El estudio consistió en 196 pacientes de Túnez con accidente cerebrovascular isquémico y 192 controles

Concentraciones plasmáticas de colesterol total, triglicéridos, lipoproteínas de baja y alta densidad no difieren significativamente entre los sujetos que portan el genotipo TT y aquellos portadores del genotipo CC / TC en pacientes con accidente cerebrovascular (con o sin diabetes) y grupos de control. Los genotipos CC y CT en

El polimorfismo de PPAR $\delta$  + 294T/C se asoció con el riesgo de accidente cerebrovascular isquémico en sujetos tunecinos.



M.A. Rosales-Protective role of Determinar si el 178 pacientes (83 Los resultados Las variaciones de Reynoso, L.I. +294T/C polimorfismo de un mujeres y 95 hombres) demostraron que los PPAR  $\beta/\delta$  y como Wence- (rs2016520) solo nucleótido con cáncer de colon y pacientes con el pueden jugar un Chavez, A.R. polymorphism of +294T/C 97 pacientes genotipo T/C para el papel significativo Arredondo- PPAR  $\beta/\delta$  in (rs2016520) en saludables de polimorfismo en la Valdez, S. Mexican patients PPAR  $\beta/\delta$  se asocia Guadalajara Jalisco. +294T/C (rs2016520) susceptibilidad Dumois- Petersen, P. with colorectal con cáncer de colon presenta un papel genética al cáncer Barros-Núñez, cancer (CRC) en la protector contra CRC de colon en la [odds ratio (OR) = población M.P. Gallegos- población mexicana. 0.39; 95% de Mexicana Arreola, S.E. confianza FloresMartínez intervalo (IC) = 0.22- and J. 0.69;  $p = 0,0008$ ] Sánchez- Corona (2017)

#### 4. Hipótesis

Las frecuencias de PPAR $\gamma$ 2 (Pro12Ala) y PPAR  $\beta/\delta$  (+294T/C) entre la población adolescente mestiza y de Le Barón, de una secundaria de la comunidad de Le Barón, son similares.

#### 5. Objetivos

##### 5.1 Objetivo general

Determinar las frecuencias de PPAR $\gamma$ 2 (Pro12Ala) y PPAR  $\beta/\delta$  (+294T/C) en adolescentes de la Telesecundaria 6153 de Le Barón.

##### 5.2 Objetivos particulares

1. Comparar las frecuencias de los polimorfismos PPAR $\gamma$ 2 (Pro12Ala) y PPAR  $\beta/\delta$  (+294T/C) de los adolescentes de la comunidad de Le Barón (mestizos y de Le Barón) por medio de PCR, electroforesis en gel de agarosa y poliacrilamida y digestión.

2. Determinar si existe asociación entre los polimorfismos PPAR $\gamma$ 2 (Pro12Ala) y PPAR  $\beta/\delta$  (+294T/C) con talla, peso, IMC, presión arterial sistólica (PAS), presión arterial diastólica (PAD), circunferencia de cintura (CC), glucosa en ayuno o perfil de lípidos, datos que ya se tienen de los adolescentes.

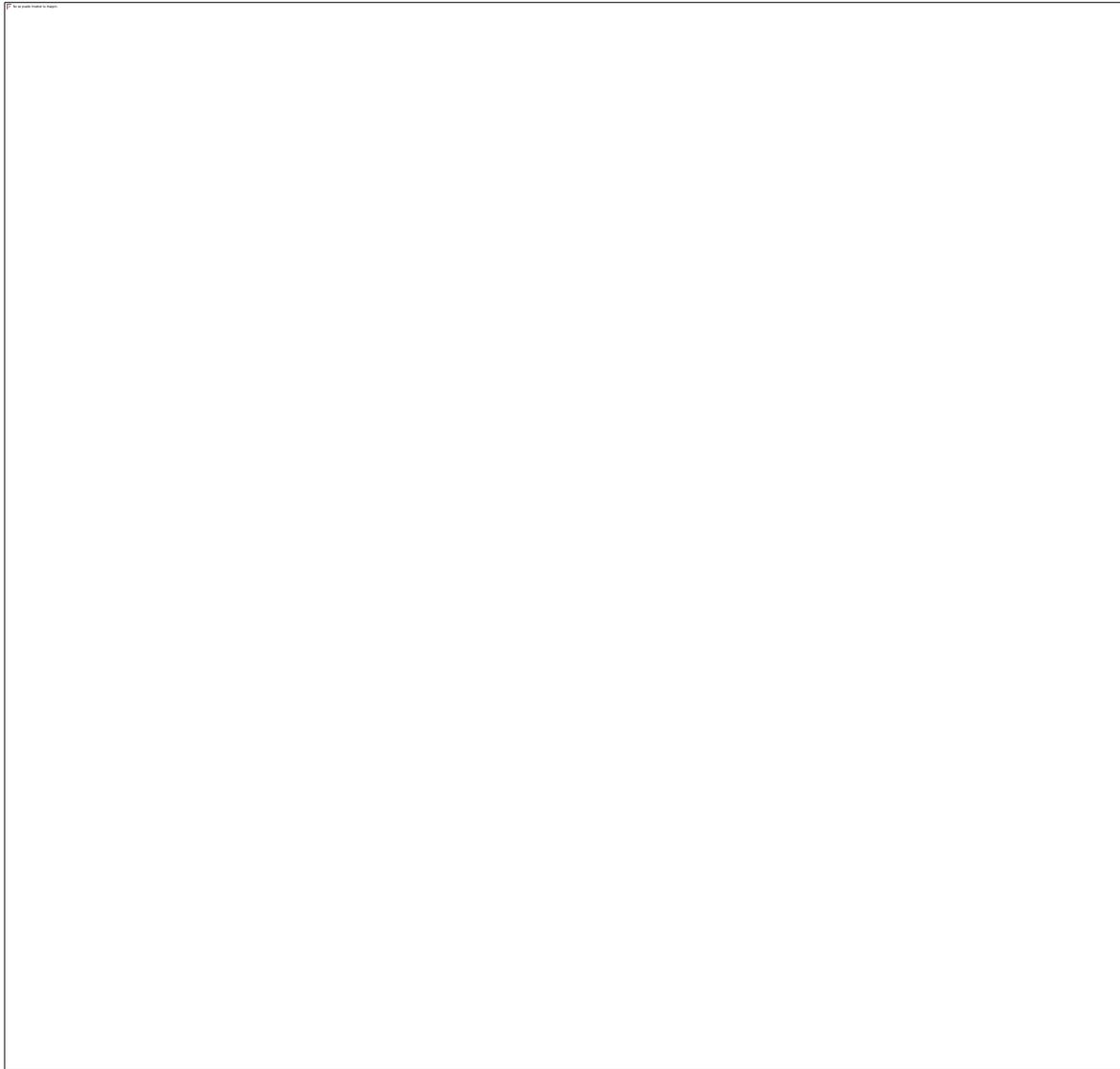
3. Determinar los haplotipos mitocondriales de ancestría (A, B, C, D, H) en la población de Le Barón y compararla entre los grupos de mestizos y de Le Barón.

#### 6. Consideraciones Éticas

Protocolo aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Facultad de Medicina y Ciencias Biomédicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua., con el registro FM-FM-A269/12 y CI040-17.

#### 7. Metodología

A continuación un esquema con los pasos a seguir para determinar la frecuencia de los polimorfismos PPAR $\gamma$ 2 Pro12Ala y PPAR  $\beta/\delta$  +294T/C y la obtención de haplotipos A, B, C, D, H (Figura 6).



**Figura 6.** Esquema de pasos a seguir para determinar la frecuencia de los polimorfismos PPAR $\gamma$ 2 Pro12Ala y PPAR  $\beta/\delta$  +294T/C y la obtención de Haplotipos A, B, C, D, H.

### 7.1 Obtención de muestras

Las muestras sanguíneas se obtuvieron de una brigada de salud para lograr la investigación, específicamente se realizaron en adolescentes de la localidad de Le Barón en la telesecundaria 6153, realizando una junta informativa con los directores, maestros, padres y tutores para proporcionarles la información sobre el proyecto, el procedimiento, los riesgos y beneficios del mismo.

## 7.2 Extracción de ADN

Primero se extrajo el ADN genómico a partir del buffy coat (capa leuco plaquetaria) de sangre periférica con el kit Master Pure Epicentre.

### Protocolo para Purificación de DNA por columna (PureLink Genomic DNA kits. INVITROGEN)

Previo a la extracción: Tubos nuevos estériles de 1.5ml, etanol 96-100% grado biología molecular, baño maría a 55°C.

Lisis:

1. En un tubo de 1.5ml colocar 200µl de muestra (previamente homogenizada).
2. Adicionar 20µL de proteinasa K.
3. Adicionar 20µL de RNasa A, mezclar 10 segundos por vortex, incubar a temperatura ambiente por 2 minutos.
4. Adicionar 200µL del buffer de lisis/unión y mezclar 30 segundos por vortex para obtener una solución homogénea.
5. Incubar a 55°C por 10 minutos para promover la digestión proteica.
6. Adicionar 200µL de etanol 96-100% grado biología molecular al lisado, mezclar bien en vortex por 20 segundos.

Unión de ADN

1. Colocar una columna en un tubo de recolección de 1.5ml y adicionar la muestra (aprox. 640UI)
2. Centrifugar la columna a 13,000rpm/1 minuto/ temperatura ambiente.
3. Descartar el tubo de recolección y colocar la columna en un tubo de recolección proporcionado por el kit.
4. Adicionar 500µL de Buffer de lavado 1 a la columna.
5. Centrifugar a 13,000rpm/1 minuto/ temperatura ambiente.
6. Descartar el tubo de recolección y colocar la columna en un tubo limpio de recolección proporcionada por el kit.
7. Adicionar 500µL de buffer de lavado 2 a la columna.
8. Centrifugar la columna a velocidad máxima por 3 minutos a temperatura ambiente.
9. Colocar la columna en un tubo estéril de 1.5ml.
10. Adicionar 35µL de agua inyectable.
11. Incubar a temperatura ambiente por 1 minuto. Centrifugar la columna a velocidad máxima por 2 minutos a temperatura ambiente.
12. Remover y descartar columna.
13. Conservar a 4°C el ADN obtenido hasta su uso.

### 7.3 Amplificación del polimorfismo PPARγ Pro12Ala del ADN

Para la amplificación del polimorfismo PPARγ Pro12Ala se utilizó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en la cual se usaron tres iniciadores, dos que van corriente abajo (P1 y P2) y uno que va corriente arriba (P3). El cebador P1 (5'-GTGTATCAGTGAAGGAATCGCTTTCTTG-3') es específico para el alelo C (Prolina), el P2 (5'-TTGTGATATGT-TTGCAGACAAGGTATCAGTGAAGGAATCGCTTTGTGC-3') es específico para el

alelo G (Alanina) y el P3 (5'-TTTCTGTGTTTATTCCCATCTCTCCC-3') es un cebador común.

Con una mezcla Buffer de 10x de Invitrogen (2.5µL), 3mM de Mgcl<sub>2</sub> (1.5µL), 100µM de dntps (0.25µL), 5pmol de cada uno de los tres Primers de OligoT4 (0.5µL), 1µL de Taq polimerasa Invitrogen (0.2µL) y 30mg de ADN (2µL).

Utilizando el termociclador Agilent SureCycler 8800: 94°C durante 3 min, seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 94° durante 45 segundos, hibridación a 62° durante 45 segundos y extensión a 72°C durante 45 segundos; a continuación, un paso de extensión final de 5 minutos a 72°C.

Electroforesis en gel de agarosa (Se mezcla: 40ml de TBE IX, 1.2g de agarosa y 4µL de bromuro, se calienta hasta homogenizar y se coloca en bandeja de electroforesis con un peine para que se formen los pozos, se deja una hora para solidificar, después se coloca en la cámara de electroforesis, se cubre el gel con la solución amortiguadora TBE IX al 3%, y se cargan las muestras con el colorante BlueOrange. El gel se corre por 2 horas a 80 volts y se observan los resultados en el foto documentador Mini Bis Pro.

#### 7.4 Amplificación del polimorfismo PPAR β/δ +294T/C del ADN

Para la amplificación del polimorfismo PPAR β/δ +294T/C se utilizó la técnica de PCR β/δ (T+294C) usando dos primers el forward 5'-CATGGTATAGCACTGCAGGAA-3' y el reverse 5'-CTTCCTCCTGTGGCTGCTC-3', con unos volúmenes de buffer 10x Invitrogen (2.5µL), Mgcl<sub>2</sub> 1.5mM (0.75µL), Delta Forward 0.2µM (0.5µL), Delta Reverse 0.2µM (0.5µL), dntps 20µM (0.5µL), Taq polimerasa Invitrogen 1µL (0.2µL) y DNA 30 mg (2µL) con un volumen de 23µL en total de mezcla. Las condiciones de PCR fueron 94°C durante 3 min, seguido de 35 ciclos de desnaturalización a 94° durante 45 segundos, hibridación a 62° durante 45 segundos y extensión a 72°C durante 45 segundos; a continuación, un paso de extensión final de 5 minutos a 72°C utilizando el termociclador Agilent SureCycler 8800.

Luego se colocan las muestras en un gel de agarosa al 2% (40ml de TBE IX, 0.8g de agarosa y 4µL de bromuro, se calienta hasta homogenizar y se coloca en bandeja de electroforesis con un peine para formar los pozos, se deja una hora para solidificar antes de sumergir en la cámara con la solución amortiguadora de electroforesis que en este caso es el TBE IX) por 15min a 90Volts y 15min a 80volts, cuando se vea que la muestra corrió gracias a una fotografía en el fotodocumentador MiniBis Pro se continúa con la digestión.

#### 7.4.1 Digestión de fragmentos amplificados

Se prepara una digestión con un Buffer (thermo scientific) y una enzima BseLI (thermo scientific) en proporción: Agua: 8.5µL, Buffer:1µL, BseLI: 0.5µL y ADN:5µL, se pone en baño maría a 37°C por una hora. El resultado se deposita en un gel de poliacrilamida al 12% (Este se elabora con una mezcla de: Acrilamida/Bisacrilamida: 4mL, TBE 5X: 2mL, agua destilada: 3.93mL, persulfato de amonio al 10%:70µL, y TEMED:10µL, esto se coloca en unas placas de vidrio presionadas especiales y se deja solidificar por una hora con un peine para que haga los pozos, después se sumerge en la cámara con la solución amortiguadora TBE IX) se coloca la digestión en los pozos y se deja por 60 minutos a 120 volts y el resultado se coloca en TBX y 5µL de Bromuro por 15 minutos para después tomar una foto en el fotodocumentador MiniBis Pro y observar los resultados.

#### 7.5 Haplotipos

Para la amplificación de segmentos específicos de ADNmt se realiza una PCR de punto final con cada tipo de haplotipo, preparándose una mezcla con 50 ng de ADN, 1 U/µl Taq polimerasa (invitrogen) o goTaq, Buffer 1x, MgCl<sub>2</sub> 1.5mM, 6 pmol/µl de cada primer, dNTP's a 200µM con a un volumen total de 25 µl. Los primers son para:

1. Haplotipo A: MiL582 y MiH745,
2. Haplotipo B: MiL8209 y MiH8304,

3. Haplotipo C: MiL13179 y MiH13305
4. Haplotipo D: MiL5150 y MiH 5281,
5. Haplotipo H: HL y HH

Los haplotipos mitocondriales entonces permiten la caracterización de las poblaciones. Las enzimas de restricción y el tipo de bandeo que se presenta con cada haplogrupo se resumen en la tabla 2.

Tabla 2. Restricción enzimática de Haplogrupos Mitocondriales

Haplogrupo Mitocondrial	Alelos	Localización ADNmt	Producto de PCR	Enzima de Restricción	+	-
A	A/G	663	163 pb	+HaeIII	81/81 pb	163 pb
B	CCCCCTCTA/-	8272	95 pb 86 pb	9-pb delección	86 pb	95 pb
C	G/A	13262	147 pb	+AluI	84/63 pb	147 pb
D	A/C	5176	132 pb	-AluI	132 pb	104/28 pb
H	C/T	7025	186 pb	-AluI	102/84 pb	84/72/30 pb

Utilizando el termociclador Agilent SureCycler 8800 para los haplotipos A, B, C, D: 94°C durante 3 min, seguido de 30 ciclos de desnaturalización a 94° durante 1 minuto, hibridación a 56°C durante 1 minuto y extensión a 72°C durante 1 minuto; a continuación, un paso de extensión final de 5 minutos a 72°C.

Mientras que para haplotipo H el termociclador se utilizó a: 1 ciclo a 94°C por 3 minutos, 30 ciclos de desnaturalización a 94°C durante 1 minuto, hibridación a 65°C por 1 minuto y extensión a 72°C durante 1 minuto y una extensión final a 72°C por 5 minutos.

En el caso del haplotipo B se realizó electroforesis en gel de agarosa (Se mezcló: 40ml de TBE IX, 1.2g de agarosa y 4 $\mu$ L de bromuro, se calentó hasta homogenizar y se colocó en bandeja de electroforesis con un peine para que se formaran los pozos, se dejó una hora para solidificar antes de sumergir en la cámara con la solución amortiguadora de electroforesis que en este caso es el TBE IX) al 3% por 2 horas a 80 volts y se observan los resultados en el foto documentador Mini Bis Pro.

En el caso de los haplotipos A, C, D, H se colocó las muestras en un gel de agarosa al 2%(Se mezcló: 40ml de TBE IX, 0.8g de agarosa y 4 $\mu$ L de bromuro, se calentó hasta homogenizar y se colocó en bandeja de electroforesis con un peine para formar los pozos, se dejó una hora para solidificar antes de colocar en la cámara con la solución amortiguadora de electroforesis que en este caso es el TBE IX) por 15min a 90Volts y 15min a 80volts, cuando se vea que la muestra corrió gracias a una fotografía en el fotodocumentador MiniBis Pro se continúa con la digestión.

#### 7.5.1 Digestión de Haplotipos A, C, D, H

Haplotipo A: Se realizó una digestión se usan 0.25 $\mu$ l de enzima HaeIII 10u/ $\mu$  (BioLabs) con 5  $\mu$ l de producto PCR a volumen final de 20  $\mu$ l y se incuba a 37°C por 1 hr en baño María. Luego se realizó electroforesis en gel de agarosa (Se mezcló: 40ml de TBE IX, 1.2g de agarosa y 4 $\mu$ L de bromuro, se calentó hasta homogenizar y se colocó en bandeja de electroforesis con un peine para que se formen los pozos, se dejó una hora para solidificar antes de colocar en la cámara con la solución amortiguadora de electroforesis que en este caso es el TBE IX) al 3% por 90 minutos a 80 volts, con un marcador de 100pb (Hiperladder) y se observan los resultados en el fotodocumentador Mini Bis Pro.

Haplotipo C, D: Se realizó con enzima AluI 10u/ $\mu$  (BioLabs) utilizando 0.25 $\mu$ l con 2  $\mu$ l de producto PCR para volumen final de 20  $\mu$ l , en seguida se incubó a 37°C por 1 hr en baño María y, se realizó electroforesis en gel de Poliacrilamida al 12% con marcador de 50 pb (Hiperladder) el Haplotipo C y 25 pb (Hiperladder) el Haplotipo D, y 15  $\mu$ l del total de la digestión a 120 Volts por 90 min, luego se sacó el gel y se

coloca en TBX y 5µL de Bromuro por 15 minutos para después tomar una foto en el fotodocumentador MiniBis Pro y observar los resultados.

Haplotipo H: Se realizó con enzima AluI 10u/µ (BioLabs) utilizando 0.25µl con 2µl de producto PCR para volumen final de 25µl, se incubó a 37°C por 1 hrs en baño María y se realizó electroforesis en gel de Poliacrilamida al 12% con marcador de 25 pb y 15 µl del total de la digestión a 120 Volts por 70 min, luego se sacó el gel y se colocó en TBX y 5µL de Bromuro por 15 minutos para después tomar una foto en el fotodocumentador MiniBis Pro y observar los resultados.

## 7.6 Métodos estadísticos

Por medio de un análisis en el programa Minitab 18 y después su confirmación en el programa STATA versión 11 se determinó que parámetros necesitaban el cálculo de una media o una mediana con desviación estándar o rango intercuartílico respectivamente, así como su valor  $p$  por medio de prueba de Wilcoxon o  $t$  de student, según fuera el caso.

## 8. Variables

### 8.1 Variable independiente

*8.1.1 Polimorfismo Pro12Ala en el PPAR $\gamma$ 2:* En el exón B (codón 12) sucede una sustitución en la posición 34 CCA-GCA causando un cambio de aminoácido de Prolina por Alanina (Pro12Ala siendo Pro el alelo ancestral y Ala el modificado)(Yen et al., 1997).

#### 1. *Indicadores*

1. Pro/Pro

2. Pro/Ala

3. Ala/Ala

4. *Escala de medición:* Nominal

5. *Medición de la variable:* Mediante la extracción de ADN de las muestras de Le Barón, seguido por la amplificación del polimorfismo por medio de PCR y observando los resultados mediante una electroforesis en agarosa.

8.1.2 *Polimorfismo +294T/C en el PPAR  $\beta/\delta$ :* Este polimorfismo está en el exón 4 del PPAR  $\beta/\delta$ , donde altera la afinidad de unirse del factor de transcripción SP1, con los portadores de la variante alélica C teniendo mayor actividad de transcripción que el alelo ancestral T (J Skogsberg et al., 2000).

6. *Indicadores*

7. T/T

8. T/C

9. C/C

10. *Escala de medición:* Nominal

11. *Medición de la variable:* Mediante la extracción de ADN de las muestras de Le Barón, seguido por la amplificación del polimorfismo por medio de PCR y observando los resultados mediante una electroforesis en agarosa, si se observa bandeo entonces se hace una digestión con enzima BseLI y se observan resultados en electroforesis de poliacrilamida.

## 8.2 Variables dependientes

8.2.1 *Percentil del índice de masa corporal (pIMC):* El IMC es un índice antropométrico indicativo de la composición corporal que se calcula dividiendo el peso corporal expresado en kilogramos por la talla expresada en metros elevada al cuadrado, como esta composición cambia con el crecimiento y diferencias de adiposidad por género se compara el peso y la estatura contra tablas de crecimiento en percentiles específicos para edad y sexo (Ana I. Burguete-García, 2014).

12. *Indicadores*

13. Bajo peso: Menor que percentil 5 para edad y sexo.
14. Normal peso: percentil 5 hasta debajo de percentil 85
15. Sobre peso: Percentil 85 hasta debajo de percentil 95
16. Obesidad: Igual o mayor al percentil 95
17. *Escala de medición:* Razón.
18. *Medición de la variable:* Se calculó el IMC con el peso en kilogramos y la talla en metros y después se comparó el resultado en las tablas de crecimiento percentil por edad y género.

8.2.2 Percentil de la circunferencia de cintura (pCC): Medida utilizada para la estimación de la grasa abdominal debido a que se correlaciona significativamente con la grasa intra abdominal y con ello posiblemente identificar a las personas con mayor riesgo cardiometabólico (Ana I. Burguete-García, 2014).

19. *Indicadores*
20. No se considera factor de riesgo para SM: Menor que p90.
21. Factor de riesgo para SM: Mayor o igual que p90
22. *Escala de medición:* Razón.
23. *Medición de la variable:* Para identificar la cintura y tomar la medición debe ser realizada a nivel la línea media axilar, en el punto medio entre el reborde costal y la cresta iliaca en posición erguida. Se recomienda realizar al menos 2 mediciones las cuales deben ser promediadas.

8.2.3 Percentil de la presión arterial (pPA): La presión arterial (PA) es la fuerza de la sangre al ser bombeada contra las paredes de las arterias, los valores que la componen son dos, el primero es la presión arterial sistólica que se refiere a la fuerza con que la sangre es bombeada, y la segunda es la presión arterial diastólica es la presión que la sangre ejerce cuando el corazón se relaja, los valores se

expresan en milímetros de mercurio (mmHg). Este percentil se clasifican en tablas con variables de edad, sexo, peso y talla (Heart, 2005).

24. *Indicadores*

25. PA (sistólica y/o diastólica) menor que p90.

26. PA riesgo (sistólica y/o diastólica) mayor o igual que p90

27. *Escala de medición: Razón.*

28. *Medición de la variable:* Después de reposar por al menos 5 minutos se adopta una posición erguida y se apoya el brazo derecho a la altura del corazón, se coloca el brazalete en el punto medio entre el olecranon y el acromion, situando el fonendoscopio en la flexura del codo sobre la arteria radial y se infla el brazalete hasta que desaparezca el pulso arterial y se infla otros 20mmHg mas. La aparición del primer ruido de Korotkoff define la aparición de la presión sistólica y el último ruido (el quinto de Korotkoff) determina la diastólica. Deben tomarse al menos tres mediciones y obtener la media de las mismas. NOTA: en este estudio solo se realizó una medición debido a la logística de las brigadas, por lo que se considera una debilidad en el estudio.

8.2.4 Percentil de la relación circunferencia de cintura/talla (pCCT): Se define como el cociente que se obtiene entre el valor de la circunferencia de la cintura y la talla, tiene la ventaja de ser independiente de la edad convirtiéndolo en un vaticinador más significativo que el IMC(Mokha et al., 2010).

29. *Indicadores*

30. Peso normal: CCT <0.45

31. Sobrepeso abdominal: CCT mayor o igual a 0.45 pero mejor que 0.50

32. Obesidad abdominal: CCT mayor o igual que 0.50

33. *Escala de medición: Razón.*

34. *Medición de la variable:* Se mide la circunferencia de la cintura a nivel la línea media axilar, en el punto medio entre el reborde costal y la cresta iliaca en posición erguida. Se recomienda realizar al menos 2 mediciones las cuales deben ser promediadas, para la talla se coloca en una posición erguida brazos relajados a los costados, talones juntos, cabeza en plano horizontal de Frankford, midiendo de la base de los talones a la punta de la cabeza, para obtener el cociente se divide la circunferencia de la cintura entre la talla.

8.2.5 Glucosa en ayuno (mg/dl): Es la cantidad de glucosa en sangre antes de los primeros alimentos del día, los niveles normales de glucosa en edad pediátrica oscilan entre los 50 y 100 mg/dl, siendo considerados por la Asociación Americana de Diabetes (ADA) como alteración en el metabolismo de la glucosa valores mayores a 100 mg/dl en adolescentes, siendo esto un criterio para presentar SM(Borrás Pérez & López Sigüero, 2006).

35. *Indicadores*

36. Hipoglucemia: Menor que 50mg/dl en ayuno.

37. Normoglucemia: Mayor o igual que 50mg/dl pero menor que 100mg/dl.

38. Hiperglucemia: Mayor que 100mg/dl en ayuno.

39. *Escala de medición:* Razón.

40. *Medición de la variable:* Muestra de sangre se realiza química sanguínea.

8.2.6 Triglicéridos (mg/dl): Son moléculas antipáticas transportadas por lipoproteínas en la sangre, siendo de las más importantes los quilomicrones, y que forman parte de la dislipidemia aterogénica cuando se da un exceso triglicéridos asociados con déficit de c-HDL, siendo el punto de corte 110 para población pediátrica(Cook, Weitzman, Auinger, Nguyen, & Dietz, 2003; Ponte, 2009).

41. *Indicadores*

42. Triglicéridos adecuados: Menor que 110mg/dl.

43. Triglicéridos límite superior: Mayor o igual que 110mg/dl.

44. *Escala de medición:* Razón.

45. *Medición de la variable:* Muestra de sangre se realiza perfil de lípidos.

8.2.7 Colesterol ligado a lipoproteína de alta densidad (c-HDL mg/dl): Son lipoproteínas de alta densidad (High density lipoproteins) son las encargadas de transportar el colesterol desde los tejidos del cuerpo hasta el hígado para ser eliminado, dando como resultado que si se encuentra en gran cantidad protege contra enfermedades cardiovasculares. En población pediátrica se considera factor de riesgo mayor o igual a 40mg/dl (Ana I. Burguete-García, 2014; Clínica, Galega, & Interna, 2011).

46. *Indicadores*

47. c-HDL bajo, factor de riesgo: Menor de 40mg/dl.

48. c-HDL alto, factor protector: Mayor o igual 40mg/dl.

49. *Escala de medición:* Razón.

50. *Medición de la variable:* Muestra de sangre se realiza perfil de lípidos.

8.2.8 Colesterol total (mg/dl): El colesterol es una sustancia estructural esencial en la membrana plasmática, precursora de todas las hormonas esteroideas, ácidos biliares y vitamina D, que cuando se encuentra en aumento favorece el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Siendo la pauta aceptada por el Instituto Nacional del Corazón, los Pulmones y la Sangre para niños y adolescentes de 2 a 19 años de menor de 170mg/dl (Heart, 2012).

51. *Indicadores*

52. Aceptable: Menor de 170mg/dl.

53. Límite: Mayor o igual 170mg/dl pero menor que 200mg/dl.

54. Alto: Mayor o igual a 200mg/dl.

55. *Escala de medición:* Razón.

56. *Medición de la variable:* Muestra de sangre se realiza perfil de lípidos

8.2.9 Colesterol ligado a lipoproteína de baja densidad (c-LDL mg/dl): Por sus siglas en inglés Low Density Lipoprotein son las encargadas del transporte del colesterol del hígado hacia los tejidos periféricos para la síntesis de membrana son altamente aterogénicas (Clínica et al., 2011).

57. *Indicadores*

58. Aceptable: Menor de 110mg/dl.

59. Límite: Mayor o igual 110mg/dl pero menor que 200mg/dl.

60. Alto: Mayor o igual a 200mg/dl.

61. *Escala de medición:* Razón.

62. *Medición de la variable:* Muestra de sangre se realiza perfil de lípidos

8.2.10 Colesterol ligado a lipoproteína de muy baja densidad (c-VLDL mg/dl): Por sus siglas en inglés Very Low-Density Lipoprotein son las encargadas del transporte de lípidos desde el lugar de síntesis hepática hasta los tejidos periféricos, se consideran partículas aterogénicas especialmente las de menor tamaño y contenido en triglicéridos y sus remanentes (Clínica et al., 2011).

63. *Indicadores*

64. Los valores normales se encuentran entre 5 y 40mg/dl.

65. *Escala de medición:* Razón.

66. *Medición de la variable:* Muestra de sangre se realiza perfil de lípidos.

8.2.11 Índice aterogénico o de Castelli: Toma en cuenta el nivel de colesterol total y el colesterol HDL y la relación entre ambos siendo con ello un indicador de riesgo de enfermedades cardiovasculares, el aumento de la concentración de colesterol total, es un marcador de las lipoproteínas aterogénicas mientras que una disminución de la concentración de c-HDL se correlaciona con factores de riesgo (Gulgar & Castellanos, 2018).

- 67. *Indicadores*
- 68. Riesgo cardiovascular en varones: > 4.0
- 69. Riesgo cardiovascular en mujeres: > 3.5.
- 70. *Escala de medición: Razón.*
- 71. *Medición de la variable:* Con el valor de colesterol total y de c-HDL se determina el cociente entre los dos.

### 8.3 Variables universales

8.3.1 Edad: Tiempo que ha transcurrido desde el nacimiento de la persona hasta la fecha.

- 72. *Indicadores*
- 73. Años
- 74. *Escala de medición: Razón.*
- 75. *Medición de la variable:* Se realiza una encuesta.

8.3.2 Sexo: Conjunto de características en los individuos de una especie que los divide en femenino y masculino y hace posible una reproducción.

- 76. *Indicadores*
- 77. Femenino
- 78. Masculino
- 79. *Escala de medición: Nominal.*
- 80. *Medición de la variable:* Se realiza una encuesta.

8.3.3 Peso corporal (kg): Parámetro cuantitativo que indica la masa corporal.

- 81. *Indicadores*
- 82. Gramos

83. *Escala de medición:* Razón.

84. *Medición de la variable:* Con la ayuda de una báscula se mide el peso corporal, se coloca en ella con ropa ligera y sin objetos pesados, erguido con ambos talones juntos y brazos a los costados.

8.3.4 Talla (m, cm): Medición lineal tomada de la base de los pies hasta la punta de la cabeza.

85. *Indicadores*

86. centímetros

87. metros

88. *Escala de medición:* Razón.

89. *Medición de la variable:* Con la ayuda de un estadiómetro se mide la distancia de la base de los pies hasta la punta de la cabeza en una posición erguida con la cabeza horizontal de Frankford.

#### 8.4 Variables confusoras

8.4.1 Grupo étnico: Término que se utiliza para individuos que comparten ciertas características como valores culturales fundamentales, raciales, religiosos y se auto perpetúa biológicamente, y cuenta con miembros que se identifican a sí mismos y son identificados por otros (Fredrik Barth, 1976).

90. *Indicadores*

91. Mestizo

92. Le Barón

93. *Escala de medición:* Nominal.

94. *Medición de la variable:* Se pregunta al encuestado y lo verifican las trabajadoras sociales.

95. *Haplotipos:* A, B, C, D, combinaciones de las anteriores o H.

8.4.2 Actividad física: Movimiento corporal producido por la acción muscular voluntaria que aumenta el gasto de energía y se puede medir por el equivalente metabólico (MET) que es la cantidad de energía (oxígeno) que el cuerpo utiliza cuando se estar sentado tranquilamente, considerándose de 3 a 6 MET actividad moderada y mayor de 6 MET se considera actividad vigorosa (Aznar & Webster, 2006).

96. *Indicadores*

97. Inactividad física

98. Actividad física moderada

99. Actividad física intensa

100. *Escala de medición:* Nominal.

101. *Medición de la variable:* No se cuentan con estos datos en el estudio.

### 8.5 Variables predictivas independientes.

8.5.1 Alimentación respecto al tipo de dieta: Se considera una dieta correcta a aquella que, de manera equilibrada, aporta todos los nutrientes al organismo (Bourges, 2001).

102. *Indicadores*

103. Dieta marginal (maíz, chile, frijol, algunas verduras, mínimo producto animal)

104. Dieta intermedia (se le suma cereales trigo y arroz)

105. Dieta opulenta (todos los grupos alimenticios)

106. *Escala de medición:* Nominal.

107. *Medición de la variable:* No se cuentan con estos datos en el estudio.

## 9. Resultados

### **1. Comparar las frecuencias de los polimorfismos PPAR $\gamma$ 2 (Pro12Ala) y PPAR $\beta/\delta$ (+294T/C) de los adolescentes de la comunidad de Le Barón (población total, mestizos y de Le Barón) por medio de PCR, electroforesis en gel de agarosa y poliacrilamida y digestión.**

En este estudio se analizaron 72 muestras de estudiantes adolescentes de la Telesecundaria 6153 de la comunidad de Le Barón, localizada en el Municipio de Galeana en el Estado de Chihuahua, de los cuales 53 fueron mestizos y 19 de la comunidad Le Barón.

Se determinaron las frecuencias genotípicas del polimorfismo Pro12Ala de PPAR $\gamma$ 2 por medio de PCR de punto final y los fragmentos se visualizaron por electroforesis. El bandeo representativo se muestra en la Figura 7, una primera columna con las iniciales MPM (marcador de peso molecular) de 100 pares de bases (pb) contra el que se comparan las bandas de las muestras 1, 2, 3, 4, 5, 6. En la muestra 1 se observó solo una banda de 250pb, lo cual corresponde a ser homocigoto para Ala/Ala, mientras que las muestras 2, 4 y 5 fueron heterocigotas por presentar dos bandas 230/250pb que corresponde a Pro/Ala y las muestras 3 y 6 resultaron homocigota Pro/Pro por tener sólo la banda de 230pb.

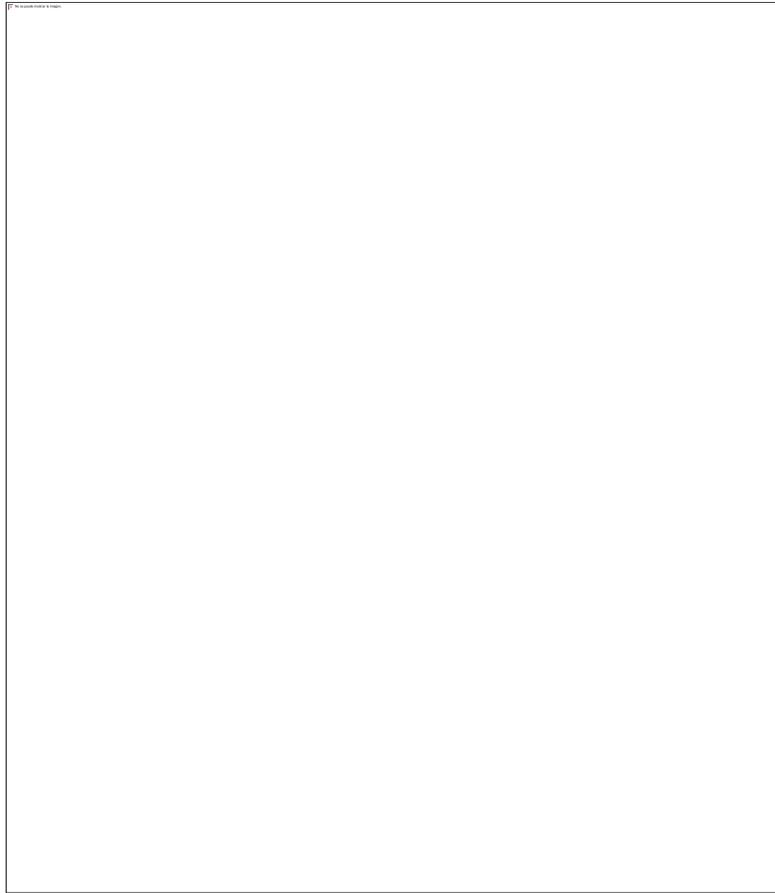
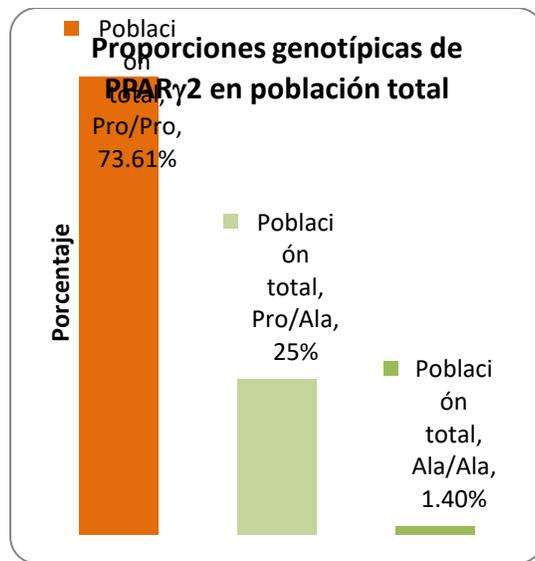


Figura 7. PPAR $\gamma$ 2 (Pro12Ala). Gel de Agarosa al 3%. Teñido con Bromuro de etidio (5 $\mu$ l). 3  $\mu$ l de producto de PCR + 1.5 $\mu$ l de buffer 6x BlueOrange. Electroforesis 120min a 80 Volts. Primer carril: MPM de 100pb de Invitrogen, indicando con líneas las bandas de 100, 200 y 300pb, los carriles señalados con una flecha muestran cómo se identifican los diferentes genotipos, en el carril 1 está señalado Ala/Ala con 250pb, en el carril 4 está señalado el Pro/Ala con 230/250pb y en el carril 6 está señalado el Pro/Pro con la banda 230pb.

Con la frecuencia genotípica observada se calculó la frecuencia alélica del polimorfismo PPAR $\gamma$ 2 (Tabla 3, Figura 8) utilizando la fórmula de Hardy-Weinberg (PPAR $\gamma$ 2: Tabla 4 para población total, Tabla 5 para mestizos y Tabla 6 para Le Barón) para determinar si la población está en equilibrio respecto del valor observado y el esperado se realizó la prueba de Chi<sup>2</sup>.



**Figura 8.** Proporciones genotípica de PPAR $\gamma$ 2 en la población total.

**Tabla 3.** Distribución genotípica y alélica de PPAR $\gamma$ 2 en la población total.

PPAR $\gamma$ 2 Polimorfismo	Población Total n
Frecuencias Genotípica	
CC(Pro/Pro)	53
CG(Pro/Ala)	18
GG(Ala/Ala)	1
* Alélica	
C	124=86.11%
G	20=13.89%
*Calculada con la fórmula de H-W $(P+q)^2=1$	

**Tabla 4.** Equilibrio Hardy-Weinberg del polimorfismo PPAR $\gamma$ 2 en población total.

Genotipos	CC	CG	GG	<i>p</i>
Observado	53	18	1	0.9311
Esperado	53.38	17.22	1.38	
Prueba de Chi <sup>2</sup> . CC (Pro/Pro), CG (Pro/Ala), GG (Ala/Ala)				

**Tabla 5.** Equilibrio Hardy-Weinberg del polimorfismo PPAR $\gamma$ 2 en población mestiza.

Genotipos	CC	CG	GG	<i>p</i>
Observado	41	22	1	0.9651
Esperado	40.79	11.40	0.79	
Prueba de Chi <sup>2</sup> . CC (Pro/Pro), CG (Pro/Ala), GG (Ala/Ala)				

**Tabla 6.** Equilibrio Hardy-Weinberg del polimorfismo PPAR $\gamma$ 2 en población Le Barón.

Genotipos	CC	CG	GG	<i>p</i>
Observado	12	7	0	0.6146
Esperado	12.64	5.70	0.6446	
Prueba de Chi <sup>2</sup> . CC (Pro/Pro), CG (Pro/Ala), GG (Ala/Ala)				

Se puede observar que según el valor *p* obtenido con la prueba de Chi<sup>2</sup>, indican que la población total y por separado mestizos y Le Barón están en equilibrio Hardy-

Weinberg para el polimorfismo PPAR $\gamma$ 2 (Tabla 4, *p*: 0.9311; Tabla 5, *p*: 0.9651 y Tabla 6, *p*: 0.6146).

Se realizó la amplificación por medio de PCR de punto final del polimorfismo PPAR  $\beta/\delta$ , se puede observar el gel de agarosa en la Figura 9 y digestión enzimática y los fragmentos se visualizaron por electroforesis en poliacrilamida. En la Figura 9 podemos observar un gel de agarosa al 2% donde en la primera muestra se encuentra el marcador de peso molecular de 50pb, las muestras del 1 al 4 son de adolescentes de Le Barón, una banda definida muestra que la PCR se realizó con alta especificidad y se puede proceder a la digestión enzimática de la muestra y su electroforesis en poliacrilamida.

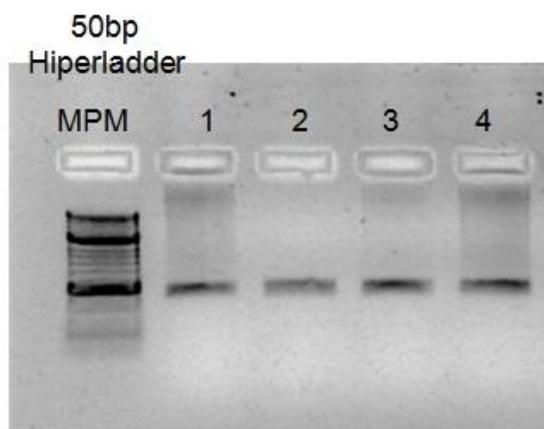


Figura 9. PPAR  $\beta/\delta$  +294T/C. Gel de agarosa al 2% Teñido con Bromuro de Etidio. 2.5  $\mu$ l de producto de PCR + 1.5  $\mu$ l de buffer 6x BlueOrange. Electroforesis 15min a 90 Volts. Primer carril: MPM (marcador de peso) 50bp Hiperladder, seguido de cuatro muestras con los números 1, 2, 3 y 4 con bandas consistentes que demuestras la correcta amplificación por medio de PCR.

Podemos observar en la Figura 10 un gel de poliacrilamida al 12%, en el primer carril se encuentra el marcador de peso molecular de 50 pb, en el carril 1 está el control positivo para heterocigoto de bandeo (269/167/102pb), en el carril 2 y 3 se observa un bandeo de 269pb correspondiente a TT (homocigoto ancestral), en el carril 4 se observan dos bandas una de 162pb y otra de 102pb correspondiente al homocigoto CC y por último el carril 5 tiene las tres bandas correspondientes al heterocigoto TC.

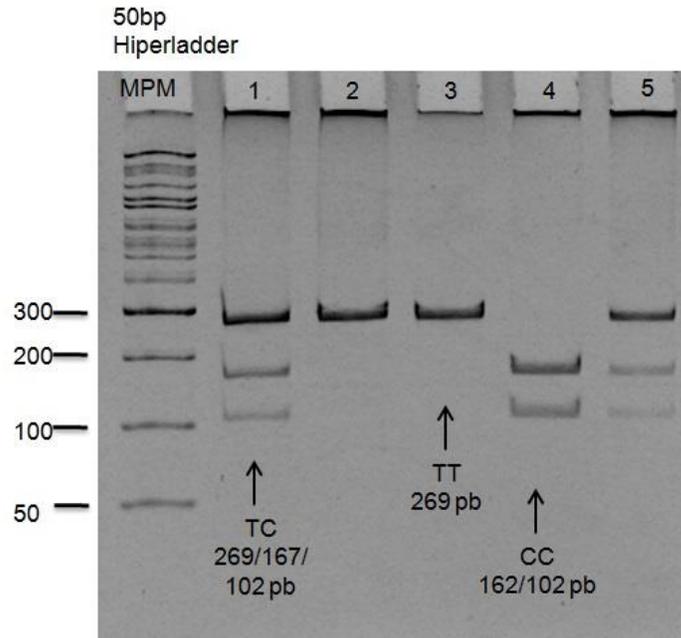
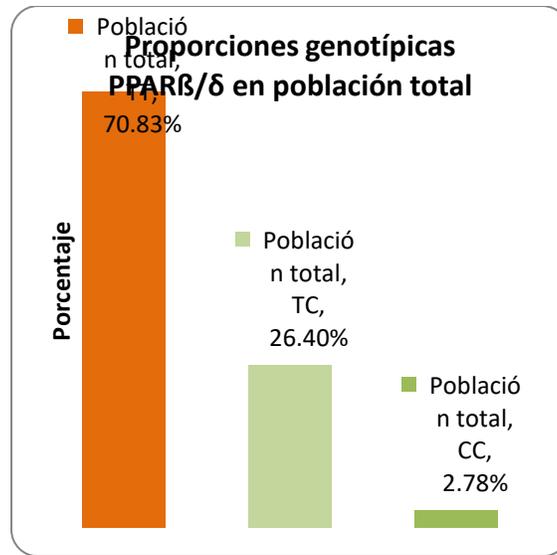


Figura 10. PPAR  $\beta/\delta$  +294T/C. Poliacrilamida al 12%. 15  $\mu$ l de producto de PCR + 1.2 de buffer 10x BlueJuice. Electroforesis 60min a 120 Volts. Se observa en el primer carril: MPM (marcador de peso molecular) de 50pb de Hiperladder, con las marcas donde están los 50, 100, 200 y 300pb, en el carril 1 y 5 está el control positivo y una muestra positiva respectivamente con tres bandas (269/167/102pb) correspondiente al heterocigoto TC, en el carril 2 y 3 hay una sola banda de 269pb que es homocigoto TT (ancestral), carril 4 hay dos bandas 162/102pb corresponde al homocigoto CC.

Con la frecuencia genotípica observada se calculó la frecuencia alélica del polimorfismo PPAR  $\beta/\delta$  (Tabla 7, Figura 11) utilizando la fórmula de Hardy-Weinberg (PPAR  $\beta/\delta$ : Tabla 8 para población total, Tabla 9 para mestizos y Tabla 10 para Le Barón) para determinar si la población está en equilibrio respecto del valor observado y el esperado se realizó la prueba de  $\chi^2$ .



**Figura 11.** Proporciones genotípicas del polimorfismo PPAR  $\beta/\delta$  en la población total de Le Barón.

Tabla 7. Frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo PPAR  $\beta/\delta$ , en la población total de Le Barón

PPAR $\beta/\delta$ polimorfismo	Población Total n
<b>Frecuencias Genotípica</b>	
TT	
TC	51
CC	19
	2
<b>*Alélica</b>	
T	121=84.02%

C	23=15.98%
*Calculada con la fórmula de H-W $(P+q)^2=1$	

**Tabla 8.** Equilibrio Hardy-Weinberg del polimorfismo PPAR  $\beta/\delta$  en población total.

Genotipos	TT	TC	CC	<i>p</i>
Observado	51	19	2	0.9890
Esperado	50.83	19.33	1.83	
Prueba de $\chi^2$ .				

**Tabla 9.** Equilibrio Hardy-Weinberg del polimorfismo PPAR  $\beta/\delta$  en población mestiza.

Genotipos	TT	TC	CC	<i>p</i>
Observado	38	14	1	0.9765
Esperado	38.20	13.58	1.20	
Prueba de $\chi^2$ .				

**Tabla 10.** Equilibrio Hardy-Weinberg del polimorfismo PPAR  $\beta/\delta$  en población de Le Barón.

Genotipos	TT	TC	CC	<i>p</i>
Observado	13	5	1	0.8641
Esperado	12.64	5.7	0.6447	

Prueba de Chi<sup>2</sup>.

Dado que los valores de  $p$  no fueron significativos, se concluye que la población total y por grupo, se encuentran en equilibrio para el polimorfismo PPAR  $\beta/\delta$  (Tabla 8 de la población Total  $p= 0.9890$ , Tabla 9 población mestiza  $p= 0.9765$  y Tabla 10 población de Le Barón  $p= 0.8641$ ).

**2. Determinar si existe asociación entre los polimorfismos PPAR $\gamma$ 2 (Pro12Ala) y PPAR  $\beta/\delta$  (+294T/C) con indicadores metabólicos, datos que ya se tienen de los adolescentes.**

En la Tabla 11 se muestran características generales y valores continuos de los indicadores metabólicos de la población total, mestizos y Le Barón

**Tabla 11.** Comparación de las características generales e indicadores metabólico entre las poblaciones.

Parámetros	Total	Le Báron	Mestizos	$p$
	Media $\pm$ DE/Md (RIQ)	Media $\pm$ DE/Md (RIQ)	Media $\pm$ DE/Md (RIQ)	
Edad (años)	13.181 $\pm$ 0.954	12.78 $\pm$ 0.85	13.32 $\pm$ 0.95	0.0364 <sup>+</sup>
Sexo (M/F)	29/43	10/9	19/34	0.2006 <sup>^</sup>
Peso (Kg)	49(42.3-54.3)	48(36.4-52)	50.2(42.8-56.4)	0.1797 <sup>+</sup>
Talla (cm)	156.84 $\pm$ 8.75	157.98 $\pm$ 9.62	156.42 $\pm$ 8.47	0.5086 <sup>+</sup>
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	19.2(17.6-22.1)	18.5(15.1-19.8)	19.7(18.1-23)	0.0181 <sup>+</sup>
PAS (mmHg)	112.43 $\pm$ 9.75	110.78 $\pm$ 9.17	113.01 $\pm$ 9.97	0.3963 <sup>+</sup>

PAD (mmHg)	80(70-80)	70(70-80)	80(70-80)	0.1088*
CC (cm)	64(59-68)	61(55-65)	64.5(60.25-72)	0.0398+
CCT(índice)	0.4(0.37-0.44)	0.38(0.36-0.4)	0.42(0.37-0.47)	0.0082+
Glucosa(mg/dl)	89(85-93)	87(83-93)	90(85-93)	0.0999+
CT(mg/dl)	153.40±27.28	153.21±20.11	153.47±29.60	0.9717+
TG(mg/dl)	70.5(52-100.1)	51.9(41.2-81.7)	74.2(55.9-108.1)	0.0112+
c-VLDL(mg/dl)	14.1(10-20.02)	10.4(8.24-16.3)	14.84(11.2-21.6)	0.0112+
c-LDL(mg/dl)	85.21±21.38	84.45±14.75	85.48±23.42	0.8265+
c-HDL(mg/dl)	52.08±10.69	55.42±11.33	50.88±10.29	0.1130+
IA(mg/dl)	3(2.5-3.4)	2.6(2.5-3.1)	3.1(2.7-3.4)	0.0874+

\*Prueba Wilcoxon \*Md=Mediana, RIQ=rango intercuartílico, ^Prueba de Chi<sup>2</sup> y +Prueba t de student, DE=Desviación estándar, M/F (Masculino, Femenino), IMC(Índice de masa corporal),PAS (Presión arterial sistólica), PAD (Presión arterial diastólica), CC (Circunferencia de cintura), CCT (cociente cintura talla), CT (Colesterol total), TG (Triglicéridos), c-VLDL (colesterol unido a lipoproteína de muy baja densidad), c-LDL (colesterol unido a lipoproteína de baja densidad), c-HDL (colesterol unido a lipoproteína de alta densidad), IA (índice aterogénico). **NOTA: lo que está en rojo indica diferencias significativas.**

Por tratarse de adolescentes, varios de los indicadores metabólicos se deben expresar en percentiles. Separamos los resultados de manera dicotómica en valores normales y anormales, de acuerdo al percentil, por población total, y por grupo Le Barón y mestizos, como se observa en la Tabla 12.

Tabla 12. Proporciones de individuos de acuerdo a valores normales y anormales de los diferentes componentes metabólicos.

Componentes	Población Total	Le Barón	Mestizos	OR (CI 95%)
-------------	-----------------	----------	----------	-------------

		n (%)			p
			n (%)	n (%)	
pIMC	<p85	53(73.61%)	16(84.21%)	37(69.8%)	2.306(0.588-9.03)
	≥p85	19(26.39%)	3(15.78%)	16(30.2%)	0.230
pPAS	<p90	61(84.72%)	18(94.73%)	43(81.13%)	4.186(0.49-35.15)
	≥p90	11(15.27%)	1(5.27%)	10(18.87%)	0.187
pPAD	<p90	33(45.83%)	13(68.42%)	20(37.73%)	3.57(1.17-10.90)
	≥p90	39(54.16%)	6(31.58%)	33(62.27%)	0.025
pPA	<p90	30(41.66%)	12(63.16%)	18(33.97%)	3.33(1.11-9.93)
	≥p90	42(58.34%)	7(36.84%)	35(66.03%)	0.031
pCC	<P90	68(95.77%)	19(100%)	49(94.23%)	1.99(0.64-6.18)
	≥P90	3(4.22%)	0	3(5.77%)	0.233
CCT	<0.45	54(76.05%)	17(89.47%)	37(71.15%)	3.44(0.70-16.78)
	≥0.45	17(23.94%)	2(10.53%)	15(28.85%)	0.126
CT	<170	54(75%)	14(73.68%)	40(75.47%)	0.909(0.27-3.01)
	≥170	18(25%)	5(26.32%)	13(24.53%)	0.877
TG	<110	58(80.55%)	17(89.49%)	41(77.36%)	2.48(0.5-12.32)
	≥110	14(19.44%)	2(10.53%)	12(22.64%)	0.264
c-HDL	>40	9(12.5%)	17(89.49%)	46(86.79%)	1.29(0.24-6.85)
	≤40	63(87.5%)	2(10.53%)	7(13.21%)	0.762
c-LDL	<110	62(86.11%)	18(94.74%)	44(83.02%)	3.68(0.43-31.21)
	≥110	10(13.89%)	1(5.26%)	9(16.98%)	0.232
IA	Normal	64(88.88%)	17(89.49%)	47(88.68%)	1.085(0.19-5.9)

Alterado*	8(11.11%)	2(10.53%)	6(11.32%)	0.925
-----------	-----------	-----------	-----------	-------

\*Md=Mediana, RIQ=rango intercuartílico, DE=Desviación estándar, OR=razón de momios, IC=Intervalo de confianza, M/F (Masculino, Femenino), pIMC(percentil de Índice de masa corporal), pPAS (percentil de presión arterial sistólica), pPAD (percentil de presión arterial diastólica), CC (Circunferencia de cintura), CCT (cociente cintura talla), CT (Colesterol total), TG (Triglicéridos), c-VLDL (colesterol unido a lipoproteína de muy baja densidad), c-LDL (colesterol unido a lipoproteína de baja densidad), c-HDL (colesterol unido a lipoproteína de alta densidad), IA (índice aterogénico). **NOTA: lo que está en rojo indica cuando el percentil se considera alterado.**

Referente al pIMC un 5.6% de la población se clasificó como desnutrida, mientras que el 26.39% con sobrepeso/obesidad; en cuanto al pPA se observó que 58.34% de la población presentaron valores alterados, pero debemos considerar que las PA sólo se tomó en una ocasión después de diez minutos de descanso. Los valores que tienen diferencia significativa fueron pPAD y pPA.

Se estudió una población “aparentemente” sana de adolescentes, sin embargo, los resultados mostraron, en baja proporción, adolescentes con valores anormales dentro de los parámetros metabólicos y antropométricos.

Por medio de un análisis multivariado de regresión logística se analizó la relación entre indicadores metabólicos y el polimorfismo de PPAR $\gamma$ 2 entre homocigotos para el alelo ancestral (CC) y los que contiene el alelo Ala de manera heterocigota y homocigota (CG/GG) en la población total. En la Tabla 13 sólo se presentan los valores alterados, sin embargo, en el análisis estadístico se incluyeron los normales.

**Tabla 13.** Asociación del polimorfismo PPAR $\gamma$ 2 con indicadores metabólicos entre individuos homocigotos (CC) e individuos con alelo Ala (CG/GG) en población total.

PPAR $\gamma$ 2	pIMC		Glu		pPA		pCC		CCT		CT		TG		c-HDL		c-LDL		IA	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
	≥p85		≥100		≥90		≥90		≥45		≥170		≥110		<40		≥110		>4 M >3.5 F	
<b>CC</b>	14	26.42	2	3.77	32	60.38	2	3.85	13	25	15	28.30	9	16.98	5	9.43	8	15.09	5	9.43
<b>CG/GG</b>	5	26.32	2	10.53	10	52.63	1	5.26	4	21.05	3	15.79	5	26.32	4	21.05	2	10.53	3	15.79
<b>p</b>	0.993 <sup>a</sup>		0.283 <sup>b</sup>		0.557 <sup>a</sup>		1.000 <sup>b</sup>		0.73 <sup>a</sup>		0.28 <sup>a</sup>		0.378 <sup>a</sup>		0.189 <sup>a</sup>		0.621 <sup>a</sup>		0.449 <sup>a</sup>	

Regresión Logística Multivariada. <sup>a</sup>Prueba de Chi<sup>2</sup>. <sup>b</sup>Prueba de Fisher. CC (Pro/Pro), CG (Pro/Ala) GG (Ala/Ala) M (masculino), F (femenino), pIMC (percentil índice de masa corporal), pCC (percentil circunferencia de cintura), CCT (cociente cintura/talla), pPA (percentil presión arterial), Glu (glucosa), TG (triglicéridos), CT (colesterol total), c-HDL (colesterol unido a lipoproteína de alta densidad), IA (índice aterogénico).

No se observó asociación entre el polimorfismo PPAR $\gamma$ 2 con indicadores metabólicos anormales en la población estudiada, sin embargo se debe considerar que el tamaño de muestra es pequeña.

Resultados similares, se obtuvieron respecto al polimorfismo PPAR  $\beta/\delta$  entre individuos con el alelo homocigoto ancestral (TT) e individuos con el alelo recesivo (TC/CC) en población total al relacionarlos con los indicadores metabólicos de riesgo, donde podemos observar los valores alterados, de un análisis estadístico donde se incluían los valores normales (Tabla 14). Aunque se observa una tendencia mayor de individuos con alteración en el colesterol total (CT) y el alelo homocigoto ancestral ( $p=0.052$ ), sin embargo, el tamaño de muestra tendría que incrementarse para comprobar si realmente existe asociación. Por otro lado, en el caso del valor CCT (circunferencia de cintura Talla) cuando se conjuntan los adolescentes con peso normal y sobrepeso, y se comparan con el grupo que presentó obesidad, sí observamos una diferencia significativa ( $p= 0.021$ ), en los individuos homocigotos para el alelo ancestral, solo 4% fueron obesos, mientras que en los individuos con el alelo mutado, casi el 24% fueron obesos, presentando 7.37 más posibilidad de presentar un aumento de CCT en los individuos con alelo mutado (Tabla 15, 16).

**Tabla 14.** Asociación del polimorfismo PPAR  $\beta/\delta$  con indicadores metabólicos entre individuos homocigotos (TT) e individuos con alelo Ala (TC/CC) en población total.

PPAR $\beta/\delta$	pIMC		Glu		pPA		pCC		CCT		CT		TG		c-HDL		LDL		IA	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
TT	12	23.52	1	1.96	32	62.75	2	4	10	20	16	31.37	8	15.69	8	15.69	9	17.65	7	13.73
TC/CC	7	33.33	14	29	10	47.62	1	4.76	7	33.33	2	9.52	6	28.57	1	4.76	1	4.76	1	4.76
<b>p</b>	0.391 <sup>a</sup>		0.072 <sup>b</sup>		0.237 <sup>a</sup>		1.000 <sup>b</sup>		0.240 <sup>b</sup>		0.052 <sup>a</sup>		0.209 <sup>a</sup>		0.203 <sup>a</sup>		0.151 <sup>a</sup>		0.271 <sup>a</sup>	

Regresión Logística Multivariada. <sup>a</sup>Prueba de Chi2. <sup>b</sup>Prueba de Fisher. TT (homocigoto ancestral), TC, CC, M (masculino), F (femenino), pIMC (percentil índice de masa corporal), pCC (percentil circunferencia de cintura), CCT (cociente cintura/talla), pPA (percentil presión arterial), Glu (glucosa), TG (triglicéridos), CT (colesterol total), c-HDL (colesterol unido a lipoproteína de alta densidad), IA (índice aterogénico).

**Tabla 15.** Relación entre polimorfismo PPAR  $\beta/\delta$  y CCT.

PPAR $\beta/\delta$	CCT	
	Normal/Sobrepeso	Obesidad
TT	48 (96%)	2 (4%)
TC/CC	16 (76.19%)	5 (23.81%)
$p= 0.021$		
Prueba de Fisher.		

Los indicadores metabólicos referentes a perfil de lípidos se ajustaron por edad y género, y por medio de regresión logística multivariada se determinó la relación con los polimorfismos, los valores de colesterol total (edad  $p=0.154$ , género  $p=0.293$ ), triglicéridos (edad  $p=0.321$ , género  $p=0.359$ ), c-HDL (edad  $p=0.208$ , género  $p=0.181$ ), CCT, IA (edad  $p=0.466$ ) en PPAR $\gamma$ 2 no mostraron diferencia significativa, mientras que en el caso de PPAR  $\beta/\delta$  los valores de colesterol se relacionan con la edad (Figura 12), mas no por el género ( $p=0.071$ ), mientras que los valores de TG (edad  $p=0.201$ , género  $p=0.163$ ), c-HDL (edad  $p=0.224$ , género  $p=0.268$ ), CCT (edad  $p=0.713$ , género  $p=0.783$ ), IA (edad  $p=0.288$ ) no muestran diferencia significativa.

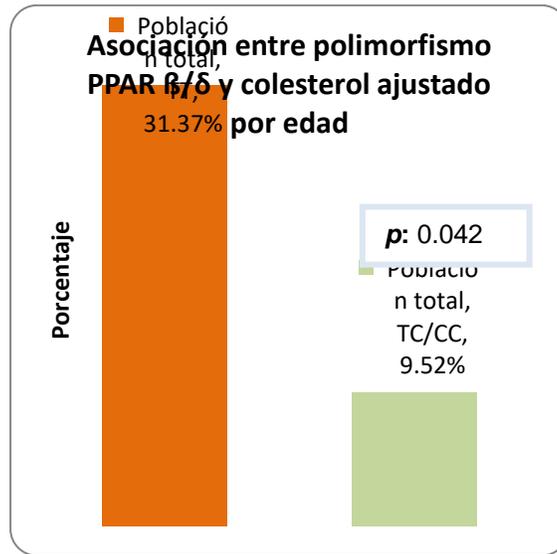
**Tabla 16.** Asociación entre componentes de riesgo (CCT, CT) para el polimorfismo PPAR  $\beta/\delta$ .

PPAR $\beta/\delta$	CCT			CT		
	OR	IC 95%	$p$	OR	IC 95%	$p$
TT	1	--	--	1	--	--

**TC/CC**      **7.5**      (1.32-42.50)      0.023      **0.1836**      (0.035-0.94)      0.042

Alelo ancestral =T, Alelo mutado=C, CT (colesterol total), CCT (circunferencia cintura talla).

El resultado de CCT, debido a la baja frecuencia en las celdas debe tomarse con precaución.



**Figura 12.** Proporciones genotípicas entre polimorfismo PPAR β/δ y colesterol ajustado por edad. Se comparó el homocigoto ancestral (TT) con los genotipos con alelo mutado (TC/CC). Se observa como factor protector en presencia del alelo mutado (<1).

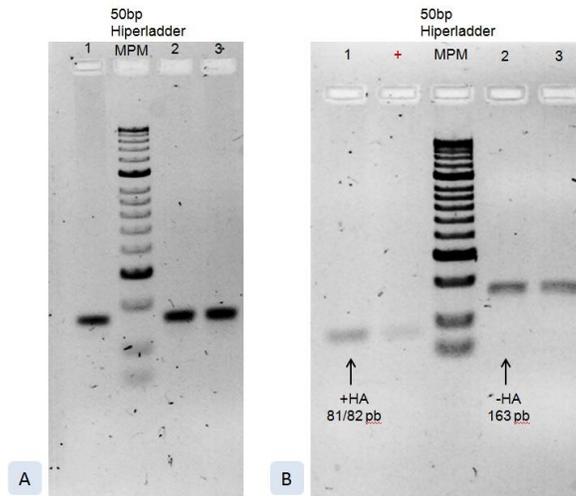
Se encontró que a mayor edad menos posibilidades de tener colesterol alto, mientras que el alelo ancestral (TT) de PPAR β/δ tiene 5.44 más posibilidades de presentar colesterol alto que los individuos con el alelo mutado (TC, CC).

### 3. Determinar los haplotipos mitocondriales (A, B, C, D, H) de ancestría en la población de Le Barón.

#### Haplotipo A

Podemos observar en la Figura 13 A) el primer carril esta etiquetado con el 1 el segundo con el MPM (marcador de pares bases) el tercero con el 2 y el cuarto con el 3, podemos observar que si existe bandeo y se procedió a realizar la digestión.

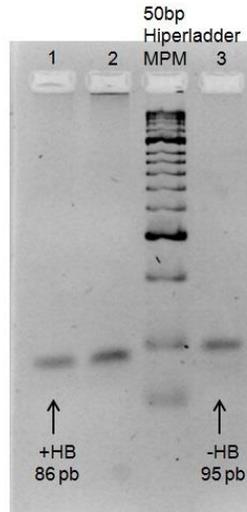
En la Figura 13 B) se puede observar en el primer carril con el numero 1 un bandeo de 81/82pb el cual es el positivo para haplotipo A, en el segundo carril está el símbolo + que es el control positivo, en el tercer carril está el MPM de 50pb, en el cuarto carril esta la muestra 2 con un bandeo de 163pb que es negativo para haplotipo A, y en el quinto carril la muestra 3 con un bandeo de 163pb también negativo.



**Figura 13.** A) Amplificación de Haplotipo A. Gel de agarosa 2%, teñido con bromuro de etidio. 0.3µL de producto de PCR + 1.5µL de buffer 6x BlueOrange. Electroforesis 70 min a 80 volts. Se observan cuatro carriles con los títulos 1, MPM, 2, 3, muestras representativas de una adecuada amplificación por PCR. B) Producto de digestión Haplotipo A. Gel de Agarosa al 2%, 0.5µL de producto de digestión + 1.5µL de Buffer 6x BlueJuice. Electroforesis 70 min a 80 volts. Se observa en el primer carril con el numero 1 un bandeo de 81/82pb que es el positivo para haplotipo A, en el segundo carril con el símbolo + está el control positivo, en el tercer carril está el MPM (marcador de pares de bases) de 50pb, en el cuarto carril con el numero 2 muestra un bandeo de 163 pb que corresponde al negativo de haplotipo A, y por último en el quinto carril la muestra 3 también negativa.

### Haplotipo B

Podemos observar en la Figura 14 en el primer carril con el numero 1 un bandeo de 86pb que es el positivo para haplotipo B, en el segundo carril con numero 2 vemos un bandeo positivo, en el tercer carril está el MPM de 50 pb y en el cuarto carril observamos un bandeo de 95pb que es el correspondiente al negativo de haplotipo B.

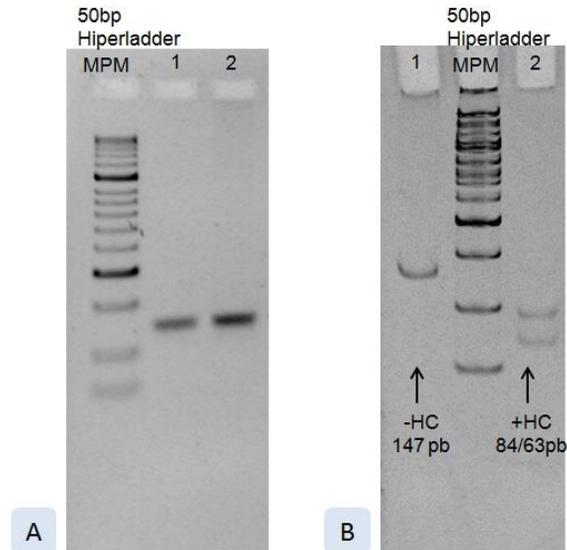


**Figura 14.** Amplificación de Haplotype B. Gel de agarosa al 3% teñido con bromuro de etidio. 0.3 $\mu$  de producto de PCR + 1.5 $\mu$ L de buffer 6x BlueOrange. Electroforesis 90 min a 80 volts. Se observa una flecha en el carril 1 con el control positivo de haplotipo B con 86pb, el carril 2 es una muestra positiva y el carril 3 es de 95pb correspondiente a una muestra negativa.

### Haplotype C

En el primer carril se observa el marcador de pares de bases (MPM), en los siguientes carriles con los números 1 y 2 se puede observar un bandeo representativo de una adecuada amplificación de PCR, se procedió a hacer la digestión de las muestras (Figura 15, A).

En la Figura 15 B) se puede observar en el primer carril con el numero 1 un bandeo de 147pb el cual es el negativo para haplotipo C, en el segundo carril el MPM de 50pb, la muestra 2 con un bandeo de 84/63pb que es el positivo para haplotipo C.



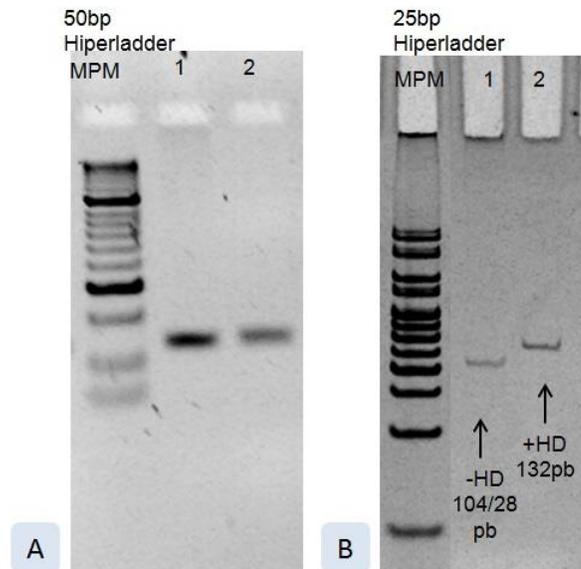
**Figura 15.** A) Amplificación de Haplotype C. Gel de Agarosa al 2% teñido de bromuro de etidio. 0.3 $\mu$ L del producto de PCR + 1.5 $\mu$ L de buffer 6x BlueOrange. Electroforesis 60 min a 80 volts. Se observa el MPM en el primer carril, luego el carril 1 y 2 con bandeo representativo de una adecuada amplificación PCR. B) Producto de digestión, Haplotype C. Poliacrilamida 12%. 5  $\mu$ l de producto de digestión + 1.5  $\mu$ L de buffer 6x BlueJuice. Electroforesis 60 min a 120 Volts, se observa en el carril con el numero 1 una banda de 147pb correspondiente al negativo, en el segundo carril está el MPM de 50pb y en el tercer carril con el número 2 se observan dos bandas de 84/63pb el cual corresponde al positivo de haplotipo C.

### Haplotype D

En el primer carril se observa el marcador de pares de bases (MPM), en los siguientes carriles con los números 1 y 2 se puede observar un bandeo representativo de una adecuada amplificación de PCR, se procedió a hacer la digestión de las muestras (Figura 16, A).

Después de la digestión se colocan las muestras en un gel de poliacrilamida al 12%, se observa en el primer carril el MPM de 25pb, en el siguiente carril con el número 1, se observa un bandeo de 104/28pb el cual es el negativo para haplotipo D, en el

último carril con número 2 se observa un bandeo con 132pb que es el positivo para haplotipo D (Figura 16, B).



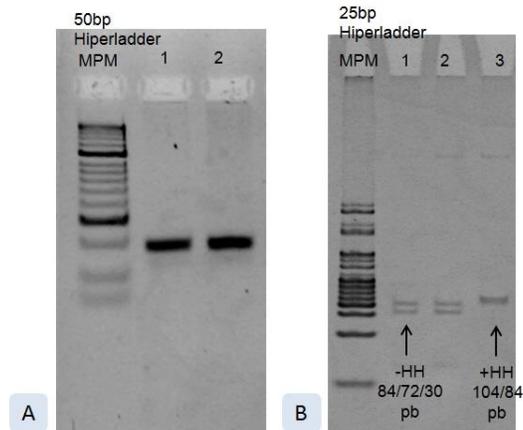
**Figura 16.** A) Amplificación de Haplotipo D. Gel de Agarosa al 2% teñido de bromuro de etidio. 0.3μL del producto de PCR + 1.5μL de buffer 6x BlueOrange. Electroforesis 60 min a 80 volts. Se observa el MPM en el primer carril, luego el carril 1 y 2 con bandeo representativo de una adecuada amplificación PCR. B) Amplificación de Haplotipo D. Poliacrilamida 12%. 5 μl de producto de digestión + 1.5 μL de buffer 6x BlueJuice. Electroforesis 60min a 120 Volts, se observa en el primer carril el MPM de 25pb, en el carril con el número 1 se observa un bandeo de 104/28 pb el cual es el negativo para haplotipo D, en el último carril con número 2 se observa un bandeo con 132 pb que es el positivo para haplotipo D.

### Haplotipo H

En el primer carril se observa el marcador de pares de bases (MPM), en las muestras 1 y 2 en ambos se puede observar un bandeo fuerte, se procedió a hacer la digestión de las muestras (Figura 17, A).

Después de la digestión se colocan las muestras en un gel de poliacrilamida al 12%, se observa en el primer carril el marcador de pares de bases con 25pb, en el primer carril con el número 1 se observan 84/72/30pb que es el negativo para haplotipo H, el tercer carril con el número 2 también es negativo, y el cuarto carril con el número

3 se observa un bandeo de 102/84 pb que es el positivo para haplotipo H (Figura 17, B).



**Figura 17.** A) Amplificación de Haplotipo H. Gel de Agarosa al 2% teñido de bromuro de etidio. 0.3 $\mu$ L del producto de PCR + 1.5 $\mu$ L de buffer 6x BlueOrange. Electroforesis 60 min a 80 volts. Se observa el MPM en el primer carril, en el segundo carril esta la muestra 1, y en el tercer carril la muestra 2, todos con bandeo representativo de una adecuada amplificación PCR. B) Amplificación de Haplotipo H. Poliacrilamida 12%. 5  $\mu$ l de producto de digestión + 1.5  $\mu$ L de buffer 6x BlueJuice. Electroforesis 60 min a 120 volts, se observa en el primer carril el MPM de 25pb, en el primer carril con el número 1 se observan 84/72/30 pb que es el negativo para haplotipo H, el tercer carril con numero 2 también es negativo en el cuarto carril con el número 3 se observa un bandeo de 102/84pb que es el positivo para haplotipo H.

Se determinaron las proporciones tanto en población total como por grupo, de los haplotipos obtenidos (Tabla 17), no se observó diferencia significativa entre las poblaciones ( $p= 0.277$ ).

Tabla 17. Proporción de haplotipos mitocondriales en población total y por grupo Le Barón y mestizos.

Haplotipo Población	A		B		C		D		H		A/B		N/D		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>LeBarón</b>	4	21.05	3	15.79	2	10.53	2	10.53	3	15.79	0	0	5	26.32	19	26.39
<b>Mestizos</b>	14	26.42	10	18.87	9	16.98	12	22.64	2	3.77	1	1.89	5	9.43	53	73.61
<b>Total</b>	18	25	13	18.06	11	15.28	14	19.44	5	6.94	1	1.39	10	13.89	72	100

Prueba de Fisher.  $p=0.277$

Sin embargo, cuando se conjuntan los alelos amerindios (A, B, C, D), el H y los N/D y se determinan sus proporciones (Tabla 18) si observamos diferencia significativa ( $p=0.041$ ).

**Tabla 18.** Proporción de haplotipos mitocondriales (Amerindios (A-D), Europeo H, N/D) en población total y por grupo Le Barón y mestizos

Haplotipo Población	A-D		H		N/D	
	n	%	n	%	n	%
<b>Le Barón</b>	11	57.89	3	15.78	5	26.31

<b>Mestizos</b>	45	84.90	2	3.77	6	11.32
<b>Total</b>	56	77.77	5	6.94	11	15.27

Prueba de Fisher.  $p=0.041$

## 10. Análisis

Al no existir diferencia en PPAR $\gamma$ 2 y PPAR  $\beta/\delta$  entre los grupos (Le Barón y mestizo) se tomó la frecuencia genotípica de la población total para compararlo con lo reportado por otros autores. El polimorfismo PPAR $\gamma$ 2, se observó en equilibrio Hardy-Weinberg, ya que no hubo una diferencia significativa al comparar los datos observados y calculados ( $p$ : 0.9352). La frecuencia genotípica observada fue: homocigoto ancestral CC: 73.61%, heterocigoto y homocigoto modificado CG/GG: 26.4% (Tabla 3).

Las frecuencias genotípicas del polimorfismo PPAR $\gamma$ 2 (Pro12Ala) son similares a lo reportado por Mitchell (2000) en su estudio asociado con la obesidad donde encontró asociación con el alelo mutado y un aumento de masa corporal y circunferencia de cintura (CC: 77.19%, CG/GG: 22.79%) en familias mexicanas que viven en San Antonio, Texas y Canizales-Quinteros (2007) en su estudio asociado con aumento de IMC en presencia del alelo mutado (CC: 75.40%, CG/GG: 24.59%) en población de varios estados de México, sin incluir Chihuahua, y por Fornage (2005) en su estudio de adiposidad y disminución de la resistencia a la insulina en presencia del alelo mutado en población americana (CC: 75.79%, CG/GG: 24.20%), mientras que en poblaciones afroamericanas (CC: 95.71%, CG/GG: 4.28%) (Fornage 2005) y árabes en un estudio donde no se encontró asociación con el alelo mutado y un mayor riesgo con DM2 (CC: 91.9%, CG/GG: 8.1%) (Al-Safar et al., 2015) no muestra frecuencias similares. En estos estudios no encontramos relación con indicadores metabólicos como lo descrito por los autores mencionados, sin embargo, cabe mencionar que estos estudios fueron en adultos.

De la misma manera, las frecuencias genotípicas en población total para el polimorfismo PPAR  $\beta/\delta$ , se observó en equilibrio Hardy-Weinberg ( $0.9434 > 0.05$ ), en la que la frecuencia genotípica observada fue: homocigoto ancestral TT: 70.83%, heterocigoto TC: 26.4% y homocigoto modificado CC: 2.78% (Tabla 7).

Las frecuencias genotípicas de PPAR  $\beta/\delta$  que reportamos son similares con las reportadas por Skogsberg (2003) en su estudio relacionado con el colesterol en hombres suecos, quien observó una relación con el alelo mutado y aumento de c-LDL (TT: 71.82%, TC: 25.23%, CC: 2.94%). Por otro lado las frecuencias reportadas por Rosales-Reynoso (2017) en un estudio relacionado con disminución de riesgo de cáncer de colon en mexicanos de Guadalajara y el alelo mutado (TC/CC), muestra frecuencias similares a las nuestras solo en los pacientes afectados (TT: 70.23%, TC/CC: 29.77%) y no en los controles (TT: 52.58%, TC/CC: 47.42%). Mientras que en poblaciones de Túnez, en un estudio relacionado con aumento de accidentes cerebro vascular isquémicos en presencia del alelo mutado (TT: 53.06%, TC/CC: 46.93%) (Chehaibi et al., 2013) y en un estudio donde se asocia el alelo mutado con niveles de lípidos y enfermedad coronaria en las mujeres en Alemania (TT: 61.94%, TC/CC: 38.05%) (Aberle et al., 2006) no muestra frecuencias similares. Estos resultados están asociados con las frecuencias genotípicas más no con los componentes que los autores observaron.

La población de adolescentes estudiada, de acuerdo a los valores absolutos de indicadores metabólicos, aparentaba ser sana, sin embargo, aunque en baja proporción, encontramos adolescentes con valores anormales (Tabla 11, 12).

De acuerdo al análisis de regresión logística, en el caso del polimorfismo PPAR $\gamma$ 2 respecto a los indicadores metabólicos de riesgo no se observó ninguna asociación.

Sin embargo, los resultados de PPAR  $\beta/\delta$  al ajustarse los valores de colesterol por edad ( $p=0.042$ ) muestran que a mayor edad, menos posibilidad de tener colesterol alto mientras que en individuos homocigotos para el alelo ancestral (TT) tienen 5.44 más posibilidades de presentar colesterol alto que el alelo mutado (TC, CC) (Figura 12).

Mientras que en el estudio de Luo y col. , 2015, en 505 individuos de la tercera edad (de más de 90 años) y 468 controles (60-75 años) del área de Bama, mostraron que los portadores de los alelos CC tuvieron mayores niveles de c-LDL en individuos de más de 90 años pero menores niveles en colesterol total y

triglicéridos en los controles que los portadores de los alelos TT; los portadores del alelo C (TC/CC) exhiben mayores niveles de colesterol total, triglicéridos y c-LDL comparado con los controles (Luo et al., 2015).

En el caso del valor CCT (circunferencia de cintura Talla) separamos a los adolescentes que presentaron obesidad determinada por CCT, de los normales y con sobrepeso y encontramos que los individuos con el alelo ancestral (TT) tienen 7.37 más posibilidad de presentar un aumento de CCT que los individuos con alelo mutado ( $p=0.021$ ) (Tabla 15).

En el 2003 en el estudio de Skogsberg se mostró por primera vez la asociación del PPAR  $\beta/\delta$  en el metabolismo del colesterol en el humano, en dos cohortes independientes representativas formadas por un total de 825 hombres caucásicos saludables de mediana edad se concluyó que los portadores de los alelos TC/CC tenían en promedio alrededor de 0.67mmol/L de más concentración de c-LDL que los portadores homocigotos del alelo ancestral T ( Skogsberg et al., 2003).

Es importante considerar que el efecto del PPAR  $\beta/\delta$  en el metabolismo de los lípidos puede ser limitado y puede intervenir la dieta, estilo de vida y la interacción con otros genes relacionados con lípidos, así como el medio ambiente (Luo et al., 2015).

#### Haplotipos mitocondriales

Referente a los haplotipos mitocondriales no se observaron diferencias entre mestizos y Le Barón con una  $p= 0.277$  (Tabla 16). Sin embargo, cuando se conjuntan los alelos amerindios (A, B, C, D), el H y los N/D y se determinan sus proporciones (Tabla 17) si se observa una diferencia significativa ( $p=0.041$ )

Este es el primer estudio donde se analizan los polimorfismos PPAR $\gamma$ 2 (Pro12Ala) y PPAR  $\beta/\delta$  (+294T/C) en población mexicana adolescente de la comunidad de Le Barón, Chihuahua, y el primero en mostrar una asociación entre PPAR  $\beta/\delta$  con colesterol ajustado por edad y CCT.

A pesar del tamaño de muestra, observamos que 24% de los individuos con el alelo mutado (CT/CC) para el PPAR  $\beta/\delta$  mostraron una mayor distribución de grasa central (CCT) que el 2% observado en los individuos con el alelo ancestral (TT). El IMC es recomendado por la OMS para definir la obesidad, sin embargo no distingue la masa magra de la masa grasa, por lo tanto no es un cálculo absoluto para representar la distribución de la grasa, la presencia de aumento de grasa abdominal tiene una connotación para determinar riesgo cardiovascular y metabólico siendo un importante predictor de la misma el cálculo de CC, pero por si solo en la práctica pediátrica la utilidad de este cálculo se ve mermado por la necesidad de comparar con los estándares expresados en percentiles para edad y sexo, el cálculo de CCT tiene la ventaja entonces de no tener que expresarse en percentiles, ser independiente de la edad a partir de los seis años, del sexo, la etnia y del estadio puberal, convirtiéndose en mejor medida predictor antropométrica de riesgo de enfermedades metabólicas y cardiovasculares(Hernández-Rodríguez, 2015; Quillahuamán, 2017).

Por el tamaño de muestra podríamos considerar nuestro estudio como piloto, por lo que la continuidad del mismo deberá incrementar el tamaño de muestra y diseñar un nuevo estudio de casos y controles con población adulta para demostrar realmente la asociación entre genotipos y fenotipos.

#### Limitaciones del estudio

1. El tamaño de la muestra fue pequeño.
2. Los resultados de presión arterial no se realizaron por triplicado como se indica, a pesar de que, si se cumplió con los 10 minutos de reposo, sin embargo, los datos son de una sola medición.

#### 11. Conclusiones

1. Las frecuencias genotípicas observadas de los polimorfismos PPAR $\gamma$ 2 y PPAR  $\beta/\delta$  se encontraron en equilibrio de acuerdo a la Ley de Hardy-Weinberg.
2. La población presentó una edad promedio de 13 años, predominando el género femenino (59.7%), los datos antropométricos/bioquímicos en la población total y grupo, se encontraron dentro de los parámetros normales. Al separar los datos entre mestizos y Le Barón, observamos una ligera tendencia más saludable en esta última población.
3. Un análisis dio como resultado que en el caso del polimorfismo PPAR $\gamma$ 2 respecto a los indicadores metabólicos de riesgo no muestra diferencias significativas.
4. En el polimorfismo PPAR  $\beta/\delta$  los valores de colesterol son afectados por la edad, por lo tanto entre más edad menos posibilidades de tener colesterol alto (Tabla 16), más no por el sexo, mientras que los valores de TG, c-HDL, CCT, IA no muestran diferencias significativas.
5. Mientras que los adolescentes con el polimorfismo ancestral (TT) del PPAR  $\beta/\delta$  tiene 5.44 más posibilidades de presentar colesterol alto que el alelo mutado (TC, CC).
6. En el caso del valor CCT (circunferencia de cintura Talla), si separamos a los adolescentes que presentaron obesidad, de los normales y con sobrepeso observamos que los individuos con el alelo mutado (TC/CC) tienen ( $p=0.021$ ) 7.37 más posibilidad de presentar un aumento de CCT que los individuos con alelo ancestral (Tabla 15)
7. Los Haplotipos no muestran diferencias significativas ( $p= 0.277$ ). Sin embargo, cuando se conjuntan los alelos amerindios (A, B, C, D), el Europeo H y los N/D, se determina que existe una proporción de 84.90% haplotipos amerindios en Mestizos en comparación con 57.89% en Le Barón, y una proporción más alta del alelo Europeo H en Le Barón con 15.78% en

comparación con el 3.77% en mestizos (Tabla 17) por lo tanto sí se observó una diferencia significativa ( $p=0.041$ ).

8. Para investigaciones futuras y con el fin de reducir el ajuste e incrementar precisión se sugiere ampliar el tamaño de la muestra.

## 12. Bibliografía

Aberle, J., Hopfer, I., Beil, F. U., & Seedorf, U. (2006). Association of the T+294C polymorphism in PPAR delta with low HDL cholesterol and coronary heart

- disease risk in women. *International Journal of Medical Sciences*, 3(3), 108–111. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16906219>
- Aguayo-Armendáriz, J., Montalvo-Corral, M., González-Martínez, K. A., Grijalva-Haro, M. I., Ballesteros-Vásquez, M. N., Caire-Juvera, G., & Moya-Camarena, S. Y. (2018). Central obesity and body fat, but not body mass index, are associated with the Pro12Ala polymorphism in the peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  gene in a population with a high consumption of saturated and trans-fatty acids. *Nutrition Research*, 57, 28–35. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2018.05.003>
- Al-Safar, H., Hassoun, A., Almazrouei, S., Kamal, W., Afandi, B., & Rais, N. (2015). Association of the Genetic Polymorphisms in Transcription Factor 7-Like 2 and Peroxisome Proliferator-Activated Receptors-  $\gamma$  2 with Type 2 Diabetes Mellitus and Its Interaction with Obesity Status in Emirati Population. *Journal of Diabetes Research*, 2015, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2015/129695>
- Ana I. Burguete-García, Y. N. V.-V. y M. C. (2014). Definiciones para el diagnóstico de síndrome metabólico en población infantil, 79–87. Retrieved from <https://docplayer.es/12712761-Definiciones-para-el-diagnostico-de-sindrome-metabolico-en-poblacion-infantil.html>
- Anderson, S., Bankier, A. T., Barrell, B. G., de Bruijn, M. H. L., Coulson, A. R., Drouin, J., ... Young, I. G. (1981). Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 290(5806), 457–465. <https://doi.org/10.1038/290457a0>
- Antonio Checa Caratachea, M. (2007). *Polimorfismos genéticos: Importancia y aplicaciones. Segunda Época* (Vol. 20). Retrieved from [www.iner.gob.mx](http://www.iner.gob.mx)
- Aznar, S., & Webster, T. (2006). Conceptos importantes en materia de Actividad Física y de Condición Física. *Actividad Física Y Salud En La Infancia Y La Adolescencia. Guía Para Todas Las Personas Que Participan En Su Educación.*, 12–21.
- Bastie, C., Holst, D., Gaillard, D., Jehl-Pietri, C., & Grimaldi, P. A. (1999). Expression of Peroxisome Proliferator-activated Receptor PPAR $\delta$  Promotes Induction of PPAR $\gamma$  and Adipocyte Differentiation in 3T3C2 Fibroblasts. *Journal of Biological Chemistry*, 274(31), 21920–21925. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.31.21920>
- Bonato, S. L., & Salzano, F. M. (1997). A single and early migration for the peopling of the Americas supported by mitochondrial DNA sequence data. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(5), 1866–1871. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.5.1866>
- Borrás Pérez, M. V., & López Sigüero, J. P. (2006). Diagnóstico diferencial de la hipoglucemia en el niño. *Endocrinología Y Nutrición*. [https://doi.org/10.1016/S1575-0922\(06\)71139-1](https://doi.org/10.1016/S1575-0922(06)71139-1)



Retrieved from

[http://www.cedet.edu.ar/archivos/Bibliotecas\\_Archivos/id40/Barth-Los-grupos-etnicos-y-sus-fronteras.pdf](http://www.cedet.edu.ar/archivos/Bibliotecas_Archivos/id40/Barth-Los-grupos-etnicos-y-sus-fronteras.pdf)

- Gouda, H. N., Sagoo, G. S., Harding, A. H., Yates, J., Sandhu, M. S., & Higgins, J. P. T. (2010). The association between the peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ 2 (PPARG2) Pro12Ala gene variant and type 2 diabetes mellitus: A HuGE review and meta-analysis. *American Journal of Epidemiology*. <https://doi.org/10.1093/aje/kwp450>
- Green, L. D., Derr, J. N., & Knight, A. (2000). mtDNA Affinities of the Peoples of North-Central Mexico. *The American Journal of Human Genetics*, 66(3), 989–998. <https://doi.org/10.1086/302801>
- Guardado-Estrada, M., Queipo, G., Meraz-Ríos, M., & Berumen-Campos, J. (2008). Diversidad genética en la población mexicana: Utilización de marcadores de ADN. *Rev Med Hosp Gen Mex*, 71(3), 162–174.
- Gulgar, L. L., & Castellanos, M. (2018). Factores de riesgo cardiovasculares y su relación con las alteraciones del metabolismo de los glúcidos y lípidos Cardiovascular Risks Factors and their Relationship with Disorders of, 248–260.
- He, W. (2009). PPAR $\gamma$ 2 Pro12Ala Polymorphism and Human Health. *Article ID*, 849538, 15. <https://doi.org/10.1155/2009/849538>
- Heart, N. (2005). FOURTH REPORT ON Diagnosis , Evaluation , and Treatment of High Blood Pressure in Children and Adolescents. Retrieved from [https://www.nhlbi.nih.gov/files/docs/resources/heart/hbp\\_ped.pdf](https://www.nhlbi.nih.gov/files/docs/resources/heart/hbp_ped.pdf)
- Heart, N. (2012). Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents: summary report. *Pediatrics*, 128 Suppl, 38–46. <https://doi.org/10.1542/peds.2009-2107C>
- Hernández-Rodríguez, J., & Duchi-Jimbo, P. (2015). Índice cintura/talla y su utilidad para detectar riesgo cardiovascular y metabólico Waist-to-height ratio and its usefulness in detection of the cardiovascular and metabolic risk. *Revista Cubana de Endocrinología*, 2626(11), 66–7666. Retrieved from <http://scielo.sld.cu>
- Holst, D., Luquet, S., Nogueira, V., Kristiansen, K., Leverve, X., & Grimaldi, P. A. (2003). Nutritional regulation and role of peroxisome proliferator-activated receptor  $\delta$  in fatty acid catabolism in skeletal muscle. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1633(1), 43–50. [https://doi.org/10.1016/S1388-1981\(03\)00071-4](https://doi.org/10.1016/S1388-1981(03)00071-4)
- Hou, Y., Moreau, F., & Chadee, K. (2012). PPAR $\gamma$  is an E3 ligase that induces the degradation of NF $\kappa$ B/p65. *Nature Communications*, 3(1), 1300. <https://doi.org/10.1038/ncomms2270>
- Huang, J.-C. (2008). The Role of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors in

- the Development and Physiology of Gametes and Preimplantation Embryos, 7. <https://doi.org/10.1155/2008/732303>
- Ingman, M., Kaessmann, H., Pääbo, S., & Gyllensten, U. (2000). Mitochondrial genome variation and the origin of modern humans. *Nature*, *408*(6813), 708–713. <https://doi.org/10.1038/35047064>
- Iniesta, R., Guinó, E., & Moreno, V. (2005). *Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos*. *Gac Sanit* (Vol. 19). Retrieved from <http://scielo.isciii.es/pdf/gsv/v19n4/metodologica.pdf>
- Instituto Nacional de Salud Publica. (2016). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016*. Mexico. Retrieved from [http://transparencia.insp.mx/2017/auditorias-insp/12701\\_Resultados\\_Encuesta\\_ENSANUT\\_MC2016.pdf](http://transparencia.insp.mx/2017/auditorias-insp/12701_Resultados_Encuesta_ENSANUT_MC2016.pdf)
- Issemann, I., & Green, S. (1990). Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/347645a0>
- Janani, C., & Ranjitha Kumari, B. D. (2015). PPAR gamma gene – A review. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2014.09.015>
- Jehl-Pietri, C., Bastie, C., Gilot, I., Luq, S., & Grimaldi, P. A. (2000). Peroxisome-proliferator-activated receptor  $\delta$  mediates the effects of long-chain fatty acids on post-confluent cell proliferation. *Biochemical Journal*, *350*(1), 93. <https://doi.org/10.1042/0264-6021:3500093>
- Keller, H., Dreyer, C., Medin, J., Mahfoudi, A., Ozato, K., & Wahli, W. (1993). Fatty acids and retinoids control lipid metabolism through activation of peroxisome proliferator-activated receptor-retinoid X receptor heterodimers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *90*(6), 2160–4. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.6.2160>
- La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE). (2017). *Obesity Update 2017*. Retrieved from [www.oecd.org/health/obesity-update.htm](http://www.oecd.org/health/obesity-update.htm)
- Lahn, B. T. (1997). Functional Coherence of the Human Y Chromosome. *Science*, *278*(5338), 675–680. <https://doi.org/10.1126/science.278.5338.675>
- Lee, M. Y., Choi, R., Kim, H. M., Cho, E. J., Kim, B. H., Choi, Y. S., ... Chung, C. H. (2012). Peroxisome proliferator-activated receptor  $\delta$  agonist attenuates hepatic steatosis by anti-inflammatory mechanism. *Experimental & Molecular Medicine*, *44*(10), 578. <https://doi.org/10.3858/emm.2012.44.10.066>
- Lehmann, J. M., Moore, L. B., Smith-Oliver, T. A., Wilkison, W. O., Willson, T. M., & Kliewer, S. A. (1995). An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma). *The Journal of Biological Chemistry*, *270*(22), 12953–6. Retrieved from

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7768881>

- Lim, H., Gupta, R. A., Ma, W. -g., Paria, B. C., Moller, D. E., Morrow, J. D., ... Dey, S. K. (1999). Cyclo-oxygenase-2-derived prostacyclin mediates embryo implantation in the mouse via PPARdelta. *Genes & Development*, 13(12), 1561–1574. <https://doi.org/10.1101/gad.13.12.1561>
- Lodish H, Berka A, Matsudaira P, Kaiser C, Krieger M, S. M. (2005). Biología Celular y Molecular- Lodish. In *Biología celular y Molecular*. <https://doi.org/558>
- Lonard, D. M., & O'Malley, B. W. (2007). Nuclear Receptor Coregulators: Judges, Juries, and Executioners of Cellular Regulation. *Molecular Cell*. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.08.012>
- Lowell, B. B. (1999). *PPAR: An Essential Regulator Minireview of Adipogenesis and Modulator of Fat Cell Function*. *Cell* (Vol. 99). Retrieved from <https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S0092-8674%2800%2981654-2>
- Luo, C., Liu, C., Ge, L., Pang, G., Yang, M., Hu, C., ... Peng, J. (2015). PPARD + 294C overrepresentation in general and long-lived population in China Bama longevity area and unique relationships between PPARD + 294T / C polymorphism and serum lipid profiles, 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12944-015-0016-3>
- Mangelsdorf, D. J., Thummel, C., Beato, M., Herrlich, P., Schütz, G., Umesono, K., ... Evans, R. M. (1995). The nuclear receptor superfamily: The second decade. *Cell*, 83(6), 835–839. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(95\)90199-X](https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90199-X)
- Michalik, L., Desvergne, B., Tan, N. S., Basu-Modak, S., Escher, P., Rieusset, J., ... Wahli, W. (2001). Impaired skin wound healing in peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)alpha and PPARbeta mutant mice. *The Journal of Cell Biology*, 154(4), 799–814. <https://doi.org/10.1083/jcb.200011148>
- Mokha, J. S., Srinivasan, S. R., Dasmahapatra, P., Fernandez, C., Chen, W., Xu, J., & Berenson, G. S. (2010). Utility of waist-to-height ratio in assessing the status of central obesity and related cardiometabolic risk profile among normal weight and overweight / obese children : The Bogalusa Heart Study. *BMC Pediatrics*, 10(1), 73. <https://doi.org/10.1186/1471-2431-10-73>
- Mp, G., Attianese, G., & Desvergne, B. (2015). Integrative and systemic approaches for evaluating PPARβ/δ (PPARD) function. *Nuclear Receptor Signaling*, 13, 1–32. <https://doi.org/10.1621/nrs.13001>
- Organización Mundial de la Salud. (2016). *INFORME MUNDIAL SOBRE LA DIABETES*. Retrieved from [www.who.int](http://www.who.int)
- Parra, S., & Mejía, L. C. (2001). Implicaciones farmacológicas de los receptores activados por los proliferadores de peroxisomas (PPAR). *Iatreia*, 14(1), 35–46.
- Peñaloza-Espinosa, R. I., Arenas-Aranda, D., Cerda-Flores, R. M., Buentello-Malo, L., González-Valencia, G., Torres, J., ... Salamanca, F. (2007).

Characterization of mtDNA Haplogroups in 14 Mexican Indigenous Populations. *Human Biology*, 79(3), 313–320.  
<https://doi.org/10.1353/hub.2007.0042>

- Ponte, C. I. (2009). Redescubriendo los triglicéridos como factor de riesgo cardiovascular. *Avances Cardiol.*
- Quillahumán, E. H. (2017). “Comparación entre Índice cintura estatura y en IMC como predictor de riesgo cardiometabólico en niños de 6 a 14 años hospitalizados en el Hospital regional Honorario Delgado de Arequipa en el servicio pediatra,” 1–62.
- Rosales-Reynoso, M. A., Wence-Chavez, L. I., Arredondo-Valdez, A. R., Dumois-Petersen, S., Barros-Núñez, P., Gallegos-Arreola, M. P., ... Sánchez-Corona, J. (2017). Protective role of +294 T/C (rs2016520) polymorphism of PPARD in Mexican patients with colorectal cancer. *Genetics and Molecular Research*, 16(1). <https://doi.org/10.4238/gmr16019324>
- Russell, A. P., Hesselink, M. K. C., Lo, S. K., & Schrauwen, P. (2005). Regulation of metabolic transcriptional co-activators and transcription factors with acute exercise. *The FASEB Journal*, 19(8), 986–988. <https://doi.org/10.1096/fj.04-3168fje>
- Salzano, F. M. (2002). Molecular variability in Amerindians: widespread but uneven information\*, 74(2), 223–263. Retrieved from [www.scielo.br/aabc](http://www.scielo.br/aabc)
- Skogsberg, J., Kannisto, K., Cassel, T. N., Hamsten, A., Eriksson, P., & Ehrenborg, E. (2003). Evidence That Peroxisome Proliferator – Activated Receptor Delta Influences Cholesterol Metabolism in Men.  
<https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000064383.88696.24>
- Skogsberg, J., Kannisto, K., Roshani, L., Gagne, E., Hamsten, A., Larsson, C., & Ehrenborg, E. (2000). Characterization of the human peroxisome proliferator activated receptor delta gene and its expression. *International Journal of Molecular Medicine*. <https://doi.org/10.3892/ijmm.6.1.73>
- Skogsberg, J., McMahon, A. D., Karpe, F., Hamsten, A., Packard, C. J., & Ehrenborg, E. (2003). Peroxisome proliferator activated receptor delta genotype in relation to cardiovascular risk factors and risk of coronary heart disease in hypercholesterolaemic men 7. *J Intern.Med.*, 254(0954–6820 (Print)), 597–604.
- Swarbrick, M. M., Chapman, C. M. L., Mcquillan, B. M., Hung, J., & Thompson, P. L. (2001). A Pro12Ala polymorphism in the human peroxisome proliferator-activated receptor- g 2 is associated with combined hyperlipidaemia in obesity, 277–282.
- Wei, Q., Jacobs, D. R., Schreiner, P. J., Siscovick, D. S., Steffes, M. W., & Fornage, M. (2006). Patterns of association between PPARγ genetic variation and indices of adiposity and insulin action in African-Americans and whites:

- the CARDIA Study. *Journal of Molecular Medicine*, 84(11), 955–965.  
<https://doi.org/10.1007/s00109-006-0088-7>
- Westergaard, M., Henningsen, J., Kratchmarova, I., Kristiansen, K., Svendsen, M. L., Johansen, C., ... Kragballe, K. (2001). Modulation of Keratinocyte Gene Expression and Differentiation by PPAR-Selective Ligands and Tetradecylthioacetic Acid. *Journal of Investigative Dermatology*, 116(5), 702–712. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.2001.01329.x>
- Willson, T. M., Brown, P. J., Sternbach, D. D., & Henke, B. R. (2000). The PPARs: From orphan receptors to drug discovery. *Journal of Medicinal Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/jm990554g>
- Yen, C.-J., Beamer, B. A., Negri, C., Silver, K., Brown, K. A., Yarnall, D. P., ... Shuldiner, A. R. (1997). Molecular Scanning of the Human Peroxisome Proliferator Activated Receptor  $\gamma$  (hPPAR $\gamma$ ) Gene in Diabetic Caucasians: Identification of a Pro12Ala PPAR $\gamma$ 2 Missense Mutation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 241(2), 270–274.  
<https://doi.org/10.1006/bbrc.1997.7798>
- Aberle, J., Hopfer, I., Beil, F. U., & Sedorf, U. (2006). Association of the T+294C polymorphism in PPAR delta with low HDL cholesterol and coronary heart disease risk in women. *International Journal of Medical Sciences*, 3(3), 108–111. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16906219>
- Aguayo-Armendáriz, J., Montalvo-Corral, M., González-Martínez, K. A., Grijalva-Haro, M. I., Ballesteros-Vásquez, M. N., Caire-Juvera, G., & Moya-Camarena, S. Y. (2018). Central obesity and body fat, but not body mass index, are associated with the Pro12Ala polymorphism in the peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  gene in a population with a high consumption of saturated and trans-fatty acids. *Nutrition Research*, 57, 28–35.  
<https://doi.org/10.1016/j.nutres.2018.05.003>
- Al-Safar, H., Hassoun, A., Almazrouei, S., Kamal, W., Afandi, B., & Rais, N. (2015). Association of the Genetic Polymorphisms in Transcription Factor 7-Like 2 and Peroxisome Proliferator-Activated Receptors-  $\gamma$  2 with Type 2 Diabetes Mellitus and Its Interaction with Obesity Status in Emirati Population. *Journal of Diabetes Research*, 2015, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2015/129695>
- Ana I. Burguete-García, Y. N. V.-V. y M. C. (2014). Definiciones para el diagnóstico de síndrome metabólico en población infantil, 79–87. Retrieved from <https://docplayer.es/12712761-Definiciones-para-el-diagnostico-de-sindrome-metabolico-en-poblacion-infantil.html>
- Anderson, S., Bankier, A. T., Barrell, B. G., de Bruijn, M. H. L., Coulson, A. R., Drouin, J., ... Young, I. G. (1981). Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature*, 290(5806), 457–465.  
<https://doi.org/10.1038/290457a0>
- Antonio Checa Caratachea, M. (2007). *Polimorfismos genéticos: Importancia y*

aplicaciones. Segunda Época (Vol. 20). Retrieved from [www.iner.gob.mx](http://www.iner.gob.mx)

- Aznar, S., & Webster, T. (2006). Conceptos importantes en materia de Actividad Física y de Condición Física. *Actividad Física Y Salud En La Infancia Y La Adolescencia. Guía Para Todas Las Personas Que Participan En Su Educación.*, 12–21.
- Bastie, C., Holst, D., Gaillard, D., Jehl-Pietri, C., & Grimaldi, P. A. (1999). Expression of Peroxisome Proliferator-activated Receptor PPAR $\delta$  Promotes Induction of PPAR $\gamma$  and Adipocyte Differentiation in 3T3C2 Fibroblasts. *Journal of Biological Chemistry*, 274(31), 21920–21925. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.31.21920>
- Bonatto, S. L., & Salzano, F. M. (1997). A single and early migration for the peopling of the Americas supported by mitochondrial DNA sequence data. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(5), 1866–1871. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.5.1866>
- Borrás Pérez, M. V., & López Sigüero, J. P. (2006). Diagnóstico diferencial de la hipoglucemia en el niño. *Endocrinología Y Nutricion.* [https://doi.org/10.1016/S1575-0922\(06\)71139-1](https://doi.org/10.1016/S1575-0922(06)71139-1)
- Bourges, R. H. (2001). La alimentación y la nutrición en México. *Comercio Exterior.*
- Brandan, N., Llanos, C., Miño, C., Ragazzoli, M. A., & Ruiz Díaz, D. A. N. (2008). *Principios de Endocrinología.* Retrieved from <https://www.uaz.edu.mx/histo/Biologia/FaiUnneAr/Pdf/endocrino.pdf>
- Buroker, N. E. (2017). Identifying Changes in Punitive Transcriptional Factor Binding Sites Created by PPAR $\alpha/\delta/\gamma$  SNPs Associated with Disease. *Journal of Biosciences and Medicines.* <https://doi.org/10.4236/jbm.2017.54008>
- Canizales-Quinteros, S., Aguilar-Salinas, C. A., Ortiz-López, G., Rodríguez-Cruz, M., Villarreal-Molina, M. T., Coral-Vázquez, R., ... Tusié-Luna, M. T. (2007). Association of PPARG2 Pro12Ala Variant with Larger Body Mass Index in Mestizo and Amerindian Populations of Mexico. *Human Biology*, 79(1), 111–119. <https://doi.org/10.1353/hub.2007.0022>
- Carvajal, K., De La Luz Hernández-Esquivel, M., & Moreno-Sánchez, R. (2007). *PPARs, síndrome metabólico y enfermedad cardíaca* (Vol. 77). Retrieved from [www.medigraphic.com](http://www.medigraphic.com)
- Chandra, V., Huang, P., Hamuro, Y., Raghuram, S., Wang, Y., Burris, T. P., & Rastinejad, F. (2008). Structure of the intact PPAR- $\gamma$ -RXR- $\alpha$  nuclear receptor complex on DNA. *Nature.* <https://doi.org/10.1038/nature07413>
- Chehaibi, K., Hrira, M. Y., Rouis, M., Najah, M., Jguirim-Souissi, I., Nouria, S., & Slimane, M. N. (2013). Effect of genetic polymorphism +294T/C in peroxisome proliferator-activated receptor delta on the risk of ischemic stroke in a Tunisian

- population. *Journal of Molecular Neuroscience*, 50(2), 360–367.  
<https://doi.org/10.1007/s12031-013-9997-4>
- Clínica, G., Galega, S., & Interna, D. M. (2011). Armesto et al; 2011, 72.
- Cole, S., Mitchell, B., Hsueh, W.-C., Pineda, P., Beamer, B., Shuldiner, A., ... Hixson, J. (2000). The Pro12Ala variant of peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ 2 (PPAR- $\gamma$ 2) is associated with measures of obesity in Mexican Americans. *International Journal of Obesity*, 24(4), 522–524.  
<https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0801210>
- Cook, S., Weitzman, M., Auinger, P., Nguyen, M., & Dietz, W. H. (2003). Prevalence of a Metabolic Syndrome Phenotype in Adolescents. *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*. <https://doi.org/10.1001/archpedi.157.8.821>
- Fornage, M., Jacobs, D. R., Steffes, M. W., Gross, M. D., Bray, M. S., & Schreiner, P. J. (2005). Inverse effects of the PPAR $\gamma$ 2 Pro12Ala polymorphism on measures of adiposity over 15 years in African Americans and whites. The CARDIA study. *Metabolism*, 54(7), 910–917.  
<https://doi.org/10.1016/j.metabol.2005.02.005>
- Fredrik Barth, Comp. (1976). *LOS GRUPOS ETNICOS y SUS FRONTERAS*. Retrieved from [http://www.cedet.edu.ar/archivos/Bibliotecas\\_Archivos/id40/Barth-Los-grupos-etnicos-y-sus-fronteras.pdf](http://www.cedet.edu.ar/archivos/Bibliotecas_Archivos/id40/Barth-Los-grupos-etnicos-y-sus-fronteras.pdf)
- Gouda, H. N., Sagoo, G. S., Harding, A. H., Yates, J., Sandhu, M. S., & Higgins, J. P. T. (2010). The association between the peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ 2 (PPARG2) Pro12Ala gene variant and type 2 diabetes mellitus: A HuGE review and meta-analysis. *American Journal of Epidemiology*.  
<https://doi.org/10.1093/aje/kwp450>
- Green, L. D., Derr, J. N., & Knight, A. (2000). mtDNA Affinities of the Peoples of North-Central Mexico. *The American Journal of Human Genetics*, 66(3), 989–998. <https://doi.org/10.1086/302801>
- Guardado-Estrada, M., Queipo, G., Meraz-Ríos, M., & Berumen-Campos, J. (2008). Diversidad genética en la población mexicana: Utilización de marcadores de ADN. *Rev Med Hosp Gen Mex*, 71(3), 162–174.
- Gulgar, L. L., & Castellanos, M. (2018). Factores de riesgo cardiovasculares y su relación con las alteraciones del metabolismo de los glúcidos y lípidos Cardiovascular Risks Factors and their Relationship with Disorders of, 248–260.
- He, W. (2009). PPAR $\gamma$ 2 Pro12Ala Polymorphism and Human Health. *Article ID*, 849538, 15. <https://doi.org/10.1155/2009/849538>
- Heart, N. (2005). FOURTH REPORT ON Diagnosis , Evaluation , and Treatment of High Blood Pressure in Children and Adolescents. Retrieved from [https://www.nhlbi.nih.gov/files/docs/resources/heart/hbp\\_ped.pdf](https://www.nhlbi.nih.gov/files/docs/resources/heart/hbp_ped.pdf)

- Heart, N. (2012). Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents: summary report. *Pediatrics*, *128 Suppl*, 38–46. <https://doi.org/10.1542/peds.2009-2107C>
- Hernández-Rodríguez, J., & Duchi-Jimbo, P. (2015). Índice cintura/talla y su utilidad para detectar riesgo cardiovascular y metabólico Waist-to-height ratio and its usefulness in detection of the cardiovascular and metabolic risk. *Revista Cubana de Endocrinología*, *2626(11)*, 66–7666. Retrieved from <http://scielo.sld.cu>
- Holst, D., Luquet, S., Nogueira, V., Kristiansen, K., Leverve, X., & Grimaldi, P. A. (2003). Nutritional regulation and role of peroxisome proliferator-activated receptor  $\delta$  in fatty acid catabolism in skeletal muscle. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, *1633(1)*, 43–50. [https://doi.org/10.1016/S1388-1981\(03\)00071-4](https://doi.org/10.1016/S1388-1981(03)00071-4)
- Hou, Y., Moreau, F., & Chadee, K. (2012). PPAR $\gamma$  is an E3 ligase that induces the degradation of NF $\kappa$ B/p65. *Nature Communications*, *3(1)*, 1300. <https://doi.org/10.1038/ncomms2270>
- Huang, J.-C. (2008). The Role of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors in the Development and Physiology of Gametes and Preimplantation Embryos, *7*. <https://doi.org/10.1155/2008/732303>
- Ingman, M., Kaessmann, H., Pääbo, S., & Gyllensten, U. (2000). Mitochondrial genome variation and the origin of modern humans. *Nature*, *408(6813)*, 708–713. <https://doi.org/10.1038/35047064>
- Iniesta, R., Guinó, E., & Moreno, V. (2005). *Análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos*. *Gac Sanit* (Vol. 19). Retrieved from <http://scielo.isciii.es/pdf/gsv/v19n4/metodologica.pdf>
- Instituto Nacional de Salud Publica. (2016). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016*. Mexico. Retrieved from [http://transparencia.insp.mx/2017/auditorias-insp/12701\\_Resultados\\_Encuesta\\_ENSANUT\\_MC2016.pdf](http://transparencia.insp.mx/2017/auditorias-insp/12701_Resultados_Encuesta_ENSANUT_MC2016.pdf)
- Issemann, I., & Green, S. (1990). Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/347645a0>
- Janani, C., & Ranjitha Kumari, B. D. (2015). PPAR gamma gene – A review. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2014.09.015>
- Jehl-Pietri, C., Bastie, C., Gilot, I., Luq, S., & Grimaldi, P. A. (2000). Peroxisome-proliferator-activated receptor  $\delta$  mediates the effects of long-chain fatty acids on post-confluent cell proliferation. *Biochemical Journal*, *350(1)*, 93. <https://doi.org/10.1042/0264-6021:3500093>
- Keller, H., Dreyer, C., Medin, J., Mahfoudi, A., Ozato, K., & Wahli, W. (1993). Fatty

- acids and retinoids control lipid metabolism through activation of peroxisome proliferator-activated receptor-retinoid X receptor heterodimers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90(6), 2160–4. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.6.2160>
- La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE). (2017). *Obesity Update 2017*. Retrieved from [www.oecd.org/health/obesity-update.htm](http://www.oecd.org/health/obesity-update.htm)
- Lahn, B. T. (1997). Functional Coherence of the Human Y Chromosome. *Science*, 278(5338), 675–680. <https://doi.org/10.1126/science.278.5338.675>
- Lee, M. Y., Choi, R., Kim, H. M., Cho, E. J., Kim, B. H., Choi, Y. S., ... Chung, C. H. (2012). Peroxisome proliferator-activated receptor  $\delta$  agonist attenuates hepatic steatosis by anti-inflammatory mechanism. *Experimental & Molecular Medicine*, 44(10), 578. <https://doi.org/10.3858/emm.2012.44.10.066>
- Lehmann, J. M., Moore, L. B., Smith-Oliver, T. A., Wilkison, W. O., Willson, T. M., & Kliewer, S. A. (1995). An antidiabetic thiazolidinedione is a high affinity ligand for peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma). *The Journal of Biological Chemistry*, 270(22), 12953–6. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7768881>
- Lim, H., Gupta, R. A., Ma, W. -g., Paria, B. C., Moller, D. E., Morrow, J. D., ... Dey, S. K. (1999). Cyclo-oxygenase-2-derived prostacyclin mediates embryo implantation in the mouse via PPARdelta. *Genes & Development*, 13(12), 1561–1574. <https://doi.org/10.1101/gad.13.12.1561>
- Lodish H, Berka A, Matsudaira P, Kaiser C, Krieger M, S. M. (2005). Biología Celular y Molecular- Lodish. In *Biología celular y Molecular*. <https://doi.org/558>
- Lonard, D. M., & O'Malley, B. W. (2007). Nuclear Receptor Coregulators: Judges, Juries, and Executioners of Cellular Regulation. *Molecular Cell*. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2007.08.012>
- Lowell, B. B. (1999). *PPAR: An Essential Regulator Minireview of Adipogenesis and Modulator of Fat Cell Function*. *Cell* (Vol. 99). Retrieved from <https://www.cell.com/action/showPdf?pii=S0092-8674%2800%2981654-2>
- Luo, C., Liu, C., Ge, L., Pang, G., Yang, M., Hu, C., ... Peng, J. (2015). PPARD + 294C overrepresentation in general and long-lived population in China Bama longevity area and unique relationships between PPARD + 294T / C polymorphism and serum lipid profiles, 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12944-015-0016-3>
- Mangelsdorf, D. J., Thummel, C., Beato, M., Herrlich, P., Schütz, G., Umesono, K., ... Evans, R. M. (1995). The nuclear receptor superfamily: The second decade. *Cell*, 83(6), 835–839. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(95\)90199-X](https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90199-X)
- Michalik, L., Desvergne, B., Tan, N. S., Basu-Modak, S., Escher, P., Rieusset, J., ... Wahli, W. (2001). Impaired skin wound healing in peroxisome proliferator-

- activated receptor (PPAR)alpha and PPARbeta mutant mice. *The Journal of Cell Biology*, 154(4), 799–814. <https://doi.org/10.1083/jcb.200011148>
- Mokha, J. S., Srinivasan, S. R., Dasmahapatra, P., Fernandez, C., Chen, W., Xu, J., & Berenson, G. S. (2010). Utility of waist-to-height ratio in assessing the status of central obesity and related cardiometabolic risk profile among normal weight and overweight / obese children : The Bogalusa Heart Study. *BMC Pediatrics*, 10(1), 73. <https://doi.org/10.1186/1471-2431-10-73>
- Mp, G., Attianese, G., & Desvergne, B. (2015). Integrative and systemic approaches for evaluating PPAR $\beta/\delta$  (PPARD) function. *Nuclear Receptor Signaling*, 13, 1–32. <https://doi.org/10.1621/nrs.13001>
- Organización Mundial de la Salud. (2016). *INFORME MUNDIAL SOBRE LA DIABETES*. Retrieved from [www.who.int](http://www.who.int)
- Parra, S., & Mejía, L. C. (2001). Implicaciones farmacológicas de los receptores activados por los proliferadores de peroxisomas (PPAR). *Iatreia*, 14(1), 35–46.
- Peñaloza-Espinosa, R. I., Arenas-Aranda, D., Cerda-Flores, R. M., Buentello-Malo, L., González-Valencia, G., Torres, J., ... Salamanca, F. (2007). Characterization of mtDNA Haplogroups in 14 Mexican Indigenous Populations. *Human Biology*, 79(3), 313–320. <https://doi.org/10.1353/hub.2007.0042>
- Ponte, C. I. (2009). Redescubriendo los triglicéridos como factor de riesgo cardiovascular. *Avances Cardiol.*
- Quillahuamán, E. H. (2017). “Comparación entre Índice cintura estatura y en IMC como predictor de riesgo cardiometabolico en niños de 6 a 14 años hospitalizados en el Hospital regional Honorario Delgado de Arequipa en el servicio pediatra,” 1–62.
- Rosales-Reynoso, M. A., Wence-Chavez, L. I., Arredondo-Valdez, A. R., Dumois-Petersen, S., Barros-Núñez, P., Gallegos-Areola, M. P., ... Sánchez-Corona, J. (2017). Protective role of +294 T/C (rs2016520) polymorphism of PPARD in Mexican patients with colorectal cancer. *Genetics and Molecular Research*, 16(1). <https://doi.org/10.4238/gmr16019324>
- Russell, A. P., Hesselink, M. K. C., Lo, S. K., & Schrauwen, P. (2005). Regulation of metabolic transcriptional co-activators and transcription factors with acute exercise. *The FASEB Journal*, 19(8), 986–988. <https://doi.org/10.1096/fj.04-3168fje>
- Salzano, F. M. (2002). Molecular variability in Amerindians: widespread but uneven information\*, 74(2), 223–263. Retrieved from [www.scielo.br/aabc](http://www.scielo.br/aabc)
- Skogsberg, J., Kannisto, K., Cassel, T. N., Hamsten, A., Eriksson, P., & Ehrenborg, E. (2003). Evidence That Peroxisome Proliferator – Activated Receptor Delta Influences Cholesterol Metabolism in Men. <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000064383.88696.24>

- Skogsberg, J., Kannisto, K., Roshani, L., Gagne, E., Hamsten, A., Larsson, C., & Ehrenborg, E. (2000). Characterization of the human peroxisome proliferator activated receptor delta gene and its expression. *International Journal of Molecular Medicine*. <https://doi.org/10.3892/ijmm.6.1.73>
- Skogsberg, J., McMahon, A. D., Karpe, F., Hamsten, A., Packard, C. J., & Ehrenborg, E. (2003). Peroxisome proliferator activated receptor delta genotype in relation to cardiovascular risk factors and risk of coronary heart disease in hypercholesterolaemic men. *J Intern.Med.*, 254(0954–6820 (Print)), 597–604.
- Swarbrick, M. M., Chapman, C. M. L., Mcquillan, B. M., Hung, J., & Thompson, P. L. (2001). A Pro12Ala polymorphism in the human peroxisome proliferator-activated receptor-  $\gamma$  2 is associated with combined hyperlipidaemia in obesity, 277–282.
- Wei, Q., Jacobs, D. R., Schreiner, P. J., Siscovick, D. S., Steffes, M. W., & Fornage, M. (2006). Patterns of association between PPAR $\gamma$  genetic variation and indices of adiposity and insulin action in African-Americans and whites: the CARDIA Study. *Journal of Molecular Medicine*, 84(11), 955–965. <https://doi.org/10.1007/s00109-006-0088-7>
- Westergaard, M., Henningsen, J., Kratchmarova, I., Kristiansen, K., Svendsen, M. L., Johansen, C., ... Kragballe, K. (2001). Modulation of Keratinocyte Gene Expression and Differentiation by PPAR-Selective Ligands and Tetradecylthioacetic Acid. *Journal of Investigative Dermatology*, 116(5), 702–712. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.2001.01329.x>
- Willson, T. M., Brown, P. J., Sternbach, D. D., & Henke, B. R. (2000). The PPARs: From orphan receptors to drug discovery. *Journal of Medicinal Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/jm990554g>
- Yen, C.-J., Beamer, B. A., Negri, C., Silver, K., Brown, K. A., Yarnall, D. P., ... Shuldiner, A. R. (1997). Molecular Scanning of the Human Peroxisome Proliferator Activated Receptor  $\gamma$  (hPPAR $\gamma$ ) Gene in Diabetic Caucasians: Identification of a Pro12Ala PPAR $\gamma$ 2 Missense Mutation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 241(2), 270–274. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1997.7798>