

## POLIMORFISMOS DEL GEN DE APOLIPOPROTEÍNA E Y POLIMORFISMO Pro12Ala DEL GEN PPAR $\gamma$ -2 EN NIÑOS PRE-PUBERES CON FACTORES DE RIESGO CARDIOMETABÓLICOS

María Fátima Garcés(1), Cristina Najm(2), Daniela Figueroa(2), Ana López(3),  
Jorge De Abreu(4), Elizabeth Dini(4), Joseba Celaya(5), Mercedes Cerviño(1),  
Hilda Stekman(1)

Recibido: 08/08/12  
Aceptado: 28/09/12

### RESUMEN

**Introducción:** La resistencia a la insulina es muy frecuente en niños y adolescentes obesos, la cual conlleva a un significativo riesgo de desarrollar enfermedades cardiometabólicas causadas por la combinación de factores genéticos y factores asociados al estilo de vida. **Objetivo:** Evaluar la relación entre los polimorfismos del gen ApoE y el polimorfismo Pro12Ala del gen PPAR $\gamma$ 2 en niños pre-púberes con factores de riesgo cardiometabólicos. **Población y Métodos:** Se evaluaron 141 niños (CANIA y Hospital "JM de los Ríos"), de los cuales 46 tienen obesidad, 33 hipercolesterolemia, 30 resistentes a la insulina (RI) y 32 controles. Se determinó colesterol total y fracciones, triglicéridos, glucosa, insulina e índice HOMA; se realizó extracción de ADN y análisis de los polimorfismos. **Resultados:** La distribución de la frecuencia del alelo  $\epsilon$ 4 del gen de ApoE fue: 10,9% obesos, 7,6% hipercolesterolémicos, 18,3% RI y 4,6% controles. La frecuencia del polimorfismo Pro12Ala fue de 6,4% en la población estudiada. En los niños obesos e hipercolesterolémicos se observó aumento de colesterol total, LDL-c y triglicéridos asociados con la presencia del  $\epsilon$ 4; en el grupo con RI, se encontró que existen diferencias estadísticamente significativas entre el alelo  $\epsilon$ 4 con respecto al grupo control, lo que refiere que puede haber una relación clínica importante entre la presencia del alelo y el desarrollo de la enfermedad. No se encontró relación entre el polimorfismo Pro12Ala del gen PPAR $\gamma$ 2 con factores de riesgo cardiometabólico. **Conclusiones:** La presencia de varios polimorfismos en un mismo individuo podría estar asociada a factores de riesgo para enfermedad cardiometabólica.

**Palabras clave:** Obesidad, hipercolesterolemia, resistencia a la insulina, Apolipoproteína E, PPAR $\gamma$ 2, factores de riesgo cardiometabólicos.

### Apolipoprotein E gene polymorphisms and Pro12Ala polymorphism of PPAR $\gamma$ -2 gene in children with risk factors to cardiometabolic disease

### SUMMARY

**Introduction:** Insulin resistance (IR) is very frequent in children and adolescents obeses, which could contribute significantly in the development of cardiometabolic diseases, this could be associated to a combination of genetics factors and life's style. **Aim:** To evaluate the relationship between ApoE gene polymorphisms and PPAR $\gamma$ 2 gene Pro12Ala polymorphisms with risk factors to cardiometabolic disease in children. **Population and Materials:** 141 children (CANIA and Hospital "JM de los Ríos"), 46 with obesity, 33 with hypercholesterolemia, 30 with IR and 32 normal subjects. Total cholesterol and fractions, glucose, insulin and triglycerides were measured; also it was determined the polymorphism genes on each patient. **Results:** The distribution of the frequency of the allele E4 of the ApoE gene were: 10,9% obese, 7,6% hypercholesterolemia, 18,3% IR and 4,6% on normal subjects. The frequency of Pro12Ala polymorphism were up to 6,4% on the total subjects in the study. In the obese and hypercholesterolemia groups we found an increase of the total cholesterol, LDL-c and triglycerides, associated with the presence of allele  $\epsilon$ 4. In children with IR we got a significant difference of the presence of allele  $\epsilon$ 4 compared with the control group, which means that this allele could be related with the development of the disease. It was not found a relation between the Pro12Ala of PPAR $\gamma$ 2 gene and the development of obesity, hypercholesterolemia and insulin resistance in children. **Conclusions:** The presence of several polymorphisms in a same individual could be associated with risk factors to cardiometabolic disease.

**Key words:** Obesity, hypercholesterolemia, insulin resistance, Apolipoprotein E, PPAR $\gamma$ 2, cardiometabolic risk factors

## INTRODUCCIÓN

La obesidad es la enfermedad metabólica más difundida en el mundo; su prevalencia ha aumentado en forma dramática en las últimas dos décadas, tanto en los países desarrollados como en los no desarrollados (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 (Fundacredesa), en la década anterior informaron un aumento en la tendencia en el exceso de adiposidad (Obesidad) 5% a 11% en escolares de 7 años (3).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera a

- 1.- Facultad de Medicina. Escuela de Bioanálisis, Laboratorio de Investigaciones Básicas y Aplicadas. Universidad Central de Venezuela, Caracas.
- 2.- Licenciada en Bioanálisis. Hospital de Niños JM de los Ríos
- 3.- Médico Pediatra. Hospital de Niños "JM de los Ríos"
- 4.- Centro de Atención Nutricional Infantil Antimano (CANIA).
- 5.- Facultad de Medicina. Escuela Luis Razetti. Cátedra de Anatomía Patológica. Universidad Central de Venezuela, Caracas.

Autor corresponsal: Dra. María Fatima Garcés Da Silva  
Teléfono 0212-6053308 / 0414-1363868 FAX 0212-6053312  
mariafatimagarcés@hotmail.com

la obesidad infantil como una enfermedad crónica. La importancia de la obesidad infantil radica en que es un factor de riesgo en la edad adulta para el mantenimiento de la obesidad y para desarrollar enfermedades crónicas no transmisibles como hipertensión arterial, diabetes tipo 2, aterosclerosis, coronariopatía, entre otras, que trae como consecuencia morbilidad, días de trabajo perdidos, invalidez, costos en salud elevados para la sociedad y disminución de la calidad de vida. En los niños, la obesidad desencadena múltiples alteraciones: hiperlipidemia, aumento de gasto cardíaco, hígado graso, resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, hiperinsulinismo, problemas ortopédicos, colestiasis e hipertensión arterial (4,5). Estas enfermedades constituyen las primeras causas de muerte en la población adulta Venezolana. Estudios longitudinales demuestran que los trastornos metabólicos (dislipidemia y resistencia insulínica) que acompañan al sobrepeso del niño, preceden a estas enfermedades (6,7).

La prevalencia y magnitud de los trastornos metabólicos asociados al sobrepeso, se correlacionan directamente con el mayor desarrollo del tejido graso. En población infantil, se ha determinado que alrededor del 30% de grasa corporal sería un punto de corte crítico para el riesgo de presentar hipercolesterolemia, valores elevados de presión arterial e hiperinsulinismo, factores que conforman el síndrome metabólico (8,9).

El transporte de lípidos a través de las lipoproteínas representa el principal mecanismo que regula la concentración plasmática de colesterol, por lo cual su deterioro conduce a hipercolesterolemia y/u obesidad, los cuales son factores predisponentes del desarrollo prematuro de enfermedades cardiovasculares y síndrome metabólico (10).

La concentración de lípidos plasmáticos depende no sólo de la ingesta alimentaria, sino también de la síntesis y metabolismo de las lipoproteínas, que a su vez están condicionadas por la actividad de diversos productos del metabolismo (genéticos). Dada la importancia y la gran diversidad de proteínas que participan en el transporte y metabolismo de lípidos, es de esperar que cualquier defecto en los genes codificantes y/o reguladores para estas proteínas, constituyan condicionantes genéticos que predisponen la aparición de dislipidemias bien definidas (10) y en consecuencia, al desarrollo de enfermedades como la obesidad, hipercolesterolemia y síndrome metabólico.

Debido a la heterogeneidad genética que intervienen tanto en las vías metabólicas glucídicas como lipídicas se seleccionaron genes tales como, el gen de Apolipoproteína E (Apo E) y el gen del Receptor Activado por Proliferadores de Peroxisomas gamma (PPAR $\gamma$ ), los cuales cumplen papeles importantes en la homeostasis de estas vías y se han identificado diversos polimorfismos asociados a manifestaciones fenotípicas desde el punto de vista bioquímico y clínico.

La apoproteína E (ApoE) es un componente principal de los quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y algunas lipoproteínas de alta densidad (HDL). Su

función principal es el de aclaramiento hepático de quilomicrones y VLDL, mediante su papel de ligando de los receptores hepáticos y la regulación de la producción de VLDL, así como la lipólisis de las mismas por la lipoproteína lipasa (LPL) (11).

El gen codificante de APOE es un gen polimórfico con tres alelos codominantes, a saber: E2, E3 y E4 ( $\epsilon$ 2,  $\epsilon$ 3 y  $\epsilon$ 4), los cuales difieren por la sustitución de uno o dos codones para los residuos 112 y 158 (12,13). Estudios realizados en poblaciones caucásicas han demostrado que ApoE3 es la isoforma de la proteína más común, con una frecuencia de 77-81%; ApoE2, posee la frecuencia más baja (8-11%) mientras que ApoE4 se presenta en 12-15% (12).

El genotipo de la ApoE puede explicar un elevado porcentaje de la variabilidad en los niveles plasmáticos de colesterol total y LDL, sin embargo su influencia varía en diferentes poblaciones en función del contenido de grasas saturadas y colesterol en la dieta. En diferentes estudios en los cuales se toma como referencia el alelo  $\epsilon$ 3, si en el genotipo está presente el alelo  $\epsilon$ 2, se observan niveles más bajos de colesterol total y LDL-c, mientras que la presencia del alelo  $\epsilon$ 4 se asocia con niveles más elevados de colesterol y LDL-c (13-15).

En Venezuela, también se ha encontrado una asociación del alelo  $\epsilon$ 4 con niveles más elevados de colesterol y LDL-c con respecto al alelo  $\epsilon$ 3, mientras que el alelo  $\epsilon$ 2 muestra niveles parecidos de colesterol y LDL-c comparado con el alelo  $\epsilon$ 3 (16).

Por otra parte, los PPARs, son factores de transcripción activados por ligandos que pertenecen a la superfamilia de receptores nucleares. Los PPARs modifican la expresión de numerosos genes entre los que se encuentran los genes que regulan el metabolismo de los lípidos, la homeostasis de glucosa, el control del ciclo celular, la inflamación y la respuesta inmune (17,18).

Los genes PPAR $\gamma$  se han visto implicados en la mayoría de los aspectos de los desórdenes metabólicos, por tanto, la pérdida de la función de la actividad de los PPAR $\gamma$  en los humanos se asocia a una importante resistencia a la insulina, lipodistrofia, diabetes, dislipidemia, hipertensión e hígado graso con aumento pronunciado de los triglicéridos y disminución de HDL (19).

Variaciones en el gen PPAR $\gamma$  permiten la formación de 3 isoformas: PPAR $\gamma$ 1, PPAR $\gamma$ 2 y PPAR $\gamma$ 3 (19). Se ha sugerido que PPAR $\gamma$ 2 está asociado a los efectos adversos de dietas ricas en grasas sobre el metabolismo de los hidratos de carbono (20). Se han descrito varios polimorfismos en el gen del PPAR $\gamma$ 2, algunos de las cuales están asociados a diabetes, obesidad y dislipidemias (21-23). Estudios epidemiológicos han sugerido la existencia de una asociación entre el polimorfismo Pro12Ala en el exon B del receptor PPAR $\gamma$ 2, obesidad y otras alteraciones metabólicas relacionadas con el síndrome metabólico (24,25) sin embargo, los resultados no han sido siempre concordantes en las diversas poblaciones estudiadas.

En el presente estudio se evaluó la relación entre los polimorfismos del gen ApoE y el polimorfismo Pro12Ala del gen PPAR $\gamma$ 2 con la obesidad, hipercolesterolemia y resistencia a la insulina en niños con la finalidad ulterior de desarrollar estrategias efectivas de diagnóstico, prevención y mejora del estilo de vida en pacientes con predisposición genética al desarrollo de dichas enfermedades.

## MÉTODOS

El presente trabajo corresponde a un estudio clínico 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).

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 ambas instituciones y con el consentimiento informado de los padres o representantes de los niños del estudio.

La población en estudio estuvo conformada por 141 niños con edades comprendidas entre 2 y 12 años de edad pre-púberes, que acuden al servicio de nutrición del Centro de Atención Nutricional Infantil Antímamo (CANIA) y del Hospital de niños J.M. de los Ríos” entre Mayo 2010 - Junio 2011. Los pacientes fueron seleccionados en el triaje o en la consulta de obesidad (primera o sucesivas), tomándose para el estudio los valores de colesterol total, HDL-c, LDL-c, VLDL-c, triglicéridos, glicemia, insulina, obtenidos con la primera muestra de sangre realizada antes de cualquier intervención terapéutica. Estos valores se registraron junto con los valores antropométricos de la evaluación nutricional.

Según los parámetros antropométricos y bioquímicos los niños se clasificaron en: 46 niños con diagnóstico de sobrepeso y/u obesidad, 33 niños con diagnóstico de hipercolesterolemia, 30 niños con diagnóstico de resistencia a la insulina, y 32 niños no obesos, sin dislipidemias ni resistencia a la insulina (controles).

El criterio para establecer el diagnóstico de hipercolesterolemia fue determinado por el valor de colesterol en plasma mayor del percentil 90 según edad y género del Estudio Nacional de Crecimiento y Desarrollo Humanos, conocido también como Proyecto Venezuela (26).

La resistencia a la insulina se determinó a través del modelo de registro homeostático (HOMA), la fórmula utilizada para realizar su cálculo es la siguiente:

$$\text{HOMA}_{\text{IR}} = \text{Insulina (mU/L)} \times \text{Glicemia (mmol/L)} / 22,5$$

El diagnóstico resistencia a la insulina se les asignó a niños con un HOMA mayor a 3,0 (27)

*Criterios de inclusión:* Niños con obesidad o sobrepeso, con resistencia a la insulina y/o dislipidemias con maduración sexual Tanner I (pre-púberes): determinado por las ca-

racterísticas de glándula mamaria, vello axilar y pubiano en las niñas, y genitales, vello axilar y pubiano en los varones (28). *Criterios de exclusión:* Niños desnutridos, con infecciones agudas o crónicas, evidencia de inmunodeficiencia primaria o secundaria.

*Evaluación y diagnóstico nutricional antropométrico:* Todos los niños fueron pesados y tallados siguiendo las técnicas de antropometría del Programa Internacional de Biología (29). Para la evaluación antropométrica del déficit nutricional se consideraron los siguientes índices: peso/edad, peso/ talla y talla/ edad. La ubicación de estas variables se realizó en los gráficos correspondientes a las tablas de la OMS, adaptadas para Venezuela por el Instituto Nacional de Nutrición (INN) (30).

*Evaluación socioeconómica:* Se estimó la condición socio económica de las familias de procedencia de los niños empleando el método Graffar-Méndez Castellano (31).

*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 g 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).

*Genotipificación:* Se realizó extracción de ADN de las muestras por el método “salting out” 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) en un termociclador (Lab Cycler de Senso Quest, Alemania), utilizando para ApoE los primers: Forward: 5'-GCACGGCTGTCCAAGGAGCTGCAGGC-3' y Reverse: 5'-GGCGCTCGCGGATGGCGCTGAG-3' que abarcan una región de 273 pares de bases en el exón b del gen de ApoE que incluye los dos sitios polimórficos del gen. Las condiciones de la amplificación fueron: desnaturalización inicial a 94°C durante 5 minutos seguida de 40 ciclos compuestos por desnaturalización de 1 min a 94°C, hibridación por 30 seg a 65°C y una fase de extensión de 2 min a 72°C, seguidos de una extensión final de 10 min a 72°C. Los polimorfismos fueron detectados a través de una RFLP (polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción), utilizando la enzima de restricción HhaI para la digestión. Las muestras digeridas fueron separadas por electroforesis en gel de polia-

crilamida y visualizadas por tinción con nitrato de plata y visualizadas en un sistema de fotodocumentación digital, equipo Uvitec (Gel Documentation Uvitec Limited, USA). Para PPAR $\gamma$  se realizó PCR con los primers: Forward: 5'-TCTGGGAGATTCTCCTATTGGC-3'. Reverse: 5'-CCCAATAGCCGTATCTGGAAGG-3', obteniéndose un amplificado de 102 pares de bases que incluye el sitio polimórfico del gen. Las condiciones de la amplificación fueron: desnaturalización inicial a 94°C durante 10 minutos seguida de 35 ciclos compuestos por desnaturalización de 30 seg a 94°C, hibridación por 30 seg a 52°C y una fase de extensión de 30 seg a 72°C, seguidos de una extensión final de 10 min a 72°C. El primer forward contiene un nucleótido no compatible, el cual hace posible el uso de la enzima de restricción HhaI para la detección del polimorfismo Pro12Ala.

#### Análisis Estadístico

Los resultados se expresaron como la media ( $\bar{X}$ ) más o menos una desviación estándar ( $\bar{X} \pm DS$ ), se utilizó el programa Excel 2007 (Copyright Microsoft Office, Washington, USA) para estadística descriptiva. Las comparaciones entre variables se hicieron empleando la prueba ANOVA, se considera 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 alelo de ApoE y PPAR $\gamma$  por Chi2 y Odds ratio (OR). Para determinar las relaciones entre alelos de los dos genes estudiados y la enfermedad también se realizaron pruebas de ANOVA, evaluando la asociación entre las variables del estudio y los alelos de los genes ya mencionados. Se consideró como significativo un  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

Las características fenotípicas de los niños en estudio se presentan en el Cuadro 1, se puede apreciar que existe diferencia significativa entre los valores de glucosa e insulina de cada uno de los grupos estudiados con respecto al grupo de eutróficos. Existe diferencia significativa entre los valores de colesterol, triglicéridos, LDL-c y VLDL-c de cada uno de los grupos estudiados con respecto al grupo control, mientras que en los valores de HDL-c no existe diferencia significativa.

Con respecto a los niveles de insulina se observa una diferencia estadísticamente significativa en los tres grupos en estudio con respecto al grupo control; sin embargo, estos valores se encuentran en el rango de referencia para los grupos de

niños obesos e hipercolesterolémicos. El grupo de niños con resistencia a la insulina tenía un amplio rango: 14 mU/L hasta 68 mU/L.

En este estudio no se encontró diferencia significativa entre la distribución de los diferentes genotipos de ApoE del grupo de obesos e hipercolesterolémicos con respecto al grupo control, sin embargo, se obtuvo un OR de susceptibilidad para el polimorfismo  $\epsilon 3/\epsilon 4$ .

En cuanto a los niños con resistencia a la insulina no hubo diferencia significativa entre la distribución de los genotipos de Apo E  $\epsilon 2/\epsilon 3$  y  $\epsilon 3/\epsilon 3$  del grupo de resistencia a la insulina con respecto al grupo control, al contrario del genotipo  $\epsilon 3/\epsilon 4$  donde hubo diferencia significativa entre los grupos (Cuadro2).

Se obtuvo un OR igual a 5,6 con un IC 95%= 1,2 – 29,5 para los niños con resistencia a la insulina, por lo cual se puede decir que tienen riesgo de padecer la enfermedad los portadores del genotipo  $\epsilon 3/\epsilon 4$

En el Cuadro 3 se puede observar la frecuencia alélica del gen del ApoE en los grupos estudiados. En el grupo de niños con hipercolesterolemia y obesidad no hubo diferencia significativa entre la presencia del alelo  $\epsilon 4$  con respecto al grupo control. Con respecto al grupo de niños con RI, se encontró

Cuadro 1. Características fenotípicas de los niños en estudio

Rasgos fenotípicos	Obesidad	Hipercolesterolemia	Resistencia a la Insulina	Control
Sexo (M/F)	24/22	13/20	14/16	15/17
Edad (años)	8,6 $\pm$ 2,1	9,1 $\pm$ 2,3	9,9 $\pm$ 3,0	8,7 $\pm$ 2,2
Glucosa (mg/dL)	84 $\pm$ 6*	82 $\pm$ 9*	94 $\pm$ 11*	73 $\pm$ 11
Insulina (mU/L)	6,4 $\pm$ 2,3*	8,0 $\pm$ 3,4*	23,7 $\pm$ 16,8*	4,4 $\pm$ 1,2
Colesterol (mg/dL)	158 $\pm$ 28*	209 $\pm$ 21*	169 $\pm$ 32*	128 $\pm$ 28
Triglicéridos (mg/dL)	99 $\pm$ 47*	96 $\pm$ 41*	103 $\pm$ 55*	58 $\pm$ 34
LDL-c (mg/dL)	98 $\pm$ 25*	130 $\pm$ 21*	107 $\pm$ 32*	79 $\pm$ 15
VLDL-c (mg/dL)	20 $\pm$ 9*	18 $\pm$ 7*	20 $\pm$ 8*	11 $\pm$ 6
HDL-c (mg/dL)	41 $\pm$ 9	44 $\pm$ 10	43 $\pm$ 10	41 $\pm$ 7

Las variables son presentadas como la media  $\pm$  DS

\* $p < 0,05$  con respecto al grupo control

Cuadro 2. Comparación de los diferentes genotipos de APOE en niños con resistencia a la insulina con respecto al grupo control.

Genotipo Apo E	Resistencia a la Insulina % (n=30)	Control % (n=32)	OR (IC 95%)	p-valor
e2/e3	3,3 (1)	15,6 (5)	0,2 (0,0–1,8)	NS
e3/e3	73,9 (18)	75,0 (24)	0,5 (0,1-1,7)	NS
e3/e4	36,7 (11)	9,4 (3)	5,6 (1,2-29,5)	0,023

Cuadro 3. Frecuencia de los alelos de ApoE en los grupos estudiados

Grupo	Obesidad	Hipercolesterolemia	Resistencia a la Insulina	Control
$\epsilon 2$	0,032	0,045	0,017	0,079
$\epsilon 3$	0,859	0,879	0,800	0,875
$\epsilon 4$	0,109	0,076	0,183	0,046

que existen diferencias estadísticamente significativas entre los portadores del alelo  $\epsilon 4$  de este grupo con respecto al grupo control.

En cuanto al gen de PPAR $\gamma 2$ , no se encontró diferencia significativa entre la distribución de los alelos en ninguno de los grupos en estudio con respecto al grupo control. Se obtuvo un OR de la presencia del alelo Ala vs la ausencia del alelo Ala igual a 0,4 con un IC 95% = 0,1 – 2,3 para los obesos, por lo cual se puede decir que los niños de este grupo que portan el polimorfismo Pro12Ala no poseen riesgo de padecer la enfermedad. Por su parte, para los niños hipercolesterolémicos se obtuvo un OR de la presencia del alelo Ala vs la ausencia del alelo Ala igual a 1,3 con un IC 95% = 0,3 – 6,5, lo que significa que los niños hipercolesterolémicos con el polimorfismo Pro12Ala el riesgo a padecer la enfermedad es 1,3 veces mayor que el grupo control, sin embargo, el riesgo no es significativo. No se encontró ningún individuo en el grupo de resistentes a la insulina que posea el genotipo Pro12Ala.

El Cuadro 4 resume la frecuencia de los alelos del gen de PPAR $\gamma 2$  en los niños en estudio. No se encontraron diferencias significativas en la frecuencia alélica de los grupos estudiados. No se encontró relación entre este polimorfismo y obesidad, hipercolesterolemia o resistencia a la insulina en niños en Caracas.

Cuadro 4. Frecuencia de los alelos de PPAR $\gamma 2$  en los grupos estudiados

	Obesidad	Hipercolesterolemia	Resistencia a la Insulina	Control	Todos
Alelo Pro	0,98	0,93	1	0,95	0,96
Alelo Ala	0,02	0,07	0	0,05	0,04

## DISCUSIÓN

La obesidad es un factor de riesgo crítico para el desarrollo de resistencia a la insulina y la grasa corporal total es importante en la desarrollo de resistencia a la insulina en los niños (32-34). El índice HOMA, es uno de los indicadores más importantes empleados para la determinación de la resistencia a la insulina en los individuos obesos. Numerosos estudios han establecidos diferentes puntos de corte para el índice HOMA en niños pre-púberes y niños púberes (27,32,35-37).

Anteriormente se pensaba que la diabetes tipo 2 se desarrollaba en los adultos de edad avanzada; sin embargo, actualmente se sabe que también ocurre en niños con obesidad. La obesidad infantil es un factor de riesgo en la edad adulta para el mantenimiento de la obesidad y para desarrollar enfermedades crónicas no transmisibles como, síndrome metabólico (SM), diabetes tipo 2, aterosclerosis, coronariopatía, entre otras (34).

El SM se puede definir como el conjunto de problemas de salud causados por la combinación de factores genéticos y factores asociados al estilo de vida, especialmente la sobre-

alimentación y la ausencia de actividad física; en donde, el exceso de grasa corporal (abdominal) y la inactividad, favorecen el establecimiento de la resistencia a la insulina, estando algunos individuos predispuestos genéticamente a padecerla (38-40).

El SM comprende una asociación de signos y síntomas como: obesidad, hipertensión arterial, hipertrigliceridemia, disminución del HDL-c e intolerancia a la glucosa en ayunas (41,42,43,44). Sin embargo, aún existen controversias en cuanto a los criterios diagnósticos y a los valores límite para su clasificación (puntos de corte) (43,44). En adultos la prevalencia de este síndrome se ha establecido en un 35% mientras que en niños y adolescentes se ha encontrado hasta un 17% que reúnen criterios de síndrome metabólico (41,45).

Existen evidencias sustanciales acerca de que el SM tiene su origen en la infancia; sin embargo, la Federación Internacional de Diabetes (IDF), indica que no se debe diagnosticar SM en niños y niñas pre-púberes menores de 10 años aun cuando presenten obesidad central (46-48), por lo que se habla de susceptibilidad a desarrollar SM en población pediátrica.

Varias investigaciones sobre estudios de familia y poblacionales muestran que el SM está influenciado por un fuerte componente genético, con una gran variabilidad entre diferentes grupos étnicos. De hecho, se ha demostrado que el 45% de los familiares de primer grado de pacientes con diabetes tipo 2, incluso con niveles de glucosa normales, presentan RI (46-48). Dicha predisposición genética está modulada por factores ambientales relacionados

con los hábitos de vida como: la dieta rica en calorías y grasas saturadas y pobres en fibras, sedentarismo, consumo excesivo de alcohol y tabaquismo. Se ha demostrado que el efecto de la interacción entre factores genéticos y ambientales es mayor que el de estos dos componentes por separado (49,50).

Por lo anteriormente expuesto es de vital importancia establecer lineamientos para la definición e identificación temprana de los factores de riesgo cardiometabólicos en sus etapas incipientes, para la intervención precoz que permita la prevención de su progresión y la aparición de complicaciones (43,47).

El polimorfismo de la ApoE es un factor determinante genético de los niveles de colesterol total y colesterol en las lipoproteínas de baja densidad (LDL-c) en plasma y, por lo tanto, un factor determinante de las enfermedades cardiovasculares (52,53); siendo el alelo  $\epsilon 4$  el que se asocia con niveles elevados de colesterol y LDL-c.

En el estudio se obtuvo que en el grupo de niños con hipercolesterolemia no hubo diferencia significativa de la presencia del alelo  $\epsilon 4$  con respecto al grupo control; sin embargo, se observa que en dicho grupo se pudiera presentar una susceptibilidad clínica al aumento de los valores de colesterol.

Al evaluar la influencia del genotipo de ApoE en el grupo de niños obesos, se encontró que no existe diferencia significativa de la presencia del alelo  $\epsilon 4$  con respecto al grupo control; sin embargo, al igual que en el grupo de hipercolesterolémicos, se observó que los individuos presentan susceptibilidad clínica al desarrollo de la patología.

Con respecto al grupo de niños con RI, se encontró que existen diferencias estadísticamente significativas entre los portadores del alelo  $\epsilon 4$  de este grupo con respecto al grupo control, lo que refiere que puede haber una relación clínica importante entre la presencia del alelo y el desarrollo de la enfermedad, aunado a esto se encontró que no poseer el alelo puede representar un factor protector contra el desarrollo de la RI.

Así mismo, se observó que en los valores de colesterol para el grupo con RI hay diferencias estadísticamente significativas con respecto a los valores de colesterol del grupo control; lo que podría demostrar que estos niños poseen además un alto riesgo de desarrollar hipercolesterolemia.

Este aspecto es muy importante, debido a que el SM es una enfermedad multifactorial en la que existe una combinación entre factores genéticos y factores asociados al estilo de vida, por lo que si un individuo tiene una predisposición genética a desarrollar hipercolesterolemia y además tiene RI, ya presenta dos factores de riesgo cardiometabólicos asociados a SM.

Por otra parte, el hecho de que no exista un criterio uniforme para diagnosticar SM en niños, hace necesario el estudio de marcadores genéticos de riesgo para desarrollar los componentes de esta entidad clínica que puedan servir como genes predictivos para el padecimiento de esta enfermedad; con la finalidad de desarrollar las estrategias necesarias para disminuir el riesgo de progresión y aparición de consecuencias en estos niños, ya sea cambiando sus hábitos alimentarios o estilo de vida.

Individuos con al menos un alelo  $\epsilon 2$  tienden a presentar valores más bajos de colesterol y LDL-c en comparación con los alelos  $\epsilon 3$  y  $\epsilon 4$ . Por tanto este alelo ha sido considerado con protector contra la enfermedad cardiovascular, y promotor de la longevidad (54).

En este estudio se observó que los niños con el genotipo  $\epsilon 2/\epsilon 2$  y  $\epsilon 2/\epsilon 3$  presentaron niveles de colesterol más bajos que los niños con los genotipos  $\epsilon 3/\epsilon 3$  genotipos  $\epsilon 4/\epsilon 4$  y  $\epsilon 3/\epsilon 4$  aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa (datos no mostrados). Por lo cual se infiere que hay una influencia de los polimorfismos en los valores de colesterol. Si se aumenta el tamaño de la muestra y se mantienen las tendencias aquí descritas, es probable que estas diferencias se hagan significativas. Es de hacer notar que el comportamiento del HDL-c es diferente; no muestra una tendencia clara en relación al genotipo de ApoE. Este comportamiento ya se había reportado en un trabajo anterior realizado en población infantil venezolana (55), lo que sugiere que posiblemente no hay relación directa entre el polimorfismo de la ApoE y los niveles de HDL-c en sangre.

Meigs y colaboradores reportaron en un grupo de 1916 individuos, que la media del HOMA-IR fue de 6,4 (rango 5,2–8,2), y la frecuencia alélica fue 7,8%, 79,9%, y 12,4% para los alelos  $\epsilon 2$ ,  $\epsilon 3$ , y  $\epsilon 4$ , respectivamente. En base a dichos resultados, la conclusión fue que no existe relación entre los polimorfismos de ApoE y la RI (56).

En una investigación realizada en una población de 87 individuos venezolanos mestizos aparentemente sanos, que residen en la zona de Caracas, se obtuvo como frecuencia alélica del gen de ApoE los siguientes valores: alelo  $\epsilon 2$  19%, alelo  $\epsilon 3$  71%, alelo  $\epsilon 4$  10% (54). Al compararlos con la frecuencia alélica de los individuos controles del estudio en curso: alelo  $\epsilon 2$  7,9%, alelo  $\epsilon 3$  87,5%, alelo  $\epsilon 4$  4,6%; se puede observar que no hay patrón similar de los alelos entre ambas poblaciones, lo cual puede deberse principalmente a la diferencia poblacional, en el presente estudio los individuos fueron escogidos con criterios específicos de edad, y aunque no presenten ninguna enfermedad metabólica en el momento del estudio, no se puede asegurar que en un futuro mantengan esta tendencia; por su parte, el estudio en comparación fue realizado en individuos adultos aparentemente sanos.

A lo largo del estudio se ha descrito que el SM pueden ser de etiología poligénica y multifactorial que afecta hoy en día a un alto porcentaje de niños. El análisis permitió identificar un posible factor de riesgo relativo entre la RI y el alelo  $\epsilon 4$  una variante del gen de ApoE que está estrechamente relacionada con la hipercolesterolemia, un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedad cardiometabólica.

Por otra parte, los factores genéticos son importantes en la determinación 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 el sujeto al desarrollo de obesidad, resistencia a la insulina o dislipidemias los cuales son componentes del SM. Entre los genes candidatos para la obesidad o la resistencia a la insulina, se destaca el gen PPAR $\gamma 2$ . El gen PPAR $\gamma 2$  es expresado preferencialmente en los adipocitos diferenciados y media la expresión de genes específicos de células adiposas, los cuales codifican proteínas directamente relacionadas con las vías lipogénicas.

En este estudio la distribución genotípica del polimorfismo Pro12Ala del gen PPAR $\gamma 2$  mostró que el 93,6% de los individuos estudiados presentaron el genotipo homocigoto Pro/Pro y el 6,4% el genotipo heterocigoto Pro/Ala, no se encontraron individuos con el genotipo Ala/Ala. La frecuencia para el alelo Pro fue de 0,96 y para el Ala fue de 0,04. Al clasificar a los niños en los diferentes grupos estudiados se tiene que la frecuencia del alelo Ala en el grupo control, hipercolesterolémicos y obesos es muy baja sin existir diferencia significativa entre los mismos, mientras que en el grupo de resistentes a la insulina no se encontró ningún individuo con este alelo.

En un estudio realizado en Venezuela, la frecuencia para el alelo Pro fue de 0,88 y para el Ala fue de 0,12. Cuando se

clasificaron los sujetos de acuerdo con la presencia o ausencia de SM, se observó que en los sujetos con SM la frecuencia del alelo Pro fue de 0,93 y para el Ala fue de 0,068; en los sujetos sin SM fue de 0,839 y 0,16 para el alelo Pro y Ala, respectivamente. También en dicho estudio se encontró una asociación entre el polimorfismo y los elementos que definen el SM, observándose que los individuos con y sin SM con el alelo Ala, presentaron los niveles más bajos de triglicéridos y col-HDL más alto, cuando se los comparó con los sujetos con el alelo Pro, encontrándose que no hubo significancia estadística (57). La frecuencia de ese estudio realizado en Maracaibo, presenta un patrón diferente a este estudio, lo cual puede deberse a las diferencias poblacionales.

Diferentes estudios realizados con individuos obesos y de peso normal mostraron resultados diferentes al considerarse la relación entre la variante del gen PPAR $\gamma$  y la obesidad, puesto que algunos demuestran aumento significativo en el índice de masa corporal y en la circunferencia de la cintura en individuos con el polimorfismo Pro12Ala, mientras otros relatan que la variante está asociada con menor IMC (19,58). Por otra parte, otros estudios de polimorfismos en el gen PPAR $\gamma$ 2 se han asociado con resistencia a la insulina, hipertensión y alteraciones en el metabolismo de los lípidos (19).

Yen y colaboradores reportaron que en un grupo pequeño de pacientes caucásicos hay una asociación entre la presencia del polimorfismo y la Diabetes mellitus tipo 2 (59). Beamer y col demostraron que dicho polimorfismo está asociado con un aumento del Índice de Masa Corporal (IMC) y aumento de peso con un aumento de la predisposición a la obesidad; sin embargo, no hallaron asociación entre la presencia del polimorfismo y los niveles elevados de insulina y glucosa en dichos pacientes (24). Ek y colaboradores, también han descrito recientemente una asociación entre el alelo Ala12 y una mejora en la sensibilidad a la insulina en varones suecos con tolerancia normal a la glucosa (57).

Se ha establecido que se requiere un tamaño de muestra grande para probar la asociación entre el Pro12Ala y diabetes tipo 2. Esta variante tiene un efecto sustancial, ya que la frecuencia del alelo Pro es muy común en la población por lo cual aún está en discusión el efecto de Pro12Ala sobre el individuo.

## CONCLUSIONES

En este estudio se encontraron diferencias estadísticamente significativas con respecto a la presencia del alelo  $\epsilon$ 4 del gen de ApoE entre los niños con resistencia a la insulina y los niños controles, lo que refiere que puede haber una relación clínica importante entre la presencia del alelo y el desarrollo de la enfermedad, aunado a esto se encontró que no poseer el alelo puede representar un factor protector contra el desarrollo de la resistencia a la insulina. Los niños con resistencia a la insulina presentaron valores de colesterol elevados estadísticamente significativos con respecto a los niños contro-

les, lo que podría demostrar que estos niños poseen además un alto riesgo de desarrollar hipercolesterolemia, presentando dos factores importantes de riesgo para el desarrollo de enfermedad cardiometabólica. El estudiar la genética de los niños revela la posibilidad de encontrar genes asociados al desarrollo de enfermedades metabólicas que si se detectan en la niñez se puede prevenir la progresión a dichas enfermedades en el adulto con cambios en el estilo de vida.

## RECOMENDACIONES

Se recomienda la ampliación de este estudio aumentando el tamaño de la muestra, para evaluar si se mantienen las tendencias descritas en el presente trabajo y para establecer una relación entre la presencia de la enfermedad y el genotipo; se recomienda la inclusión de otros marcadores genéticos que ayuden en el diagnóstico de las enfermedades metabólicas.

## 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, al Centro de Atención Nutricional Infantil Antímamo (CANIA) y al Hospital de Niños J.M. de los Ríos.

## REFERENCIAS

1. Vera L, Salvi C, Figueroa O, Soto de Sanabria I, López A. Evaluación nutricional y seguimiento de niños y adolescentes obesos en una consulta especializada. Arch Venez Puer Ped 2005; 68(3):122-131.
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. Toussaint G. Patrones de dieta y actividad física en la patogénesis de la obesidad en el escolar urbano. Bol Med Hosp Infant Mex 2000; 57(11):650-660.
5. Freedman DS, Serdula MK, Kettel KL. The adult health consequences of childhood obesity. In: C.H. Chen, W. Dietz (Eds). Obesity in childhood and adolescence. Lippincott Williams and Wilkins. Nestlé Nutrition Workshop Series. Pediatrics Program. Philadelphia 2002; 49:63-82.
6. Must A, Jacques P, Dallal G, Bajema C, Dietz W. Long-term morbidity and mortality of overweight adolescents. A follow-up of the Harvard Growth Study. N Engl J Med 1992; 327:1350-1355.
7. Lauer R, Lee J, Clarke WR. Factors affecting the relationship between childhood and adults cholesterol levels: the Muscatine study. Pediatrics 1988; 82:309-318.
8. Barlow S, Dietz W. Obesity evaluation and treatment: Expert Committee Recommendations. Pediatrics 1998; 102(3):29-36.
9. Dwyer T, Blizzard CL. Defining obesity in children by biological endpoint rather than population distribution. Int J Obes

- 1996; 20:472-480.
10. Rodríguez N. Alteraciones en genes del metabolismo lipídico y enfermedad cardiovascular. *AVFT* 2007; 26(1): 23-45.
  11. Davignon J, Gregg R, Sing C. Apolipoprotein E Polymorphism and Atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1988; 8:1-21.
  12. Wilson WF, Schaefer EJ, Larson MG, Ordovas JM. Apolipoprotein E alleles and risk of coronary disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16:1250-1255.
  13. De Knijff P, Van den Maagdenberg A, Frants R, Havekes L. Genetic heterogeneity of apolipoprotein E and its influence on plasma lipid and lipoprotein levels. *Hum Mutat* 1994; 4:178-194.
  14. De Knijff P, Jansen H, Lie K, Havekes L. Apolipoprotein E4 and coronary artery disease. *Lancet* 1992;340:1350-1351.
  15. Kamboh MI, Aston CE, Ferrell RE, Hamman RF. Impact of apolipoprotein E polymorphism in determining interindividual variation in total cholesterol and low density lipoprotein cholesterol in Hispanic and non-Hispanic whites. *Atherosclerosis* 1993; 98:201-211.
  16. Celaya J, Rodríguez A, Michelle P, Arends A. Estudios de polimorfismos del gen (APOE) de la apolipoproteína-E (Apo E) y su relación con niveles elevados de colesterol total, lipoproteínas y triglicéridos séricos en niños de edad escolar. *Rev Soc Med Quir Hosp Emerg Pérez de León* 2007; 38(Supl. 1):19-26.
  17. Desvergne B y Wahli W. Peroxisome proliferator-activated receptors: nuclear control of metabolism. *Endocr Rev* 1999; 20:649-688.
  18. Schoonjans K, Staels B, Auwerx J. Role of the peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) in mediating the effects of fibrates and fatty acids on gene expression. *J Lipid Res* 1996; 37:907-925.
  19. Swarbrick M, Chapman C, McQuillan B. A Pro12Ala polymorphism in the human peroxisome proliferator-activated receptor-g2 is associated with combined hyperlipidaemia in obesity. *Europ J Endocrinol* 2001; 144:277-282.
  20. Hernández M, Ruiz V. Obesidad, una epidemia mundial. Implicaciones de la genética. *Rev Cubana Invest Biomed* 2007; 26(2):45-65.
  21. Ristow M, Müller-Wieland D, Pfeiffer A, Krone W, Kahn CR. Obesity associated with a mutation a genetic regulator of adipocyte differentiation. *N Engl J Med* 1998; 339:953-959.
  22. Deeb SS, Fajas L, Nemoto M, Pihlajamaki J, Mykkanen L, Kuusisto J, et al. A Pro12Ala substitution in PPARgamma2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. *Nat Genet* 1998; 20:284-287.
  23. Stumvoll M, Haring H. The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 Pro12Ala polymorphism. *Diabetes*. 2002; 51:2341-2347.
  24. Beamer B, Yen C, Andersen R, Muller D, Elahi D, Cheskin L, et al. Association of the Pro12Ala variant in the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 gene with obesity in two Caucasian populations. *Diabetes* 1998; 47:1806-1808.
  25. Frederiksen L, Brodback K, Fenger M, Jorgensen T, Borch-Johnsen K, Madsbad S, et al. Comment: studies of the Pro12Ala polymorphism of the PPAR-gamma gene in the Danish MONICA cohort: homozygosity of the Ala allele confers a decreased risk of the insulin resistance syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:3989-3992.
  26. Méndez Castellano H, Bosch V. Bioquímica: Colesterol y Triglicéridos. Percentiles según intervalos de edad y sexo. En: H. Méndez Castellano editor. *Estudio Nacional de Crecimiento y Desarrollo Humanos de la República de Venezuela: Proyecto Venezuela*. Vol III. Escuela Técnica Popular Don Bosco. Caracas 1996, pp.1270-1273.
  27. 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; 61:381-388.
  28. 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. Editorial Médica Panamericana. Caracas 2009, pp. 1-40.
  29. Cusminsky M, Lejarraga H, Mercer R, Martell M, Fescina R. Evaluación del Crecimiento del Niño. Manual de Crecimiento y Desarrollo del Niño. Organización Panamericana de Salud.-OMS. Washington, DC 1993, pp.23-52.
  30. Espinoza I. Guía práctica para la evaluación antropométrica del crecimiento, maduración y estado nutricional del niño y el adolescente. *Evaluación del Crecimiento*. Arch Venez Puer Ped 2004; 67(Supl. 1):S3-S52.
  31. Méndez H, de Méndez M. Estratificación Social y Biología Humana. Método Graffar modificado para Venezuela. *Arch Venez Puer Ped* 1986; 49(4):93-104.
  32. Weiss R. Insulin sensitivity and secretion: swaying the pendulum. *J Pediatr* 2006; 148:3-4.
  33. Haymond MW. Measuring insulin resistance: a task worth doing. But how? *Pediatr Diabetes* 2003; 4:115-118.
  34. Goran MI, Ball GD, Cruz ML. Obesity and risk of type 2 diabetes and cardiovascular disease in children and adolescents. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:1417-1427.
  35. Kurtoglu S, Hatipoğlu N, Mazicioğlu M, Kendirici M, Keskin M, Kondolot M. Insulin Resistance in Obese Children and Adolescents: HOMA-IR Cut-Off Levels in the Prepubertal and Pubertal Periods. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 2010; 2(3):100-106.
  36. Keskin M, Kurtoglu S, Kendirci M, Atabek ME, Yazici C. Homeostasis model assessment is more reliable than the fasting glucose/insulin ratio and quantitative insulin sensitivity check index for assessing insulin resistance among obese children and adolescents. *Pediatrics* 2005; 115:500-503.
  37. Barja S, Arnaiz P, Domínguez A, Villaruel L, Cassis B, Castillo O, et al. Insulinemia e índice HOMA en niños y adolescentes chilenos *Rev Med Chile* 2011; 139:1435-1443
  38. Reaven G. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37:1595-1607.
  39. Camejo G, Ljung B, Oakes N. Pharmacological treatment of insulin resistance in obesity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2001; 11:275-284.
  40. Zimmet P, Boyko EJ. Etiology of the metabolic syndrome: potential role of insulin resistance, leptin resistance and other players. *Ann NY Acad Sci* 1999; 892:25-44.
  41. Acosta A, Chiesa M, Reyes M, Chirinos H, Giannone A, Guanipa W, et al. Prevalencia de Diabetes Mellitus Tipo 2 y Síndrome Metabólico en una muestra poblacional del Estado Falcón, Venezuela. *Memorias del IX Congreso Venezolano de Endocrinología y Metabolismo*. Caracas, 2004:49.
  42. Flores H, Silva E, Fernández V, Ryder E, Sulbarán T, Campos G, et al. Prevalence and Risk Factors Associated with the metabolic syndrome and dyslipidemia in white, black, amerindians and mixed hispanics in Zulia State, Venezuela. *Diabet Res Clin Pract* 2005; 69:63-67.
  43. Macías-Tomei C. Síndrome metabólico en niños y adolescentes. *Arch Venez Puer Ped* 2009; 72(1):30-37.
  44. Maulino N, Macías de 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
45. Schröder A. Relación entre los indicadores de distribución de grasa corporal y el Síndrome Metabólico en niñas, niños y adolescentes obesos. Trabajo Especial de Grado de Especialización en Nutrición Clínica Opción Pediatría. Universidad Simón Bolívar. Caracas 2007.
  46. Zimmet P, Alberti G, Shaw J. A New IDF worldwide definition of the metabolic syndrome: the rationale and the results. *Diabetes Voice* 2005; 50(3):31-33.
  47. Macías-Tomei C, Maulino N. Obesidad y Síndrome Metabólico. En: L. Machado, I. Espinoza, R. Santiago (eds.). *Nutrición Pediátrica. Sociedad Venezolana de Puericultura y Pediatría. Editorial Médica Panamericana. Caracas 2009, pp.241-272*
  48. Agudelo G, Arias R. Prevalencia del síndrome metabólico en niños y adolescentes escolarizados del área urbana de la ciudad de Medellín. *IATREIA* 2008; 21(3):260-270.
  49. Beck-Nielsen H, Groop LC. Metabolic and genetic characterization of prediabetic states. Sequence of events leading to non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1994; 94:1714-1721
  50. Groop L, Forsblom C, Lehtovirta M, Tuomi T, Karanko S, Nissen M, et al. Metabolic consequences of a family history of NIDDM (The Botnia Study). *Diabetes* 1996; 45:1585-1593.
  51. Martínez M, Martínez L. Síndrome de resistencia a la insulina y síndrome metabólico: similitudes y diferencias. *Síndrome metabólico: concepto, fisiopatología y epidemiología. Cardiovascular Risk Factors* 2003; 12(2):89-95.
  52. Hixson JE. Apolipoprotein E polymorphism affect atherosclerosis in young males. Pathobiological determinants of atherosclerosis in Youth (PDAY) Research Group. *Arterioscler Thromb* 1991; 11:1237-1244.
  53. Bennet AM, Di Angelantonio E, Ye Z, Wensley F, Dahlin A, Ahlbom A, et al. Association of apolipoprotein E genotypes with lipid levels and coronary risk. *JAMA* 2007; 298:1300-1311.
  54. Fernandez-Mestre M. Genetic variability of apolipoprotein E in Venezuela. *Disease Markers* 2005; 21:15-19
  55. Marturet M. Estudio del Genotipo de la Apolipoproteína E (ApoE) en Escolares con Niveles Elevados de Colesterol y/o Triglicéridos Séricos de una Población Costera Venezolana. Tesis de Grado, Licenciatura de Bioanálisis, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela. Caracas 2001.
  56. Meigs JB, Ordovas JM, Cupples LA, Singer DE, Nathan DM, Schaefer EJ, et al. Apolipoprotein E Isoform Polymorphisms are not associated with Insulin Resistance. *Diabetes Care* 2000; 23:669-674.
  57. Fernández E, Morales L, Vargas R, Sandra L, Molero-Conejo E, Fernández V, et al. Polimorfismo Pro12Ala del gen PPAR- $\gamma$ 2 y síndrome metabólico. Estudio preliminar. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2009; 43(1):3-9
  58. Chaia V, Lopes E, Rosa G, Morais E, Kimi S, Lima C, et al. Influencia de la grasa de la dieta en el metabolismo glucídico de mujeres obesas con el genotipo Pro12Pro en el gen PPAR $\gamma$ 2. *Nutr Hosp* 2010; 25(4):622-629.
  59. Yen CJ, Beamer BA, Negri C, Silver K, Brown K, Yarnall D, et al. 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. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 241:270-274.
  60. Ek J, Andersen G, Urhammer SA, Hansen L, Carstensen B, Borch-Johnsen K, et al. Studies of the Pro12Ala polymorphism of the peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ 2 (PPAR $\gamma$ 2) gene in relation to insulin sensitivity among glucose tolerant caucasians. *Diabetologia* 2001; 44:1170-1176.