

# POLIMORFISMO GLY972ARG DEL GEN SUSTRATO DEL RECEPTOR DE INSULINA 1 EN PRE-PÚBERES CON RIESGO CARDIOMETABÓLICO

María Fátima Garcés (1), Mee-Lien Fung (2), María Eugenia Rivero (2),  
Hilda Stekman (3), Celsy Hernández (4), Ana López (5), Ingrid Soto de Sanabria (5),  
Mercedes Cerviño (6).

Recibido 08-12-14  
Aceptado: 18-03-15

## RESUMEN

**Introducción:** El sustrato del receptor de insulina 1 (IRS1) es un componente importante de la cascada de transducción de señales de la insulina y podría estar relacionado con los trastornos metabólicos asociados al síndrome metabólico. **Objetivo:** Evaluar el papel del polimorfismo Gly972Arg del gen IRS1 con factores de riesgo cardiometabólicos en niños pre-púberes. **Metodología:** Se estudiaron 279 niños con edades comprendidas entre 2-12 años, clasificados según los parámetros antropométricos y bioquímicos en: a) niños obesos sin RI (n=135), b) niños obesos con RI (n=80) y c) niños controles sanos (n=64). A cada niño se le realizó una extracción de sangre en ayunas y una postprandial, para determinar glicemia e insulina basal y postprandial, triglicéridos, colesterol total y fraccionado y la frecuencia genotípica del SNP Gly972Arg. **Resultados:** Se observó que 37,5% de los niños presentó RI; 9,6% hiperglicemia en ayunas; 27,3% hipertrigliceridemia y 50,46% bajos niveles de HDL-c. La frecuencia genotípica fue 89% genotipo Gly/Gly y 11% genotipo Gly/Arg. Se encontró diferencia significativa en la distribución de los diferentes genotipos del gen de IRS1 en los niños con sobrepeso/obesidad sin RI y niños con sobrepeso/obesidad con RI con respecto al grupo control (OR= 4,47; IC 95%=0,96-16,92; p < 0,05) y (OR= 4,43; IC 95%=0,93-21,00; p < 0,05) respectivamente. **Conclusión:** Se observó una asociación entre la presencia del genotipo Gly/Arg del gen IRS1 con sobrepeso/obesidad (factor de riesgo cardiometabólico) en los niños del estudio, presentando estos niños 4 veces más riesgos a presentar sobrepeso/obesidad que los niños con el genotipo Gly/Gly.

**Palabras clave:** Polimorfismo Gly972Arg, Gen IRS1, Síndrome metabólico, Resistencia a la insulina, obesidad.

## GLY972ARG POLYMORPHISM IN THE INSULIN RECEPTOR SUBSTRATE 1 GENE IN PREPUBERTAL CHILDREN WITH CARDIOMETABOLIC RISK

### SUMMARY

**Introduction:** Insulin receptor substrate 1 (IRS-1) is an important component of the insulin signal transduction cascade and could be related with metabolic disorders associated with metabolic syndrome (MS). **Aim:** Evaluate the role of the Gly972Arg polymorphism in the IRS1 gene in prepubertal children with cardiometabolic risk factors. **Methods:** We studied 279 children between 2-12 years of age, divided in groups 3 groups: a) obese children without insulin resistance (IR) (n=135), b) obese children with IR (n=80) and c) healthy children as controls (n=64). Basal and postprandial glucose, insulin, triglycerides, total and fractionated cholesterol and genotype frequency of the Gly972Arg SNP were determined in fasting and postprandial samples in each child. **Results:** 37.5% of the children had IR; in the fasting state, 9.6% had hyperglycemia, 27.3% hypertriglyceridemia and 50.46% low HDL-C. The genotypic frequency was 89% for the Gly / Gly genotype and 11% Gly / Arg genotype. Significant difference was found in the distribution of the different genotypes of the IRS1 gene in children with overweight/obesity without IR and children with overweight/obesity with IR compared to the control group (OR = 4.47; CI 95% = 0.96-16.92; p < 0.05) and (OR = 4.43; CI 95% = 0.93 - 21.00, p < 0.05) respectively. **Conclusion:** Association between the presence of Gly/Arg genotype of the IRS1 gene with overweight/obesity (cardiometabolic risk factor) was observed in the studied children. These children were four times more likely to be overweight/obese than children with Gly / Gly genotype.

**Keywords:** Gly972Arg Polymorphism, IRS1 Gene, Metabolic Syndrome, Insulin Resistance, obesity.

## INTRODUCCION

La obesidad infantil es uno de los problemas de salud pública más graves del siglo XXI. En 2013, más de 42 millones

de niños menores de cinco años de edad tenían sobrepeso. Si bien el sobrepeso y la obesidad tiempo atrás eran considerados un problema propio de los países de ingresos altos, actualmente ambos trastornos están aumentando en los países de ingresos bajos y medianos, en particular en los entornos urbanos (1).

En Venezuela, el Sistema de Vigilancia Alimentaria y Nutricional (SISVAN), dependiente del Instituto Nacional de Nutrición (INN), reportó como cifras oficiales para el año 2007, según indicador peso/talla en menores de 15 años, un total de 13,12% sobre la norma (2). El Servicio "Nutrición, Crecimiento y Desarrollo" (NCD) del Hospital de Niños "J.M. de los Ríos", de Caracas reportó, para el año 2011, la atención de 17,05% de niños con malnutrición por exceso y el Centro de Atención Nutricional Infantil de Antimano (CANIA) reportó 21,8% Según el estudio Situación de Vida y Movilidad Social, 2001 de la Fundación de Estudios sobre Crecimiento y Desarrollo de la Población Venezolana (FUN-DACREDESA), en la década anterior informaron un aumento en la tendencia en el exceso de adiposidad (Obesidad) 5%

1. Licenciada en Bioanálisis. Dra. en Ciencias mención Bioquímica. Profesor Asociado Cátedra de Bioquímica "A" Escuela de Bioanálisis. Coordinador Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas. Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, Caracas.
2. Licenciada en Bioanálisis. Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas, Facultad de Medicina, Escuela de Bioanálisis, Universidad Central de Venezuela, Caracas.
3. Licenciada en Bioanálisis. MSc. en Ciencias mención Inmunología. Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, Caracas.
4. Licenciada en Bioanálisis. Profesor Asistente Cátedra de Bioquímica "B" Escuela de Bioanálisis. Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, Caracas.
5. Médico Pediatra. Servicio de Nutrición Crecimiento y Desarrollo del Hospital de Niños J.M. de los Ríos, Caracas.
6. Licenciada en Bioanálisis. Profesor Instructor Cátedra de Microbiología, Facultad de Medicina, Escuela de Enfermería, Universidad Central de Venezuela, Caracas.

Autor corresponsal: Dra. María Fátima Garcés Da Silva, Telfs: 0212-6053308, 0414-1363868, Fax 0212-6053312. Correo: mariafatimagarcés@hotmail.com

a 11% en escolares de 7 años (3).

Los niños obesos y con sobrepeso tienden a seguir siendo obesos en la edad adulta y tienen más probabilidades de desarrollar a edades más tempranas enfermedades no transmisibles tales como: hipertensión, perfil lipídico anormal, resistencia a la insulina, diabetes mellitus tipo 2 (DM2), enfermedad cardiovascular aterosclerótica (4-9). El sobrepeso, la obesidad y las enfermedades conexas son en gran medida prevenibles, es por ello que hay que dar una gran prioridad a la prevención de la obesidad infantil.

Estudios realizados sugieren que la obesidad infantil cuando está presente después de los 3 años de edad es asociada con un mayor riesgo de obesidad en la edad adulta aumentando así la incidencia de alteraciones metabólicas asociadas. La obesidad es uno de los componentes más importantes del Síndrome Metabólico (SM), el cual consiste en la asociación de un conjunto de indicadores antropométricos, bioquímicos y fisiológicos (obesidad central, hipertensión arterial, resistencia a la insulina, hiperinsulinemia compensada, DM2, dislipidemia, hiperglicemia) (4,6,8,10).

Se ha demostrado que el SM tiene su origen en la infancia, por ello, la identificación temprana de los factores de riesgo en sus etapas incipientes, justifican la intervención precoz para prevenir la progresión y por consiguiente la aparición de complicaciones. Existen discrepancias en cuanto al diagnóstico del SM lo cual ha generado dificultad al establecer las implicaciones clínicas de este síndrome. Sin embargo, se ha demostrado que la prevalencia es mayor en niños, niñas, adolescentes y adultos obesos que en individuos de peso normal (10,11).

La obesidad es una enfermedad multifactorial con una etiología muy complicada. Los factores genéticos juegan un papel importante en el desarrollo de la obesidad primaria. Pueden ser responsables de hasta el 40% de las causas que conducen a la obesidad. Hay un gran número de genes que afectan a la ingesta de alimentos y el gasto energético, estos son modulados por factores ambientales relacionados con el estilo de vida (dieta rica en calorías y grasas saturadas y pobre en fibras, sedentarismo) (12,13). Entre los genes candidatos de riesgo para el desarrollo de enfermedades metabólicas no transmisibles, está el gen del sustrato del receptor de insulina 1 (IRS1).

El IRS-1 constituye un elemento clave en la cascada de señalización de la insulina lo que ha motivado el estudio del aporte de sus variantes génicas a la susceptibilidad genética de la DM 2. El IRS-1 es fosforilado por la quinasa del receptor de la insulina, posteriormente se une a la fosfatidil inositol 3 quinasa, lo cual provoca la activación de la vía que controla el transporte de glucosa estimulado por la insulina (14). El posible papel del gen del IRS-1 en la DM 2 ha sido estudiado en modelos animales experimentales y en humanos

El polimorfismo Gly972Arg del IRS-1 es una variante común de este gen. Se ha reportado que en las células secretoras de insulina, que sobre expresan la variante Gly972Arg

del IRS-1, existe una disminución de la secreción de insulina estimulada por la glucosa y las sulfonilureas (15). Existen reportes de que la variante Arg972 empeora la señalización de la insulina (16). En algunos sujetos con tolerancia a la glucosa normal, el polimorfismo Gly972Arg se ha asociado a una disminución de la secreción de insulina por las células beta en respuesta a la glucosa, sin disminución de la sensibilidad a la insulina (17). De esta forma, se ha planteado que el polimorfismo Gly972Arg representa una variante génica con repercusión funcional en dos elementos fisiopatológicos involucrados en el desarrollo de la DM2: la resistencia a la insulina y la disfunción de la célula beta (17).

Teniendo en cuenta estos antecedentes se exploró el papel del polimorfismo y Gly972Arg del gen IRS-1 en la susceptibilidad genética para la obesidad y resistencia a la insulina, en un grupo de niños pre-púberes.

## MÉTODOS

El presente trabajo corresponde a un estudio descriptivo y correlacional de un grupo de niños pre-púberes con factores de riesgo para enfermedad cardiometabólica (obesidad, resistencia a la insulina y/o dislipidemias) y niños sanos.

*Normas de bioética:* El protocolo del estudio se realizó bajo las normas de ética establecidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para trabajos de investigación en humanos y la declaración de Helsinki ratificada por la 29th World Medical Assembly, Tokio 1995. Contó con la aprobación del Comité de Bioética de la institución y con el consentimiento informado de los padres o representantes de los niños del estudio.

*Población de estudio:* La población en estudio estuvo conformada por 279 niños pre-púberes agrupados en 116 niñas y 163 niños, con edades comprendidas entre 2-12 años, con maduración sexual Tanner I determinado por las características de glándula mamaria, vello axilar y pubiano en las niñas, y genitales, vello axilar y pubiano en los varones (18). Los niños con sobrepeso u obesidad acudieron al Servicio de Nutrición Crecimiento y los niños aparentemente sanos normopeso al Triaje del Hospital de Niños "Dr. J.M de los Ríos".

Los niños fueron clasificados según las variables antropométricas y bioquímicas en 3 grupos: 1) grupo de niños con obesidad exógena según el diagnóstico nutricional integral dado por signos clínicos y antropométricos de dimensión y composición corporal: Índice de Masa Corporal (IMC), Peso/Talla, Área Grasa, sin resistencia a la insulina. 2) grupo de niños con obesidad y resistencia a la insulina según los resultados obtenidos de glicemia e insulina en ayunas y aplicando el modelo de registro homeostático (HOMA IR = Insulina (mU/L) x Glicemia (mmol/L) / 22.5, se considera RI si el HOMA > 3,0) (19); y 3) grupo de niños control (normopeso, sin alteraciones bioquímicas, ni inmunológicas).

A cada niño del protocolo con sobrepeso/obesidad y niño sano, se le extrajo una muestra de de sangre en ayuna (de 8

– 10 horas aproximadamente). A los niños con obesidad se les suministró una carga de glucosa oral (Glycolab®) a razón de 1,75 mg/kg de peso en 5 minutos, hasta una dosis máxima de 75 g de glucosa. Los participantes se mantuvieron en reposo; transcurridas dos horas se procedió nuevamente a extraer 5ml de sangre que corresponde a la muestra postcarga para la determinación inmediata de glicemia y posterior de insulina.

Criterios de exclusión: Niños desnutridos, con infecciones agudas o crónicas, evidencia de inmunodeficiencia primaria o secundaria y obesidad endógena.

*Evaluación y diagnóstico nutricional antropométrico:* Todos los niños fueron pesados y tallados siguiendo las técnicas de antropometría del Programa Internacional de Biología (20). Para la evaluación antropométrica de la malnutrición por exceso se consideraron los siguientes indicadores: Peso/talla, IMC/edad, y Área Grasa/edad. La ubicación de estas variables se realizó en los gráficos correspondientes a la OMS y al Estudio Transversal Caracas (empleados en el Servicio de Nutrición) considerando como puntos límites: sobrepeso  $\geq p90$  - $<p97$ , obesidad  $\geq p97$  para ambas referencias. La intensidad de la obesidad se determinó por el porcentaje de exceso de peso ideal para la talla: Sobrepeso  $>10$ - 20%, Obesidad leve  $>20$ -30%, Obesidad Moderada  $>30$ -40% y Obesidad Grave  $>40\%$  (21,22)

*Evaluación socioeconómica:* Se estimó la condición socio-económica de las familias de procedencia de los niños empleando el método Graffar-Méndez Castellano (23).

*Recolección y procesamiento de muestras sanguíneas:* A cada niño se le extrajo con jeringa estéril 8 mL de sangre total que se colocó en un tubo con anticoagulante EDTA y un tubo sin anticoagulante. Las muestras sin anticoagulante fueron centrifugadas en un lapso no mayor de 30 minutos a 3000 xg en una centrífuga refrigerada a 4°C por 15 min y el suero congelado a -20°C hasta su procesamiento. Las muestras con anticoagulante fueron conservadas en refrigerador a una temperatura no mayor de los 8°C hasta realizar la extracción del ADN. Determinaciones de laboratorio: Se determinó glucosa, colesterol y triglicéridos empleando un equipo automatizado marca DuPont Dimension XL (DuPont companies, New Town, Escocia). Electroforesis de colesterol en equipo automatizado de Helena Laboratories SAS-1 (Helena Laboratories, Texas, USA). Empleando inmunoensayo enzimático adsorbente (ELISA), se determinó Insulina (DRG International, Marburg, Alemania). Los criterios de clasificación para las variables bioquímicas estudiadas (24-26) se muestran en la Tabla 1.

*Genotipificación:* Se realizó extracción de ADN de las muestras por el método de "Bunce" (27) modificado y almacenadas a -20°C hasta la amplificación del ADN, la cual fue hecha por medio de la técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) anidada, con modificaciones de la técnica descrita por Baroni et al (28,29) donde se realiza una primera PCR utilizando un volumen final de 25  $\mu$ L, que contiene 0.4  $\mu$ g de ADN genómico, 1,5 mmol/L de MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mmol/L de

dNTPs, 0,4  $\mu$ mol de cada primer, 5 $\mu$ L Buffer 5x Green (PROMEGA) y 1.25 U de Taq Polimerasa (PROMEGA), en un termociclador (Lab Cycler de Senso Quest, Alemania), utilizando los siguientes primers externos: Forward: 5'-CAAGGC-CAGCACCTTACCTC-3' y Reverse: 5'-GGCTCACCTCCTCTGCAGC-3' que abarcan una región de 479 pares de bases. Las condiciones de la primera PCR constan de los siguientes pasos: desnaturalización a 94°C por 10 minutos, seguido de 35 ciclos de desnaturalización de 94 °C por 1 minuto, alineamiento a 62°C por 1 minuto, extensión a 72°C por 1 minuto y una extensión final a 72°C por 10 minutos.

Posteriormente se realizó una segunda PCR con 2 $\mu$ L de una dilución 1:10 del producto de la primera PCR, utilizando los siguientes primers internos: Forward: 5'-CTTCTGTCCAGGTGTCATCC-3' y Reverse: 5'-TGGCGAGGTGTCCACGTAGC -3' que abarcan una región de 263 pares de bases. Las condiciones de la segunda PCR constan de los siguientes pasos: desnaturalización a 94°C por 10 minutos, seguido de 35 ciclos de desnaturalización de 94 °C por 1 minuto, alineamiento a 60°C por 1 minuto, extensión a 72°C por 1 minuto y una extensión final a 72°C por 10 minutos. La calidad del producto de amplificación fue verificada mediante una electroforesis en gel de agarosa al 2%.

Los polimorfismos fueron detectados a través de una RFLP (polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción), utilizando la enzima de restricción BsoI para la digestión. Las muestras digeridas fueron separadas por electroforesis en gel de poliacrilamida y visualizadas por tinción con nitrato de plata y visualizadas en un sistema de fotodocumentación digital, equipo Uvitec (Gel Documentation Uvitec Limited, USA).

#### *Análisis Estadístico*

Los resultados se expresaron como la media ( $\bar{X}$ ) más o menos una desviación estándar ( $\bar{X} \pm 1DS$ ), se empleó el programa Excel 2007 (Copyright Microsoft Office, Washington, USA) para estadística descriptiva. La frecuencia alélica (FA) y frecuencia genotípica (FG) del gen en estudio, fue obtenida por conteo directo a partir de los fenotipos asignados a cada individuo. Las comparaciones entre variables se hicieron empleando la prueba ANOVA, se consideró la diferencia como estadísticamente significativa cuando  $p < 0,05$ . Para el análisis estadístico se usaron tablas de contingencia simple, evaluando la asociación entre las variables del estudio y el polimorfismo Gly972Arg por Chi<sup>2</sup> y odds ratio (OR). Para determinar las relaciones entre alelos del gen estudiado y la enfermedad también se realizan pruebas de ANOVA, evaluando la asociación entre las variables del estudio y el alelo del gen mencionado. Se consideró como significativo un  $p < 0,05$ .

## **RESULTADOS**

En la Tabla 2 se presentan los parámetros bioquímicos de los niños participantes en cuanto a niveles de: glicemia, insulina, colesterol total y fraccionado, triglicéridos, representando los valores como media  $\pm$  desviación estándar. Como se

Tabla 1. Criterios de Clasificación de Parámetros Bioquímicos

| Parámetro                | Referencia   | Criterio Diagnóstico  |
|--------------------------|--|---|
| Glucosa en ayunas        | Asociación Americana de Diabetes (ADA)(24)   | Normoglicemia: glucemia menor a 100 mg/dL.<br>Alteración de la glucemia en ayunas (AGA): glucemia entre 100 mg/dL y 126 mg/dL.<br>Alteración de la tolerancia a la glucosa (ATG): glucemia 2 horas después de sobrecarga oral de glucosa entre 140 mg/dL y 199 mg/dL. |
| Colesterol Triglicéridos | Fundacredesa, Proyecto Venezuela (25)  | En rango normal: igual o mayor al p.10 y menor a p.75.<br>En zona de riesgo: igual o mayor a p.75 y menor a p.90.<br>En rango elevado: igual o mayor a P90P90.  |
| LDL-c                    | Panel de expertos del Programa Nacional de enseñanzas sobre Colesterol para niños y adolescentes (26)  | Aceptable: menos de 110 mg/dL<br>Límite: Entre 110 mg/dL y 129 mg/dL<br>Alto: Igual o mayor a 130 mg/dL   |
| HDL-c                    | Panel de Expertos del Programa Nacional de Enseñanzas sobre Colesterol para Niños y Adolescentes (26). | Adecuado: igual o mayor a 35 mg/dL  |

Tabla 2. Características bioquímicas de los niños en estudio por grupo

| Parámetros                         | Niños control (n=64) | Niños con sobrepeso/obesidad sin RI (n=135) | Niños con sobrepeso/obesidad y RI (n=80) |
|------------------------------------|----------------------|---|--|
| Glucosa Basal (mg/dL)              | 90,30 ± 8,51         | 84,91 ± 9,08                                | 95,54 ± 26,31                            |
| Glucosa Post Prandial (mg/dL)      | -----                | 91,00 ± 14,88                               | 94,41 ± 16,85                            |
| Insulina Basal $\mu$ UI/MI         | 6,07 ± 2,59          | 9,42 ± 3,17***                              | 21,53 ± 10,32***                         |
| Insulina Post Prandial $\mu$ UI/mL | ----                 | 31,78 ± 20,40                               | 49,94 ± 26,21                            |
| HOMA                               | 1,35 ± 0,59          | 1,97 ± 0,67                                 | 4,93 ± 2,21**                            |
| Colesterol (mg/dL)                 | 136,81 ± 19,47       | 167,61 ± 39,21***                           | 182,43 ± 38,82***                        |
| HDL-c (mg/dL)                      | 45,34 ± 9,52         | 38,87 ± 11,83***                            | 41,12 ± 12,33**                          |
| VLDL-c (mg/dL)                     | 12,36 ± 5,16         | 20,04 ± 11,52***                            | 24,15 ± 13,14***                         |
| LDL-c (mg/dL)                      | 80,97 ± 16,80        | 108,72 ± 33,57***                           | 116,74 ± 36,14***                        |
| TG (mg/dL)                         | 61,89 ± 25,93        | 89,10 ± 49,24***                            | 81,57 ± 38,26***                         |

\*\* p < 0,01 con respecto al grupo control \*\*\* p < 0,001 con respecto al grupo control

puede apreciar tanto en el grupo de niños con sobrepeso/obesidad sin RI como en el grupo de niños con sobrepeso/obesidad y RI la concentración de insulina basal, la concentración de colesterol total, la concentración de LDL-c y el índice HOMA estuvieron significativamente incrementados con respecto a las concentraciones e índice observado en el grupo de niños sin factores de riesgo o control. En relación a la concentración de triglicéridos, se observó que la concentración de los mismos estaba significativamente elevada en el grupo de niños con obesidad y resistencia a la insulina (81,57 ± 38,26) con respecto al grupo de niños sin factores de riesgo (61,89 ± 25,93) (Tabla 2). Por otra parte, se encontró una correlación positiva entre los niveles de insulina y la hipertrigliceridemia (r = 0,429 p < 0,05).

Del total de niños con algún grado de obesidad se encontró que 43,98% presentaba obesidad grave, seguido de 29,17% con obesidad moderada, 16,20% sobrepeso y 10,65% obesidad leve.

La relación entre los parámetros bioquímicos y el grado de obesidad se muestra en la Tabla 3. A medida que aumentó el grado de obesidad aumentaron los niveles de insulina en ayunas y postprandiales con un p < 0,05. Además se encontró una correlación positiva entre la adiposidad y los niveles de insulina (r = 0,320 p < 0,05). No se encontraron diferencias entre los niveles de glucosa en ayunas y postprandiales, HOMA, colesterol y sus fracciones y los triglicéridos según el grado de obesidad. Por otra parte se encontró correlación positiva entre los niveles de triglicéridos y los niveles de insulina en ayunas (r = 0,429 p < 0,05), además de una correlación positiva entre los niveles de insulina y la severidad de la obesidad (r = 0,320 p < 0,05).

#### Tipificación de la variante Gly972Arg del gen IRS1

En la figura 1 se visualizan los productos amplificados correspondientes a la región del gen IRS1 que posee la variante Gly972Arg. Posteriormente, los productos amplificados fueron digeridos con la enzima de restricción BsoI (PROMEGA), visualizándose en geles de poliacrilamida al 10%, coloreado con nitrato de plata. Observándose cinco bandas: 159 pb, 108 pb, 81 pb, 51 pb y 23 pb correspondiente al genotipo Gly/Arg y tres bandas, una de 159 pb, 81 pb y 23 pb correspondiente al genotipo Gly/Gly (Figura 2)

#### Frecuencia del Polimorfismo Gly972Arg del gen IRS1

En la población en estudio la distribución genotípica del polimorfismo Gly972Arg del gen IRS-1, está en equilibrio de Hardy Weinberg (prueba X<sup>2</sup>, p > 0,05). Sólo se observó la presencia de dos (Gly/Gly, Gly/Arg) de los tres genotipos po-

Tabla 3. Parámetros bioquímicos de los individuos según el grado de obesidad

| Parámetros                    | Niños control (n=64) | Sobrepeso (n=35) | Obesidad leve (n=23) | Obesidad moderada(n=63) | Obesidad Grave (n=95) |
|-------------------------------|----------------------|------------------|----------------------|-------------------------|-----------------------|
| Glucosa Basal (mg/dL)         | 90,30 ±8,51          | 89,75 ±8,21      | 87,32 ± 20,69        | 86,80 ± 11,66           | 88,08±12,21           |
| Glucosa Post Prandial (mg/dL) | ----                 | 91,59± 16,47     | 90,67 ± 15,45        | 92,66 ±15,29            | 92,86±15,96           |
| Insulina Basal µUI/mL         | 6,07 ± 2,59          | 9,95 ± 4,70      | 14,56 ±7,32          | 13,31 ±5,71             | 16,24±9,13*           |
| Insulina Post Prandial µUI/mL | ----                 | 30,91 ± 18,07    | 35,34 ± 17,62        | 36,71± 23,65            | 42,30±25,95           |
| HOMA                          | 1,35 ± 0,59          | 2,25 ± 1,12      | 2,82 ± 1,49          | 2,80 ± 1,31             | 3,33±2,00             |
| Colesterol (mg/dL)            | 136,81 ± 19,47       | 172,5 ± 47,20    | 173,18 ± 53,29       | 167,21 ±35,55           | 177,80±37,21          |
| HDL-c (mg/dL)                 | 45,34 ± 9,52         | 43,88 ± 15,00    | 40,67 ±13,97         | 36,27 ±10,11            | 40,56±10,96           |
| VLDL-c (mg/dL)                | 12,36 ± 5,16         | 21,16 ± 13,91    | 16,38 ± 7,73         | 22,99 ± 11,40           | 21,56±12,95           |
| LDL-c (mg/dL)                 | 80,97 ± 16,80        | 105,09 ± 34,09   | 122,68 ±44,90        | 110,61 ±30,88           | 116,97±34,16          |
| TG (mg/dL)                    | 61,89 ± 25,93        | 91,67 ± 37,00    | 85,14 ± 40,28        | 100,83 ±52,53           | 100,31±58,08          |

\*\* p < 0,01 con respecto al grupo control

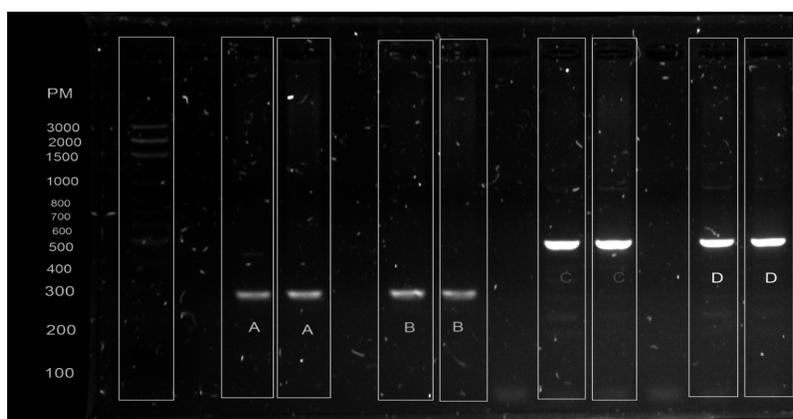


Figura 1. Visualización de los productos amplificados correspondientes al gen IRS1, mediante electroforesis en gel de agarosa al (2%) en buffer TBE 1X, coloreado con SYBR@SAFE. El pozo número 1 corresponde al marcador molecular (MP) de 100 pb (PROMEGA). Los carriles 3, 4, 6 y 7 corresponden a los productos amplificados (263 pb) con los primers internos; mientras que los carriles 9, 10, 12 y 13 corresponden a los productos amplificados (479 pb) con los primers externos de muestras de los niños del estudio.

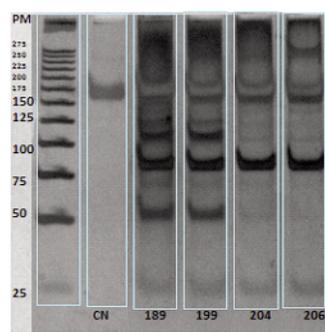


Figura 2. Visualización de los productos obtenidos de la digestión del producto amplificado de 263 pb del gen IRS1 con la enzima BsoI, mediante electroforésis en gel de poli-acrilamida (10%) en buffer TBE 1X. El pozo número 1 corresponde al marcador molecular (MP) de 25 pb (PROMEGA). El carril CN corresponde al control negativo. Los carriles indicados como 189, 199, 204 y 206 corresponden a muestras de niños incluidos en el estudio. Las muestras 189, 199 presentan el genotipo Gly/Arg y las muestras 204 y 206 el genotipo Gly/Gly.

sibles (Gly/Gly, Gly/Arg, Arg/Arg), presentando el genotipo Gly/Gly la mayor frecuencia (90%), seguido por el genotipo Gly/Arg (10%).

Se demostró que existe una diferencia significativa en la distribución de los diferentes genotipos del gen de IRS1 en el grupo de niños sobrepeso/obesidad sin RI y el grupo de niños

sobrepeso/obesidad con RI con respecto al grupo de niños control. Se observó una frecuencia incrementada del genotipo Gly/Arg en los niños sobrepeso/obesos versus los niños sanos (OR=4,47; IC 95%=0,96-16,92; p < 0,05) y (OR=4,43; IC 95%=0,93-21,00; p < 0,05) respectivamente, mientras que la frecuencia del genotipo Gly/Gly está incrementada en niños sanos versus los niños con sobrepeso/obesidad sin RI y sobrepeso/obesidad con RI (OR=0,22 ; IC 95%=0,04-1,06; p < 0.05) y (OR=0,23 ; IC 95%=0,03-1,16; p < 0.05) respectivamente.

No se observó diferencia significativa en los parámetros bioquímicos de los niños del estudio agrupados por genotipo (Tabla 5).

### DISCUSION

Los estudios de genes candidatos constituyen una de las estrategias para abordar el conocimiento de las bases genéticas de enfermedades multifactoriales. Permiten estudiar variantes polimórficas de genes involucrados en la patogenia, genes que expresan proteínas con funciones conocidas en los procesos bioquímicos relacionados con el desarrollo de la enfermedad. El IRS1 podría ser considerado un gen candidato para el que se podría establecer las bases genéticas para el desarrollo de enfermedades como la DM2, teniendo en cuenta su importante función en el mecanismo de acción de la insulina. Sus variantes génicas podrían incidir potencialmente en el desarrollo de la obesidad, resistencia a la insulina y en la patogenia de la DM2.

La asociación entre el polimorfismo Gly972Arg del IRS1 y la DT2 ha sido explorado para distintas poblaciones. El papel de este polimorfismo en la patogenia de la DM2 muestra gran variabilidad entre los diferentes grupos poblacionales

Tabla 4: Frecuencias genotípicas y alélicas del gen IRS1 en los grupos de niños en estudio.

| Grupos en estudio | Niños control (n=64) | Niños sobrepeso/obesidad sin RI (n=135) | Niños sobrepeso/obesidad con RI (n=80) | Total (n= 279) |
|-------------------|----------------------|---|--|----------------|
| Genotipo          |                      |   |  |                |
| Gly/Gly           | 97 (62)              | 87 (118)                                | 88 (70)                                | 90 (250)       |
| Gly/Arg           | 3 (2)                | 13 (17)                                 | 12 (10)                                | 10 (29)        |
| Alelo             |                      |   |  |                |
| Gly               | 98 (126)             | 94 (253)                                | 94 (150)                               | 95 (529)       |
| Arg               | 2 (2)                | 6 (17)                                  | 6 (10)                                 | 5 (29)         |

NOTA: Los valores mostrados en paréntesis representan el número de veces que se repite el alelo o el número de individuos portadores del genotipo para el sitio polimórfico estudiado. La frecuencia está expresada en porcentaje.

Tabla 5. Parámetros bioquímicos de los niños en estudio según su genotipo

| Parámetros                         | Gly/Gly (n=249) | Gly/Arg (n=30) |
|------------------------------------|-----------------|----------------|
| Glucosa Basal (mg/dL)              | 89,64 ± 17,19   | 85,31 ± 8,41   |
| Glucosa Post Prandial (mg/dL)      | 92,85 ± 16,03   | 88,33 ± 12,74  |
| Insulina Basal $\mu$ UI/mL         | 13,45 ± 8,88    | 14,48 ± 12,61  |
| Insulina Post Prandial $\mu$ UI/mL | 39,97 ± 25,23   | 33,2 ± 20,32   |
| HOMA                               | 2,68 ± 1,94     | 2,75 ± 2,06    |
| Colesterol (mg/dL)                 | 164,32 ± 39,44  | 168,90 ± 36,39 |
| HDL-c (mg/dL)                      | 40,99 ± 11,58   | 42,27 ± 12,26  |
| VLDL-c (mg/dL)                     | 18,56 ± 11,41   | 22,05 ± 15,13  |
| LDL-c (mg/dL)                      | 104,44 ± 34,53  | 110,12 ± 29,42 |
| TG (mg/dL)                         | 89,76 ± 52,61   | 96,31 ± 59,68  |

estudiados. Para algunas de ellas el alelo Arg972 se asocia a la elevación de los niveles de glucosa, en otras a una alteración de la tolerancia a la glucosa (29) y en algunas a la DT2. Un meta-análisis publicado en el año 2003 que incluyó 27 estudios independientes, realizados con distintas poblaciones (mayoritariamente de origen caucásico), mostró un incremento en el riesgo de desarrollar DM2 en los sujetos portadores del alelo Arg972. Sin embargo, estudios posteriores, en los que se incluyó un número grande de casos y controles, no lograron corroborar estas asociaciones, por lo cual el papel de esta variante polimórfica en la patogénesis de la DM2 sigue siendo un aspecto controversial dependiendo del grupo poblacional estudiado (30).

Existe una asociación directa entre la obesidad y la resistencia a la insulina en niños. Hoy en día se considera que la RI crónica mantenida, es el rasgo común de numerosas enfermedades metabólicas y no metabólicas, como la DM2, la obesidad, la hipertensión arterial, las dislipemias o la enfermedad cardiovascular (31).

El presente estudio muestra que los niños con sobrepeso/obesidad sin RI y los niños con sobrepeso/obesidad con RI tienen una tendencia a presentar valores elevados

de colesterol total y triglicéridos y valores bajos de HDLc, lo que los predispone a padecer dislipidemias, lo cual corresponde a uno de los componentes más frecuentes del SM en niños, adolescentes y adultos. Existe una correlación positiva entre los niveles de insulina y la hipertrigliceridemia lo que se evidencia en los valores de triglicéridos de los niños con sobrepeso/obesidad sin RI y niños con sobrepeso/obesidad con RI con respecto al grupo de niños control.

Aun cuando el LDLc no ha sido considerado como criterio diagnóstico del SM, se ha propuesto que su determinación se realice como rutina en niños y jóvenes obesos para

lograr la identificación temprana de niveles elevados de esta fracción del colesterol, la cual constituye un factor de riesgo en la aparición de enfermedades cardiovasculares y de lesiones arteroescleróticas a edades tempranas de la vida (31, 32). En este estudio, los niños con sobrepeso/obesidad sin RI y los niños con sobrepeso/obesidad y RI presentan niveles de LDL-c elevados significativamente al comparar con el grupo control, lo que indica que presentan una elevación de la fracción aterogénica del colesterol.

De acuerdo a los resultados obtenidos de cada uno de los factores de riesgo cardiometaabólico (Colesterol total y fraccionado, TG, insulina e índice HOMA), se observa una correlación positiva entre los niveles de insulina y la severidad de la obesidad.

Se encontró una prevalencia elevada de factores de susceptibilidad a desarrollar SM en los niños del estudio, siendo el componente más prevalente la obesidad, seguida de bajos niveles de HDL-c, hipertrigliceridemia y alteración de la glucemia en ayunas. Un estudio realizado en niños y adolescentes chilenos obtuvo como resultados que el componente más prevalente para el SM fue la obesidad abdominal (76,3%), seguida de la hipertrigliceridemia (39,1%) y el menos prevalente fue la hiperglicemia en ayunas (3,7%). En Venezuela existen pocos estudios sobre SM, Acosta y colaboradores (33) reportaron en 2006 una prevalencia de 13% en adolescentes (12 a 18 años) de la zona rural del estado Falcón utilizando los criterios del ATP III. Por otra parte, Lozada y col (34) reportaron en 2008 una prevalencia de SM de 13,6% en adolescentes pertenecientes a dos unidades educativas de Valencia. En niños y adolescentes obesos de Valencia, Estado Carabobo se encontró que una alta proporción de los mismos cumplían con tres criterios diagnósticos del SM (35).

El SM muestra una importante asociación con la RI y el riesgo de presentarlo se triplica en los niños con insulina basal y HOMA > p75. La relación entre la RI y el riesgo cardiovascular, viene dado por el doble compromiso del metabolismo glucídico y lipídico (36). Existe una competencia entre la captación periférica y el transporte de glucosa y grasa, que contribuye a la hiperglicemia y a una mayor movilización y

depósito de grasa, disminuyendo aún más la captación y metabolismo de la glucosa (36). El hiperinsulinismo compensatorio, produce una hiperrespuesta del sistema nervioso simpático que explicaría la HTA asociada (37) y un compromiso en la síntesis y acción del óxido nítrico (ON) con el consecuente daño endotelial (38). Se debe destacar que el daño endotelial se presentan en sujetos que aún no manifiestan los trastornos del SM y que la dislipidemia asociada contribuye a acelerar el proceso aterosclerótico vascular (38).

Diversos trabajos han demostrado que el SM está presente en la infancia y la adolescencia, siendo la obesidad y la resistencia a la insulina asociada, los dos factores determinantes para su desarrollo (31). Aún más, el SM en la etapa pediátrica condiciona la aparición de cambios a nivel del endotelio, precursores de arteroesclerosis y DM2 (31,39).

Investigaciones anteriores relacionadas con el estudio de familia y poblacionales muestran que el SM está influenciado por un fuerte componente genético, con una gran variabilidad entre diferentes poblaciones a nivel mundial. Al mismo tiempo, se ha demostrado que el efecto de la interacción entre factores genéticos y ambientales es mayor que el de estos dos componentes al actuar de manera separada.

Por lo anteriormente expuesto, es de vital importancia establecer lineamientos para la definición e identificación temprana de los factores de riesgo considerados como cardiometabólicos en sus etapas iniciales e imperceptibles para los individuos que lo padezcan, para lograr una intervención precoz que permitan la prevención de su progresión y la aparición de las posteriores complicaciones en el estado de salud del individuo. Por otro lado, los factores genéticos son importantes en el comportamiento de la grasa corporal en respuesta a alteraciones crónicas en el balance energético y una variedad de genes que regulan el metabolismo en los adipocitos pueden predisponer al sujeto al desarrollo de la obesidad, el cual es uno de los componentes del SM (40).

En este estudio se evidencia una elevada frecuencia del genotipo Gly/Gly en los niños control, los niños con sobrepeso/obesidad sin RI y niños con sobrepeso/obesidad con RI, sin embargo, el genotipo Gly/Arg presenta una mayor frecuencia en los grupos de niños con sobrepeso/obesidad sin RI y niños con sobrepeso/obesidad con RI en comparación con el grupo de niños control, lo que apoya el papel que podría tener este genotipo en el desarrollo de obesidad. Se observa una total ausencia del genotipo Arg/Arg similar a los resultados obtenidos en otros estudios (41,42).

Los niños con sobrepeso/obesidad sin RI y los niños con sobrepeso/obesidad con RI que presentan el genotipo Gly/Arg tienen un OR elevado con significancia estadística, sugiriendo que la presencia de este genotipo confiere susceptibilidad al desarrollo de algún grado de obesidad y RI, mientras que la frecuencia del genotipo Gly/Gly está incrementada en niños sanos versus los niños con sobrepeso/obesidad sin RI y sobrepeso/obesidad con RI, sugiriendo que la presencia de este genotipo podría conferir protección contra el desarro-

llo de obesidad y RI.

Varios estudios han encontrado asociación entre el polimorfismo Gly/Arg con la DM2, resistencia a la insulina, obesidad y mal control glucémico. Huri y col. reportan en portadores del genotipo Gly/Arg un OR 4.48; IC 95 % [1.2-16.7] P = 0.03 para el desarrollo de RI y un OR 6.04; IC 95 % [0.6-64.6] P = 0.02 para un empeoramiento del control glucémico en pacientes con DM2 (43). Por otra parte, Martínez-Gómez encontraron en individuos mexicanos una asociación entre el polimorfismo Gly/Arg y la DM2 con un OR = 2.43, IC 95% CI [1.12-5.26] (44). En un estudio realizado por Alharbi y col encontraron un incremento en la frecuencia del polimorfismo Gly/Arg en mujeres con diabetes gestacional comparado con las que no presentaban diabetes (45).

Sin embargo existen investigaciones que han obtenido resultados distintos a los de este estudio, como el de Arikoglu y col que no observaron asociación entre el polimorfismo Gly/Arg con la RI y la DM2 en individuos turcos no obesos (46). Además Bodhini y col no encontraron diferencias en la distribución del polimorfismo Gly/Arg en individuos con tolerancia normal a la glucosa y con DM2 en la población india (47).

La insulina es una hormona clave para el comienzo de una gran variedad de actividades metabólicas mediante su unión al receptor de insulina y propia activación intrínseca de tirosinasa. Este evento lleva a la fosforilación de residuos de tirosina de una variedad de proteínas de anclaje dentro de las que se encuentran las proteínas del sustrato del receptor de insulina (IRS) (48).

El sustrato 1 del receptor de insulina (IRS) es el principal sustrato para el receptor de insulina y regula la señalización de la vía de la insulina a los largo del músculo esquelético, el tejido adiposo y vascular. El IRS-1 es a su vez fosforilado en sus múltiples residuos de tirosina, haciendo de él un promotor gen en potenciar la susceptibilidad a la resistencia de insulina de origen genético y DT2 (48).

La sustitución del Gly972Arg causa un deterioro de la asociación del IRS-1 con la actividad cinasa del fosfatidilinositol-3 (16). En uno de los estudios realizado por Marchetti y col. (41) se muestra que la sensibilidad de insulina (evaluada mediante la técnica de Clamp hiperinsulinémico) mostro una reducción significativa en los pacientes portadores de la variante Arg972 comparado con los pacientes del genotipo salvaje (Gly/Gly). Además portadores de este polimorfismo presentaban varios rasgos del SM, incluyendo niveles elevados de triglicéridos, ácidos grasos, relación colesterol total/HDL-c, y presión arterial. Estos resultados se encuentran en línea con estudios previos donde se informa la presencia de portadores con la variante Arg 972 con un IMC significativamente más alto, insulina en ayuna elevada, RI y triglicéridos en plasma elevado (15, 28,30).

La sustitución del aminoácido Arg en el codón 972 del IRS1 es el primero identificado que puede generar defectos en un solo gen involucrado en la señalización de insulina, produ-

ciendo resistencia de insulina periférica y daño en la secreción de insulina, dos de los componentes importantes en la patogénesis de la DM2 (15). En estudios realizados in vivo se ha informado sobre una asociación entre la variante Arg972 del IRS1 y resistencia a la insulina y la secreción reducida de insulina (16,17,49).

No se observaron diferencias significativas entre los individuos que presentan el genotipo Gly/Gly con respecto a los individuos que presentan el genotipo Gly/Arg en cuanto a los parámetros bioquímicos estudiados.

Los resultados obtenidos apoyan lo expuesto anteriormente, donde se observa que la expresión del polimorfismo Gly972Arg del gen IRS1 se encuentra en relación con la presencia de obesidad, aumentando el riesgo de la población estudiada a desarrollar enfermedades cardio-metabólicas como DM2, dislipidemias y aterosclerosis. Al ser la RI y la obesidad catalogados como uno de los principales factores desencadenantes del SM, predisponen a estos niños a desarrollar este síndrome en la edad adulta.

Los resultados obtenidos en este estudio, pueden asociar el polimorfismo Gly972Arg del gen IRS1 con la obesidad que es un factor de riesgo cardiometaabólico que se presenta en el SM, el cual es considerado como marcador de riesgo en el desarrollo de la DM2 y las enfermedades cardiovasculares. Por lo tanto la presencia de este polimorfismo facilita la identificación temprana de un marcador genético asociado a la susceptibilidad a desarrollar SM, por lo que se deben tomar medidas preventivas en estos niños para evitar el desarrollo de estas patologías y sus consecuencias, entre las que podemos citar los cambios en el estilo de vida (dieta baja en carbohidratos y grasas, realizar ejercicio, entre otras).

## CONCLUSIONES

Este es el primer estudio en niños en el que se encuentra una asociación entre la presencia del genotipo Gly/Arg del gen IRS1 con la obesidad en niños pre-púberes y donde se encuentra que el genotipo Gly/Arg del gen IRS1 confiere a los niños que lo portan 4 veces más riesgo a desarrollar obesidad que los niños con el genotipo Gly/Gly.

## AGRADECIMIENTOS

El proyecto fue financiado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH) Proyecto de Grupo N° 09-00-8202-2011/1 y por la Coordinación de Investigación de la Facultad de Medicina. Agradecemos a Grupo Evo-Lab C.A, a los padres o representantes de los niños incluidos en el estudio y al Hospital de Niños "J.M. de los Ríos".

## REFERENCIAS

1. World Health Organization. Non communicable diseases: a major health challenge of the 21 st century. In: World Health Statistics 2012. Geneva 2012, pp.34-37. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/> [consultado en: abril 2014].
2. Instituto Nacional de Nutrición. Sistema de Vigilancia

- Alimentaria y Nutricional, SISVAN Informe Preliminar. Departamento de Vigilancia Epidemiológica. Caracas 2007.
3. Macías de Tomei C. Obesidad. Problema de salud pública. Procedente del Seminario Obesidad y Estilo de Vida, ILSI Nor-Andino. Capítulo Venezuela. Caracas 2003.
4. Castillo C, Le Roy C, Osorio J. Obesidad y síndrome metabólico en niños y adolescentes. *Rev Med Clín Conde* 2012; 23(2):160-164.
5. Villalobos J, Hernández W, Maulino N, Gáffaro de Valera L, García de Blanco M, Merino G, et al. Diabetes tipo 2 en niños y adolescentes. experiencia de la unidad de Diabetes del Hospital de Niños J.M. de los Ríos. *Rev Venez Endocrinol Metab* 2004;2:18-23.
6. Paoli de Valery M, Pereira A. Síndrome metabólico en el niño y adolescente. *Rev Venez Endocrinol Metab* 2006; 4(1):1-3.
7. Quijada Z, Paoli M, Zerpa Y, Camacho N, Cichetti R, Villarreal V, et al. The triglyceride/HDL-cholesterol ratio as a marker of cardiovascular risk in obese children; Association with traditional and emergent risk factors. *Pediatr Diabetes* 2008; 9(5):464-471.
8. Macías-Tomei C, Maulino N, L. Machado. Obesidad y Síndrome Metabólico. En: L. Machado, I. Espinoza, R. Santiago (eds.). *Nutrición Pediátrica*. Sociedad Venezolana de Puericultura y Pediatría. Editorial Panamericana. 2009, pp. 241-272.
9. Machado L, Macías-Tomei C, Mejías A, Sparano A, Arias Gómez A. Consulta de detección temprana de factores de riesgo cardiometaabólico en pediatría. *Arch Venez Puer Ped* 2013; 76(2):79-84.
10. Pires M, Navas A, Lanzilli P. Síndrome metabólico: Prevalencia y factores de riesgo en escolares. *Arch Venez Puer Ped* 2009;72(2):47-52.
11. Maulino N, Macías-Tomei C, García de Blanco M, Malagola I, Mejías A, Machado de Ponte L et al. Consenso sobre Síndrome metabólico en niños y adolescentes. *Arch Venez Puer Ped* 2009; 72(2):73-77.
12. Stephens JW, Humphries SE. The molecular genetics of cardiovascular disease: clinical implications. *J Inter Medic* 2003; 253:120-127.
13. Dahlman I, Arner P. Obesity and polymorphisms in genes regulating human adipose tissue. *Int J Obes* 2007; 31(11):1629-1641.
14. Boura-Halfon S, Zick Y. Phosphorylation of IRS proteins, insulin action, and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 296(4):581-591.
15. Porzio O, Federici M, Hribal ML. The Gly972Arg amino acid polymorphism in IRS 1 impairs insulin secretion in pancreatic beta cells. *J Clin Invest* 1999; 104:357-364.
16. Almind K, Inone G, Pedersen O, Kahn CR. A common amino acid polymorphism in insulin receptor substrate-1 causes impaired insulin signalling. *J Clin Invest* 1996;11: 2569-2575.
17. Stumvoll M, Fritsche A, Volk A. The Gly972Arg polymorphism in the insulin receptor substrate-1 gene contributes to variation in insulin secretion in normal glucose tolerant humans. *Diabetes* 2001; 50(Suppl. 1):882-885.
18. Izaguirre de Espinoza I, López de Blanco M. Evaluación del crecimiento y la maduración física. En: L. Machado, I. Espinoza, R. Santiago (eds.). *Nutrición Pediátrica*. Sociedad Venezolana de Puericultura y Pediatría. 1ª.ed. Editorial Médica Panamericana. Caracas 2009, pp. 3-40.
19. Tresaco B, Bueno G, Pineda I, Moreno L, Garagorri J, Bueno M. Homeostatic model assessment (HOMA) index cut-off values to identify the metabolic syndrome in children *J Physiol Biochem* 2005; 61(Suppl. 1):381-388.
20. Cusminsky M, Lejarraga H, Mercer R, Martell M., Fescina R.

- Evaluación del Crecimiento del Niño. En: Manual de Crecimiento y Desarrollo del niño. Organización Panamericana de Salud. Washington DC 1993:23-52.
21. Espinoza I. Guía práctica para la evaluación antropométrica del crecimiento, maduración y estado nutricional del niño y el adolescente. Evaluación del Crecimiento. Arch Ven Puer Ped 2004; 67(Suppl. 1):S3-S52.
  22. Soto I, Figueroa O, López A, Nuñez L, Vera L. Crecimiento, Desarrollo y Nutrición. Manual de pautas de diagnóstico y tratamiento Hospital de Niños "J. M. de los Ríos". Bol Hosp Niños 2006; 42(1):25.
  23. Méndez H, de Méndez M. Estratificación Social y Biología Humana. Método Graffar modificado para Venezuela. Arch Ven Puer Ped 1986; 49(4):93-104.
  24. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 2005; 28:S37-S42.
  25. Fundacredesa. Bioquímica. En: H. Méndez Castellano (editor). Estudio Nacional de Crecimiento y Desarrollo Humanos de la República de Venezuela. Proyecto Venezuela. Tomo III. Ministerio de la Secretaría. Caracas 1996, pp.1226-1273.
  26. National Institutes of Health, National Heart Lung and Blood Institute. National Cholesterol Education Program. Report of the Expert Panel on Blood Cholesterol Levels in Children and Adolescents. NIH Pub 91-2732 Bethesda, MD 1991, pp. 7-22.
  27. Welsh KI, Bunce M. Molecular Typing for the MHC with PCR-SSP. Rev Immunogenetics 1999; 1: 157-176.
  28. Almind K, Bjorbaek C, Vestergaard H, Hansen T, Echwald S, Pedersen O. Aminoacid polymorphisms of insulin receptor substrate-1 in non-insulin-dependent diabetes mellitus. Lancet 1993;342:828-832
  29. Baroni MG, D'Andrea MP, Montali A, Pannitteri G, Barillá F, Campagna F, et al. A Common Mutation of the Insulin Receptor Substrate-1 Gene Is A Risk Factor for Coronary Artery Disease. Arterioscler Throm Vasc Biol 1999; 19:2975-2980.
  30. Burguette-García AI, Cruz-López M, Madrid-Marina V, López-Ridaura R, Hernández-Ávila M, Cortina B, et al. Association of Gly972Arg polymorphism of IRS1 gene with type 2 diabetes mellitus in lean participants of national health survey in Mexico: candidate gene study. Met Clin Exp 2010; 59:38-45.
  31. Steinberger J, Moran A, Hong CP, Jacobs DR, Sinaiko AR. Adiposity in childhood predicts obesity and insulin resistance in young adults. J Pediatr 2001; 138:469-473.
  32. Kwiterovich P. Recognition and management of dyslipidemia in children and adolescents. J Clin Endocrinol Metab 2008; 93:4200-4209.
  33. Acosta A, García M, Pereira Y, Vargas M, Vásquez O. Prevalencia de síndrome metabólico en adolescentes de 12 a 18 años de una población rural del estado Falcón Venezuela. X Congreso Venezolano de Endocrinología y Metabolismo – V Curso Panamericano de Obesidad. Margarita, Venezuela 2006. Disponible en: [www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/29172/1/trabajos\\_libre.pdf](http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/29172/1/trabajos_libre.pdf) [consultado en: marzo 2014].
  34. Lozada M, Machado S, Manrique M, Martínez D, Suárez O, Guevara H. Factores de Riesgo asociados al Síndrome Metabólico en adolescentes. Gac Med Caracas 2008; 116(4):323-329.
  35. Marcano M, Solano L, Pontiles M. Prevalencia de hiperlipidemia e hiperglicemia en niños obesos. Riesgo aumentado de enfermedad cardiovascular? Nutr Hosp 2006;21:474-483
  36. Kelley DE, Williams KV, Price JC, Mc Kolanis TM, Goodpaster BH, Thaete FL. Plasma fatty acids, adiposity and variance of skeletal muscle insulin resistance in diabetes type 2. JCEM 2001; 86:5412-5419.
  37. Burrows R, Weistaub G, Ceballos Z, Gattas V, Leiva L, Lera L, et al. Síndrome metabólico en niños y adolescentes: asociación con sensibilidad insulínica y con magnitud y distribución de la obesidad. Rev Méd Chile 2007; 135:174-181.
  38. Caballero EA. Endothelial dysfunction in obesity and insulin resistance: a road to diabetes and heart disease. Obesity Res 2003; 11:1278-1289.
  39. Cruz ML, Weigensberg MJ, Huang TTK, Ball G, Shaibi GQ, Goran MI. The metabolic syndrome in overweight hispanic youth and the role of insulin sensitivity. JCEM 2004; 89:108-113.
  40. Machado-Ponte L, Mejías A. Dislipidemia en el niño, niña y adolescente. En: L. Machado-Ponte, I. Izaguirre-Espinoza, R. Santiago (eds). Nutrición Pediátrica. Editorial Médica Panamericana, C.A. Caracas 2009, pp. 273-300
  41. Marchetti P, Lupi R, Federici M, Marselli L, Masini M, Boggi U, et al. Genetic studies polymorphisms in ten non-insulin-dependent diabetes mellitus candidate genes in Tamil Indians from Pondichery. Diabetes Metab 2002; 24:244-250.
  42. Sweeney C, Murtaugh MA, Baumgartner K, Byers T, Giuliano AR, Herrick JS, et al. Insulin-Like Growth Factor Pathway Polymorphisms Associated with Body Size in Hispanic and Non-Hispanic White Women. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2005; 14(7):1802-1809.
  43. Zaman H, Makmor-Bakry M, Hashim R, Mustafa N, Wan Ngah W. Optimisation of glycaemic control during episodes of severe/acute hyperglycaemia in patients with type 2 diabetes mellitus. Int J Clin Pharm 2012; 34:863-870.
  44. Martínez-Gómez L, Cruz M, Martínez-Nava G, Madrid-Marina V, Parra E, García-Mena J, et al. A replication study of the IRS1, CAPN10, TCF7L2, and PPARG gene polymorphisms associated with type 2 diabetes in two different populations of Mexico. Ann Hum Genet 2011; 75(5):612-20.
  45. Alharbi K, Khan I, Abotalib Z, Al-Hakeem M. Insulin Receptor Substrate-1 (IRS-1) Gly927Arg: Correlation with Gestational Diabetes Mellitus in Saudi Women. Biomed Res Int 2014; 146495. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3948357/> [consultado en: febrero 2015].
  46. Arikoglu H, Aksoy M, Erkok D, Asik A, Ipekci S, Iscioglu F. IRS1 gene polymorphisms Gly972Arg and Ala513Pro are not associated with insulin resistance and type 2 diabetes risk in non-obese Turkish population. Meta Gene 2014;2:579-585.
  47. Bodhini D, Radha V, Mohan V. Association study of IRS1 gene polymorphisms with type 2 diabetes in south Indians. Diabetes Technol Ther 2011; 13(7):767-772.
  48. McGettrick AJ, Feener EP, Kahn CR. Human insulin receptor substrate-1 (IRS-1) polymorphism G972R causes IRS-1 to associate with the insulin receptor and inhibit receptor autophosphorylation. J Biol Chem 2005; 280:6441-6446.
  49. Reyes A. Estudio de la prevalencia del SNP Arg972 del gen Sustrat-1 del receptor de insulina (IRS-1) en una muestra de pacientes diabéticos. Genética Humana. IIBCE 2010. Disponible en: <http://www.bib.fcien.edu.uy/files/etd/biol/uy24-14446.pdf>. [consultado en: abril 2014].