



Casa abierta al tiempo

Universidad Autónoma Metropolitana

UNIDAD IZTAPALAPA

División de Ciencia Biológicas y de la Salud

POSGRADO EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

Polimorfismos y expresión de las proteínas desacoplantes (UCP's) en tejido adiposo epicárdico en pacientes mexicanos con enfermedad coronaria sometidos a cirugía de revascularización y en pacientes sometidos a reemplazo valvular.

T E S I S

Que para obtener el grado de:

Maestra en Biología Experimental

PRESENTA:

Biol. Exp. Selene Cabello Solares

Co-directores:

Dra. Claudia Huesca Gómez

Dr. Héctor Fernando Serrano

Asesor:

Dr. Ricardo Gamboa Ávila

México, D.F.

Febrero, 2014

Comité Tutorial

Co-directora

Dra. Claudia Huesca Gómez

Departamento de Fisiología
Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”
c_huesca@yahoo.com

Co-director

Dr. Héctor Fernando Serrano

Departamento de Ciencias de la Salud
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa
hser@xanum.uam.mx

Asesor

Dr. Ricardo Gamboa Ávila

Departamento de Fisiología.
Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”
rgamboaa_2000@yahoo.com

Este trabajo fue realizado en el Departamento de Fisiología del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez y en el Laboratorio de Biología Celular y Molecular del Departamento de Ciencias de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.

El Programa de Maestría en Biología Experimental de la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM-I: 308-1) pertenece al Padrón de Posgrados de Excelencia del CONACyT PIFOP-CONACYT-SEP y cuenta con apoyo del mismo Consejo, con el convenio 309-0, con la clave C/PFPN-2002-35-32.

El presente trabajo se realizó gracias al apoyo proporcionado por el CONACYT a través de la beca con número de registro 421282.

Este trabajo fue apoyado en su totalidad por el CONACYT, número de proyecto 179967.

Los miembros del jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, abajo firmantes, aprobaron la tesis titulada **“Polimorfismos y expresión de las proteínas desacoplantes (UCP’s) en tejido adiposo epicárdico en pacientes mexicanos con enfermedad coronaria sometidos a cirugía de revascularización y en pacientes sometidos a reemplazo valvular”**

Jurado de Examen

Presidente

Dr. José Luis Gómez Olivares
Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Iztapalapa. Depto Ciencias de
la Salud. e-mail: gool@xanum.uam.mx

Secretario

Dr. Ricardo Gamboa Ávila
Instituto Nacional de Cardiología
“Ignacio Chávez”. Depto de Fisiología
e-mail: rgamboaa_2000@yahoo.com

Vocal

Dra. Petra Yescas Gómez
Instituto Nacional de Neurología y
Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez”
Depto de Genética y Biología Molecular.
e-mail: yescas60@yahoo.com.mx

Vocal

Dra. Marisol López López
Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Xochimilco.
Depto de Sistemas Biológicos.
e-mail: mlopez@correo.xoc.uam.mx

Agradecimientos

A la Universidad Autónoma Metropolitana y al Posgrado en Biología Experimental por la oportunidad de continuar mi formación.

Al CONACyT por su apoyo en este proyecto y motivación para la formación de nuevos investigadores.

A la Dra. Claudia Huesca Gómez por iniciar conmigo este trabajo y por su apoyo.

A la Dr. Ricardo Gamboa Ávila por su ayuda, confianza y apoyo.

Al Dr. Héctor Fernando Serrano por su ayuda, consejos, confianza y siempre alentarme.

Al Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” por permitir la realización de mi trabajo.

ÍNDICE

Contenido

1	ABREVIATURA.....	1
2	RESUMEN	2
3	ABSTRACT	3
4	INTRODUCCIÓN	4
5	MARCO TEORÍCO	8
5.1	Enfermedad Arterial Coronaria (EAC).....	8
5.1.1	Aterosclerosis.....	9
5.2	Factores de riesgo de EAC	10
5.3	Tejido adiposo.....	14
5.3.1	Tejido adiposo blanco.....	16
5.3.2	Tejido adiposo pardo	16
5.3.3	Tejido adiposo epicárdico	16
5.4	Proteínas desacoplantes (UCP`s).....	19
5.4.1	Proteína desacoplante 1 (UCP 1).....	22
5.4.2	Proteína desacoplante 2 (UCP 2).....	24
5.4.3	Proteína desacoplante 3 (UCP 3).....	26
5.5	Polimorfismos genéticos de las UCP´s	28
5.6	Expresión de las UCP´s	30
6	JUSTIFICACIÓN	31
7	OBJETIVOS	32
7.1	Objetivo General	32
7.2	Objetivo particulares.....	32
8	HIPÓTESIS.....	32

9	MATERIALES Y MÉTODOS	33
9.1	Cálculo de la muestra.....	33
9.2	Población de estudio.....	33
9.2.1	Tipo de estudio	33
9.2.2	El diseño experimental “casos y controles”	33
9.3	Sujetos de estudio.....	34
9.3.1	Grupo de casos	34
9.3.2	Grupo control.....	35
9.3.3	Antropometría.....	35
9.4	Determinación de perfil de lípidos	36
9.5	Obtención del tejido adiposo epicárdico y subcutáneo	36
9.6	Estudio molecular de las proteínas desacoplantes	37
9.6.1	Extracción DNA	37
9.6.2	Determinación de los polimorfismos.....	37
9.6.3	Expresión de UCP del tejido adiposo epicárdico y mediastino	38
10	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	39
11	RESULTADOS	40
11.1	Equilibrio de Hardy-Weinberg	40
11.2	Características clínicas de la población total de estudio.....	40
11.2.1	UCP 1 -3826 A/G	44
11.2.2	UCP2 -866 G/A	46
11.2.3	UCP3 -55 C/T.....	49
11.2.4	UCP 2 A55V	51
11.3	Frecuencia alélicas y genotípicas de las UCP's.....	53
11.4	Determinación de la expresión del mRNA de las UCP's.....	59

12	DISCUSIÓN.....	64
13	CONCLUSIONES.....	68
14	BIBLIOGRAFÍA.....	69
15	ANEXO.....	85

1 ABREVIATURA

ADN	Ácido desoxirribonucleico	PPARα	Receptor alfa activado por el proliferador del peroxisoma
ADP	Adenosina difosfato	PPARγ	Receptor gamma activado por el proliferador del peroxisoma
AMPc	Adenosina monofosfato cíclico	SNP	Polimorfismo de un solo Nucleótido
ARN	Ácido ribonucleico	TAE	Tejido adiposo epicárdico
c-HDL	Colesterol de lipoproteína de alta densidad	TAB	Tejido adiposo blanco
c-LDL	Colesterol de lipoproteína de baja densidad	TAD	Tensión arterial diastólica
EAC	Enfermedad arterial coronaria	TAS	Tensión arterial sistólica
DMT2	Diabetes mellitus tipo 2	TAP	Tejido adiposo pardo
IDL	Lipoproteína de densidad intermedia	TAM	Tejido adiposo mediastino
GDP	Guanidina difosfato	VLDL	Lipoproteína de muy baja densidad
GTP	Guanidina trifosfato	NEFA	Ácido graso no esterificado
IMC	Índice de masa corporal	HTA	Hipertensión arterial
mARN	Ácido ribonucleico mensajero	ROS	Especie reactiva de oxígeno
OMS	Organización mundial de la salud		
PCR- TR	Reacción en cadena de la Polimerasa en tiempo real		

2 RESUMEN

Las enfermedades cardiovasculares son el principal problema de salud a nivel mundial y la enfermedad arterial coronaria (EAC) o enfermedad isquémica del corazón son la segunda causa de muerte a nivel mundial.

En previos estudios se ha encontrado la participación de proteínas desacoplantes (UCP`s) en el desarrollo de los factores de riesgo de la EAC, como son: dislipidemias, obesidad, diabetes, hipertensión arterial, y los cuales son incrementados por el consumo de tabaco y alcoholismo. Las UCP`s participan en el desacoplamiento de la fosforilación oxidativa, regulando la síntesis de ATP y generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), debido a un incremento en la oxidación de combustibles (lípidos o carbohidratos). Por su participación en el metabolismo y en la generación de ROS, es importante estudiar los polimorfismos y expresión de las UCP`s, ya que podrían estar asociados con los factores de riesgo y promover una mayor incidencia de la EAC.

Se estudiaron 157 sujetos en el Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" donde 101 fueron pacientes con EAC sometidos a cirugía de revascularización coronaria (grupo EAC) y 56 fueron pacientes sometidos a cirugía de reemplazo valvular (grupo control). En ambos grupos se estudiaron 4 polimorfismos de las UCP`s (UCP1 -3826, UCP2 -866 y +320, UCP3 -55), y la expresión del mRNA de la UCP1, 2 y 3.

El genotipo GG del polimorfismo -3826 A/G de la UCP1 presento una disminución de la expresión del mRNA de la UCP1. El genotipo AA del polimorfismo -866 G/A de la UCP2 presento un incremento de la expresión del mRNA de la UCP2. El genotipo TT del polimorfismo A55V C/T de la UCP2 presento un incremento de la expresión del mRNA de la UCP2. El genotipo CC del polimorfismo -55 C/T de la UCP3 presento una disminución de la expresión del mRNA de la UCP3.

No se encontró una asociación de los cuatro polimorfismo estudiados con el desarrollo de la enfermedad arterial coronaria

3 ABSTRACT

Cardiovascular disease is the leading health problem worldwide and coronary artery disease (CAD) or ischemic heart disease are the second leading cause of death worldwide.

Previous studies have found the involvement of uncoupling protein (UCP's) in the development of risk factors for CAD, such as: dyslipidemia, obesity, diabetes, hypertension, and which are increased by the consumption of snuff and alcoholism. UCP's involved in the uncoupling of oxidative phosphorylation, ATP synthesis regulating and generation of reactive oxygen species (ROS), due to an increase in the oxidation of fuel (lipids or carbohydrates). For his part in the metabolism and ROS generation is important to study polymorphisms and expression of UCP's, and that might be associated with the risk factors and promote greater incidence of EAC.

157 subjects were studied in the " Ignacio Chávez " National Cardiology Institute where 101 were patients with CAD undergoing coronary of revascularization surgery (CAD group) and 56 were patients undergoing valve replacement surgery (control group). In both groups the four polymorphisms UCP's (-3826 UCP1, -866 and A55V UCP2, -55 UCP3), and mRNA expression of UCP1, 2 and 3 were examined.

GG genotype of the -3826 A / G showed a decrease of UCP1 mRNA expression of UCP1. The AA genotype of -866 G / A of the UCP2 presented increased mRNA expression of UCP2. The TT genotype of A55V C / T of the present UCP2 increased mRNA expression of UCP2. The CC genotype of -55 C / T of the present UCP3 decreased mRNA expression of the UCP3.

No association of four polymorphism studied with development of coronary artery disease was found.

4 INTRODUCCIÓN

El mantenimiento del peso corporal y de las reservas energéticas necesarias para la supervivencia constituye un sistema homeostático que incide en el equilibrio entre la ingesta y el gasto calórico, y que responde a señales de diversa procedencia (Rojas et al., 2008).

La regulación del balance energético es un proceso complejo, controlado por múltiples factores genéticos y ambientales, así como por la dieta y la actividad física, que actúan en uno o ambos componentes. Pequeños desajustes del balance energético son compensados mediante la activación de mecanismos de contra-regulación. Así, la obesidad puede verse como un trastorno en el balance energético, que conlleva a un aumento excesivo del contenido adiposo en el organismo. La acumulación ectópica de grasa inducida por la obesidad activa la señalización de estrés celular y vías inflamatorias. Además, juega un papel central en el desarrollo del síndrome metabólico (Hernández-Jiménez, 2004).

El síndrome metabólico es una asociación de condiciones interrelacionadas con obesidad abdominal, hipertrigliceridemia, aumento de estrés oxidante, bajos niveles del colesterol de lipoproteínas de alta densidad (C-HDL), presión arterial elevada, y altas concentraciones plasmáticas de glucosa en ayuno, que sinérgicamente aumentan el riesgo de enfermedad arterial coronaria (EAC), diabetes e infarto cerebral (Alegría et al., 2008).

La termogénesis adaptativa (TA) es la energía disipada en forma de calor en respuesta a estímulos externos, como la exposición al frío a un excedente calórico proveniente de la dieta (Himms-Hagen, 1989; Lowell y Spiegelman, 2000). La TA tiene lugar principalmente en las mitocondrias del tejido adiposo pardo (TAP), en donde se produce

el desacoplamiento de la cadena transportadora de electrones de la fosforilación oxidativa, evitando la síntesis de ATP y disipando la energía en forma de calor.

Los adipocitos que forman el tejido adiposo pardo son multiloculares, almacenan lípidos en numerosas gotas repartidas por el citoplasma. Desde el punto de vista morfológico, son células poligonales, con un núcleo esférico y central, así como con un elevado número de mitocondrias con crestas paralelas y empaquetadas, características de este tejido (Cannon y Nedergaard, 2004) Estas mitocondrias contienen la proteína desacoplante 1 (uncoupling protein 1, UCP-1), la principal proteína que participa en la actividad termogénica del TAP. Las UCP's son proteínas que desacoplan la cadena de transporte de electrones de la fosforilación oxidativa alterando el control del gradiente de protones (Martínez et al., 2005).

Entre las moléculas que participan en los primeros estadios de la diferenciación y que determinan el desarrollo de los adipocitos marrones se encuentra el factor de transcripción con dominio PR 16 (PRDM16) (Seale et al., 2007; 2008), que estimula la adipogénesis del TAP, uniéndose y coactivando al receptor gamma activado por el factor proliferador de peroxisomas (peroxisome proliferator activated receptor gamma, PPAR γ), e induce genes específicos del TAP.

El TAP es el principal efector de la termogénesis facultativa o adaptativa, siendo un tejido clave en el metabolismo energético de pequeños mamíferos. La actividad termogénica del TAP depende de la presencia de UCP-1, encargada de disipar la energía en forma de calor.

Al catalizar la re-entrada de los protones a la matriz mitocondrial, aceleran la respiración mitocondrial y, como consecuencia, reducen las especies reactivas de oxígeno (ROS), que son generadas en los tres sitios de acoplamiento en la matriz mitocondrial en los

complejos I, III y IV siendo un elemento adicional de defensa frente al estrés oxidante (Bondia-Pons et al., 2012). La UCP-1 o termogenina fue la primera proteína desacoplante en ser identificada. Pertenece a la superfamilia de transportadores de aniones, localizados en la membrana interna de la mitocondria (MACP) y se expresa únicamente en el TAP.

La regulación de la expresión proteínica de la UCP-1 se realiza principalmente a nivel de la transcripción. El gen de la UCP-1 presenta 2 regiones promotoras, una región proximal y un elemento activador a la transcripción localizado en posición distal.

Los análisis de homología de secuencia han permitido identificar nuevas proteínas desacoplantes, como UCP-2 y UCP-3 con una homología del 59% y 57%, respectivamente, con la secuencia de la UCP-1, y entre sí de un 71% (Ricquier y Kader, 1976). A diferencia de la UCP-1, que únicamente se expresa en el tejido adiposo pardo TAP, la UCP-2 se expresen en varios tejidos y la UCP-3 se expresa en tejidos cuyo metabolismo es dependiente de la oxidación de ácidos grasos, como el TAM, músculo esquelético y corazón. La UCP-2 también participa en la disminución de la secreción de la insulina en la células β -pancreáticas (Zhang et al., 2001), en el metabolismo de los ácidos grasos, disminuyendo la acumulación de grasa en tejidos no adiposos, como el corazón (Somoza et al., 2007); además, disminuye el potencial de membrana mitocondrial y con ello, también reduce la generación de ROS (Martínez et al., 2005). La UCP-3 participa en el metabolismo lipídico facilitando el transporte de los ácidos grasos del citoplasma a la mitocondria para su posterior oxidación. De esta manera protege al músculo frente a la lipotoxicidad (Himms-Hagen y Harper, 2001; Esteves y Brand, 2005). En diversos estudios se han encontrado relaciones entre las alteraciones en UCP1 y UCP3 (Fukuyama et al., 2006), con la obesidad y secreción de insulina (Wang et al.,

2009; Cheng et al., 2010). En el caso de las alteraciones en el gen de UCP2 (rs660339 y rs659366) se han relacionado con el metabolismo de lípidos (Wang et al., 2004), y con fallas en la secreción de insulina. Además, UCP2 y UCP3, se relacionan o se atribuyen con la protección contra ROS (Ding et al., 2009).

En condiciones fisiológicas, el papel de la grasa epicárdica no está del todo claro. El adipocito epicárdico tiene propiedades interesantes, dado que es de menor tamaño que los adipocitos abdominales, el contenido proteínico es mayor, la tasa de utilización de glucosa es menor, mientras que la síntesis de ácidos grasos y la posterior degradación de los mismos, es mayor que la de otros adipocitos viscerales. Además, el adipocito epicárdico puede ser fuente importante de adipocitocinas anti-inflamatorias y anti-aterogénicas como adiponectina y adrenomedulina, las cuales podrían atravesar la pared de las arterias coronarias y transportadas luego dentro de la pared arterial por un mecanismo vasócrino de señalización (Lima et al., 2011).

En condiciones como la obesidad y la diabetes hay un deterioro del depósito de adipocitos, que determina una menor captación de ácidos grasos libres, por parte del adipocito y, por ende, mayor cardio-lipotoxicidad (Lacobellis y Barbaro, 2008).

En el 2009, Wang y colaboradores encontraron en pacientes con diabetes tipo 2 un mayor volumen de tejido adiposo epicárdico en comparación con sujetos sanos ($166.1 \pm 60.6 \text{ cm}^3$ vs $123.4 \pm 41.8 \text{ cm}^3$, $p < 0.0001$), y además este volumen se ha asociado con los componentes del síndrome metabólico y mayor severidad de aterosclerosis coronaria. En otros estudios, se realizó la estimación en el volumen del tejido adiposo intratorácico y epicárdico, encontrando que un incremento en el volumen de los mismos se asocia con una mayor incidencia de enfermedad arterial coronaria y con mayores eventos cardíacos adversos (Ding et al., 2009; Cheng et al., 2010).

5 MARCO TEORÍCO

5.1 Enfermedad Arterial Coronaria (EAC)

La enfermedad arterial coronaria (EAC) es una de las principales enfermedades cardiovasculares --conjunto de trastornos del corazón y de los vasos sanguíneos-- El resultado de la EAC es la aterosclerosis, esta ocurre cuando hay un estrechamiento o bloqueo de las arterias coronarias por la acumulación de lípidos (Mendis et al., 2011).

Entre las manifestaciones más comunes de la EAC están:

- ❖ **Cardiopatía isquémica:** que se produce cuando una parte del miocardio recibe una cantidad de sangre y oxígeno inferior a la que necesita, por lo que se producen trastorno de tipo bioquímico y funcional.
- ❖ **Arritmia:** que es manifestada como una irregularidad en el ritmo cardíaco, angina de pecho que es un síndrome clínico caracterizado por dolor o presión en la parte anterior del tórax, debido a la isquemia aguda, transitoria y reversible del miocardio
- ❖ **Infarto agudo de miocardio:** consiste en la necrosis aguda por isquemia de una parte del músculo cardíaco (Gutiérrez, 2010).

La incidencia de muerte a causa de EAC o enfermedad isquémica del corazón en hombres es del 46% y en mujeres del 38% a nivel mundial (Figura 1A y 1B).

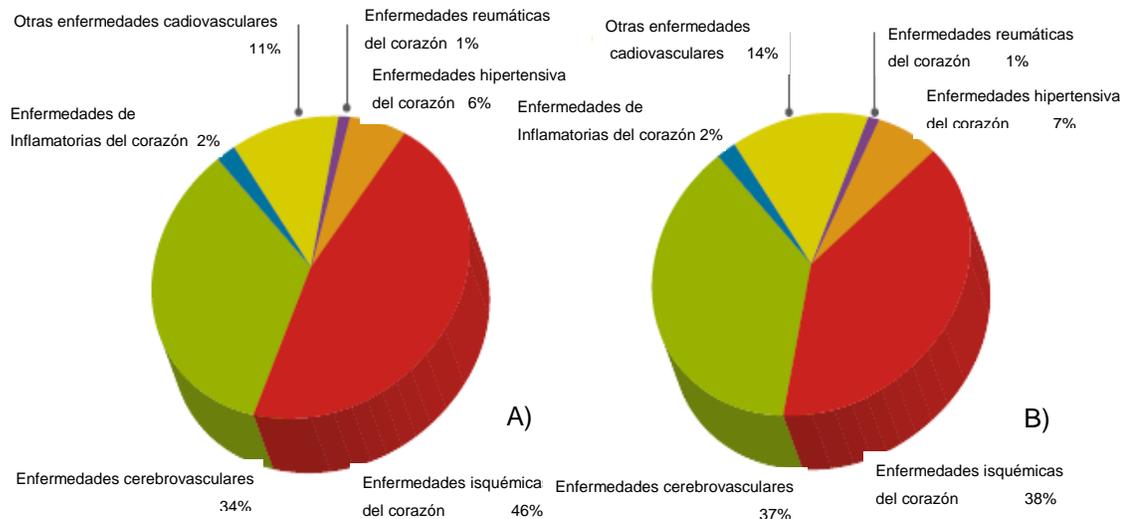


Figura 1. A) Distribución de muerte ECV por ataques o accidentes del corazón y otros tipos de ECV en hombres; B) distribución de muerte ECV por ataques o accidentes del corazón y otros tipos de ECV en mujeres (tomada de Mendis et al., 2011).

5.1.1 Aterosclerosis

La aterosclerosis es un proceso activo, largo y lento, que inicia con la formación de placas de ateroma en el sistema arterial y en el que participan elementos característicos de la inflamación crónica con mecanismos celulares (células endoteliales, monocitos, células de músculo liso y plaquetas) promoviendo alteración endotelial y lesión, con aumento de la permeabilidad. El individuo no presenta síntomas hasta estadios avanzados en los que se manifiestan complicaciones coronarias, cerebrales, digestivas o enfermedades oclusivas de las arterias periféricas (Fajad y Chieffo, 2012).

La retención de lipoproteínas ricas en colesterol como las lipoproteínas de baja densidad (c-LDL) dentro de la matriz subendotelial de la pared arterial es clave de la aterosclerosis, induce disfunción endotelial contribuyendo a la penetración de una mayor cantidad de lipoproteínas, dando lugar a la formación de la placa (Figura 2). Aunque el colesterol de las c-LDL es considerado como colesterol aterogénico, también la apolipoproteína-B contribuye al depósito de colesterol en la íntima. Los altos niveles de triglicéridos y bajas

concentraciones plasmáticas de colesterol de lipoproteína de alta densidad (c-HDL) en plasma están íntimamente asociada en las enfermedades cardiovasculares (Chapman et al., 2011).

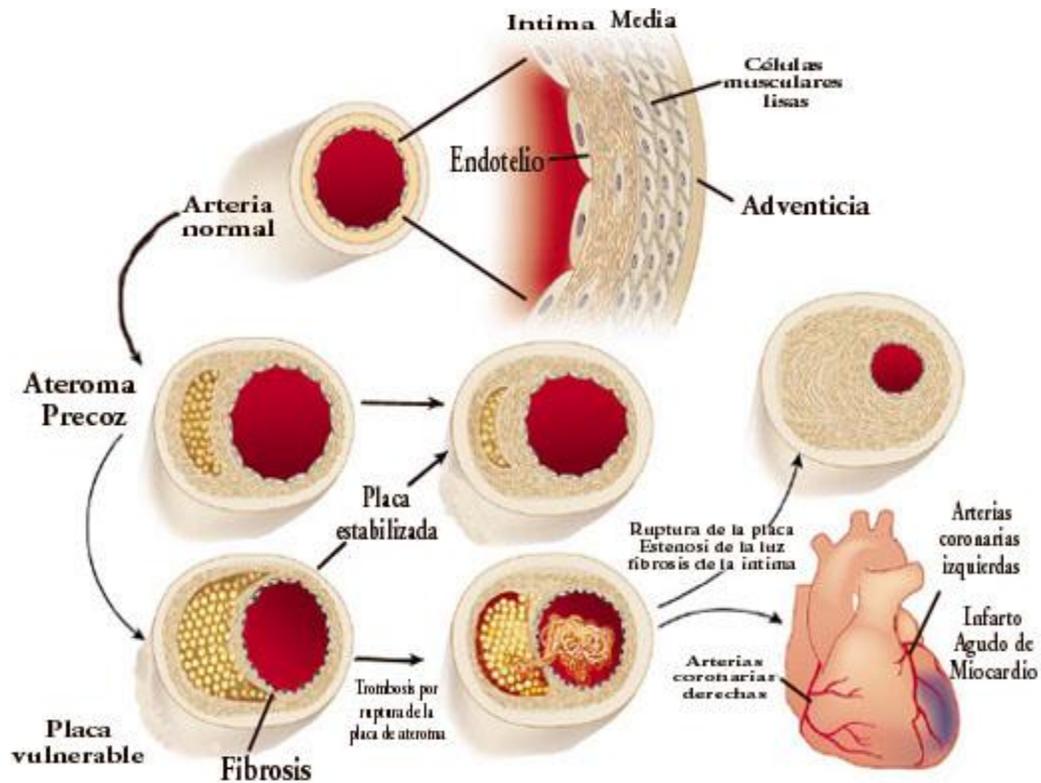


Figura 2. Formación y rompimiento de la placa aterosclerótica culminando en Infarto Agudo de Miocardio (Traducido de Lebbby, 2002)

5.2 Factores de riesgo de EAC

Existen factores de riesgo para el desarrollo de EAC que pueden ser divididos en modificables (tabaquismo, alcoholismo, hipertensión arterial, diabetes, obesidad) y no modificables (edad, género y herencia). Cuanto mayor sea el número de factores de riesgo que presente una persona, será mayor la probabilidad de presentar eventos cardiovasculares (Alves y Rosa, 2009).

El tabaquismo es uno de los factores de riesgo modificable más importante, ya que la incidencia de EAC en los fumadores es tres veces mayor que en el resto de la población. La posibilidad de padecer una enfermedad de corazón es proporcional a la cantidad de cigarrillos fumados al día y al número de años en los que se mantiene este hábito, ya que la nicotina promueve el daño al endotelio y se ha relacionado con el incremento de los niveles de c-LDL y reducción del c-HDL (Talmud et al., 2002).

Evidencias epidemiológicas han demostrado que el consumo excesivo de alcohol participa alterando el metabolismo oxidativo e interfiriendo en algunos procesos de regulación genética celular como es la inducción de la apoptosis con progresiva lesión tisular del órgano (Raynolds et al., 2003; Fernández, 2005). El consumo de alcohol se ha asociado de manera inversa para los niveles de las c-HDL. El consumo excesivo (> 30 g/día) se ha asociado significativamente con mayor presión arterial, niveles elevados de triglicéridos y glucosa plasmática en hombres, y triglicéridos elevados en mujeres (Freiberg, 2004).

Otro factor de riesgo es la diabetes mellitus que es un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia resultante de defectos en la secreción de insulina, acción de la insulina, o ambos (Balasubramaniam et al., 2012). Se estima que entre 7 y 8 de cada 10 personas con diabetes mueren por problemas cardiovasculares. Haffner y colaboradores (1998) encontraron en un estudio epidemiológico que la supervivencia de pacientes que padecen diabetes mellitus tipo 2 y EAC se reduce de manera considerable, además de que la calidad de vida del paciente disminuye comparado con personas que solo tenían diabetes mellitus tipo 2.

Los pacientes diabéticos presentan un aumento de radicales libres y parece ser que la hiperglicemia es el factor que contribuye a la generación de ROS que reduce las

concentraciones de las enzimas antioxidantes (Kesavulu et al., 2001). El estrés oxidativo inducido por los altos niveles de concentración de glucosa juega un papel central en las complicaciones de la diabetes como son: disfunción e insuficiencia de varios órganos, especialmente los ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos (Ahmed et al 2006; Balasubramaniam et al., 2012).

Otro factor de riesgo es la hipertensión arterial (HTA), según la organización mundial de la salud (OMS) se define a la HTA como la elevación persistente de la tensión arterial (sistólica y diastólica) por encima de 140/90 mmHg. Además, la incidencia de la HTA aumenta con la edad y en un inicio su prevalencia es mayor en el sexo masculino y después de los 55 años es mayor en el sexo femenino por la ausencia la disminución estrógenos (Mendis et al 2011).

En personas con hipertensión sistólica aislada que se presenta a cualquier edad, el aumento de la tensión de la pared vascular lleva a engrosamiento, fragmentación y fractura de fibras de elastina, así como aumento en el depósito de colágena en arterias, lo que disminuye la elasticidad de estos vasos. El aumento del grosor de la placa, con aumento relacionado en la velocidad y reflexión de la onda de pulso, lleva al aumento de la presión sistólica y descenso de la presión diastólica, lo que compromete en forma potencial la perfusión coronaria. El aumento de la presión aórtica central aumenta el trabajo cardiaco favoreciendo la enfermedad coronaria y la hipertrofia ventricular (Mendoza et al., 2008).

Las clasificación simplificada de las dislipidemias es: hipercolesterolemia (colesterol total >200 mg/dL con triglicéridos <200 mg/dL), hipertrigliceridemia (triglicéridos >200 mg/dL con colesterol total <200 mg/dL) e hiperlipidemia mixta (colesterol total >200 mg/dL con triglicéridos >200 mg/dL). En la tabla 1 se muestra los valores normales de colesterol

total, colesterol de lipoproteínas de baja densidad (c-LDL), colesterol de lipoproteína de alta densidad (c-HDL) y triglicéridos (ATP-III, 2002).

Tabla 1. Valores de lípidos considerados normales (tomado de ATP-III, 2002)

Colesterol Total (mg/dL)		c-LDL (mg/dL)		Triglicéidos (mg/dL)		c- HDL (mg/dL)	
Deseable	<200	Optimo	<100	Normal	<150	Bajo (H)	<40
Normal-alto	200-239	Normal	100-129	Normal-alto	150-199	Bajo (M)	<50
alto	>240	Normal-alto	130-159	Alto	200-499	Alto (M)	>60
		Alto	160-189	Muy alto	>500		
		Muy alto	>190				
H: Hombre; M: Mujer; c-LDL: colesterol de lipoproteínas de baja densidad; c-HDL: colesterol de lipoproteínas de alta densidad							

Cuando existen concentraciones elevadas de c-LDL en la sangre, estas penetran en la pared arterial, donde sufren modificaciones, tales como la oxidación lo que desencadena una respuesta inflamatoria, caracterizada por un aumento de macrófagos en la zona de la lesión; estos macrófagos fagocitan a las LDL modificadas (oxidadas) transformándose en células espumosas, que forman parte de las placas de ateromas (lesiones focales en la capa íntima de un arteria, característica de la aterosclerosis). A este proceso antecede un daño local a la íntima arterial que se agrava con el tabaquismo, la hipertensión y la diabetes (Posada, 1995).

Es característico de las personas que presentan dislipidemia tener un aumento en el flujo de ácidos grasos libres aumentando la anormalidad en el hígado y la secreción de lipoproteína de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) y/o lipoproteínas de baja densidad (LDL). Cuando se presenta una hiperlipidemia mixta (niveles elevados de colesterol total y triglicéridos), implica típicamente una disminución

de la concentración de c-HDL y un mayor riesgo de enfermedades cardiovasculares (Munguía et al., 2008).

Las personas obesas tienen una mayor frecuencia de factores de riesgo cardiovascular como la hipertensión, la hiperlipidemia y la diabetes. Por tanto, estas personas tienen un mayor riesgo de presentar enfermedades cardiovasculares relacionada con la tasa de morbilidad y mortalidad (Romero et al., 2010; Angeras et al., 2013).

La regulación del balance energético es un proceso complejo, controlado por múltiples factores genéticos y ambientales, así como por la dieta y la actividad física, que actúan en uno o ambos componentes. Pequeños desajustes del balance energético son compensados mediante la activación de mecanismos de contra-regulación. Así, la obesidad puede verse como un trastorno en el balance energético, que conlleva a un aumento excesivo del contenido adiposo en el organismo. La acumulación ectópica de grasa inducida por la obesidad activa la señalización de estrés celular y vías inflamatorias (Hernández-Jiménez, 2004). El gasto energético puede disminuir por falta de ejercicio físico, por disminución del metabolismo basal de la termogénesis o por una combinación de todos estos factores (Obregón, 2007).

5.3 Tejido adiposo

El tejido adiposo es una variedad especializada de tejido conjuntivo; integrado por un grupo de células denominadas adipocitos (unidad funcional) o células adiposas, especializadas en almacenar grasas o lípidos, sustancias consideradas como la fuente de reserva de energía química más importante de un organismo animal.

Los adipocitos proceden de células precursoras de origen mesenquimal que se encuentran cerca de las células endoteliales de los capilares sanguíneos y que proliferan

ante mitógenos específicos. La angiogénesis o producción de nuevos capilares sanguíneos está muy relacionada con la proliferación del tejido adiposo, y los factores de crecimiento de fibroblastos y del endotelio vascular (FGFs y VEGF), participan activamente en la proliferación de las células precursoras del tejido adiposo. Durante la diferenciación, el pre-adipocito aumenta de tamaño y adquiere una apariencia redondeada; el citoplasma se llena primero de múltiples gotas y finalmente de una gran gota de lípidos (García et al., 2011).

Las principales funciones del tejido adiposo son la síntesis y movilización de lípidos (lipogénesis y lipólisis), funciones para las que se encuentra altamente especializada. La capacidad del adipocito para almacenar y movilizar lípidos es función de varios de genes que, actuando sincronizadamente, proporcionan las proteínas y enzimas requeridas para la conversión de los sustratos energéticos en lípidos, para su transporte intracelular y su movilización, con el fin de proporcionar la energía necesaria para las necesidades del organismo (Obregón, 2007).

La distribución del tejido adiposo es casi general en el cuerpo humano. Existen lugares en donde el tejido adiposo se acumula aún en mayor cantidad, por ejemplo: en el tejido subcutáneo, formando el “panículo adiposo”; en la palma de las manos y la planta de los pies, en la región perirrenal, en el tejido conjuntivo que rodea a ciertos órganos como en el pericardio, alrededor de las vísceras abdominales, por detrás del globo ocular; en las glándulas mamarias y en la región glútea (García et al., 2011). Existen dos tipos de tejido adiposo, y por lo tanto, dos tipos de adipocitos diferentes que los forman: tejido adiposo blanco y tejido adiposo pardo.

5.3.1 Tejido adiposo blanco

El tejido adiposo blanco (TAB) o unilocular, es el más abundante en el humano adulto y por lo tanto, el mayor reservorio energético en forma de triglicéridos, estos proveniente de los quilomicrones y VLDL circulantes. Éste tejido adiposo blanco es un órgano productor de sustancias con acción endócrina, parácrina y autócrina (Cannon y Nedergaard, 2004, García et al., 2011).

5.3.2 Tejido adiposo pardo

El tejido adiposo pardo (TAP) o multilocular, considerado como un tejido propio de animales hibernantes, está presente en roedores y en mamíferos recién nacidos, incluido el hombre, aumentando su presencia con la exposición al frío o al nacer. Se encuentra recubriendo la mayoría de los centros vitales (corazón, riñón, aorta y vías circulatorias), la función principal del TAP es la producción de calor, la molécula responsable de dicho fenómeno es una proteína mitocondrial, conocida como proteína desacoplante 1 “UCP1” (Uncoupling Protein) de la fosforilación oxidativa (Cannon y Nedergaard, 2004; Obregón, 2007; García et al., 2011).

5.3.3 Tejido adiposo epicárdico

Lacobellis y Barbaro (2008), encontraron que el tejido adiposo epicárdico, considerado tejido adiposo marrón, está incrementado en personas obesas o con hipertrofia ventricular, éste puede llegar a cubrir los espacios entre los ventrículos y en ocasiones recubrir por completo la superficie epicárdica.

En condiciones fisiológicas, el papel de la grasa epicárdica no está del todo claro. El adipocito epicárdico tiene propiedades interesantes, dado que es de menor tamaño que los adipocitos abdominales, el contenido proteínico es mayor, la tasa de utilización de glucosa es menor, mientras que, la síntesis de ácidos grasos y la posterior degradación

de los mismos, es mayor que la de otros adipocitos viscerales. Esto sugiere que el tejido epicárdico protege al corazón de la exposición a niveles circulantes elevados de ácidos grasos y a la posterior lipotoxicidad generado por los mismos. Siendo considerado además una posible fuente energética para el miocardiocito, cuya energía proviene de un 50-70% de la oxidación de ácidos grasos (Iacobellis et al., 2005). Además, el adipocito epicárdico puede ser fuente importante de adipocitocinas anti-inflamatorias y anti-aterogénicas como adiponectina y adrenomedulina, las cuales podrían atravesar la pared de las arterias coronarias por difusión e interactuar con células en cada una de sus capas, o ser liberadas directamente a los vasa *vasorum* y transportadas luego dentro de la pared arterial por un mecanismo vasócrino de señalización (Lima-Martínez et al., 2011).

En condiciones como la obesidad y la diabetes hay un deterioro de los depósitos de adipocitos, que determina una menor captación de ácidos grasos libres, por parte del adipocito y, por ende, mayor cardio-lipotoxicidad (Iacobellis y Barbaro, 2008). Además de que se activa a nivel del adipocito el factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF- κ B), que induce la producción de mediadores inflamatorios, que una vez liberados por el adipocito epicárdico pueden ser transportados, alcanzando las arterias coronarias en las cuales pueden ejercer sus efectos pro-aterogénicos. Asimismo, la presencia de células inflamatorias en el tejido adiposo epicárdico podría ocurrir en respuesta a la ruptura de la placa y conllevar a la amplificación de la inflamación vascular e inclusive a la inestabilidad de la placa, a través del proceso de apoptosis (Iacobellis y Bianco, 2011).

Pacientes con diabetes tipo 2 presentan un mayor volumen de tejido adiposo epicárdico en comparación con sujetos sanos, y además este volumen se ha asociado con los

componentes del síndrome metabólico y mayor severidad de aterosclerosis coronaria (Wang et al., 2009).

En otros estudios, donde se midió el volumen del tejido adiposo intratorácico y epicárdico, encontrando un incremento en el volumen de los mismos, asociado con una mayor incidencia de enfermedad arterial coronaria y con mayores eventos cardíacos adversos (Ding et al., 2009; Cheng et al., 2010). Estas asociaciones fueron independientes del índice de masa corporal y otros factores de riesgo, lo cual sugiere que el tejido adiposo epicárdico es uno de los factores que contribuye al desarrollo de enfermedad arterial coronaria (García et al., 2011).

5.3.3.1 Termogénesis

La termogénesis es la generación de calor y es componente del balance energético. La generación de calor es función fisiológica del tejido adiposo marrón (Obregón, 2007; García et al., 2011).

El cuerpo tiene varios mecanismos para evitar la obesidad, uno de ellos es el control del apetito. Otro es la termogénesis facultativa, que involucra la liberación de noradrenalina del cerebro en respuesta a el frío, su unión a los receptores β -adrenérgicos del TAM que induce un aumento en la concentración de AMPc, que a su vez inicia la cascada de fosforilación enzimática que activa a la triacilglicerol lipasa (Nicholls y Looke, 1984). El aumento resultante de la concentración de los ácidos grasos no solo proporciona energía, sino que también induce la activación de las proteínas desacoplantes o UCP. La activación de estas proteínas trae como consecuencia la disipación del gradiente de protones a través de la membrana interna mitocondrial; de este modo se desacopla el

transporte de electrones de la producción de ATP, la energía generada es liberada en forma de calor (Rial y González, 2001; Rial y Zardoya, 2009).

5.4 Proteínas desacoplantes (UCP`s)

La mitocondria es el orgánulo responsable de la síntesis de ATP. Este fenómeno está determinado por el flujo de protones obtenidos de substratos reducidos (NADH y en menor medida FADH) derivados del metabolismo de la glucosa y de los ácidos grasos. De acuerdo con la teoría quimiosmótica definida por Mitchell (1961), la translocación de electrones conduce al transporte de protones a través de la membrana interna mitocondrial, resultando en un gradiente electroquímico. Si este gradiente de protones es suficiente, se inicia el flujo de protones hacia la matriz mitocondrial a través del complejo F₀-F₁ ATPasa, liberándose así la energía necesaria para fosforilar al difosfato de adenosina (ADP) y generar ATP, que es la mayor fuente de energía celular, a este proceso se le conoce como fosforilación oxidativa.

Para que la fosforilación oxidativa se lleve a cabo, se necesitan varios requerimientos, entre los cuales se encuentran, impermeabilidad de la membrana interna mitocondrial a los protones que es una condición clave para asegurar el acoplamiento de la cadena respiratoria y la ATP sintasa. La libre permeabilidad de protones a través de la membrana interna mitocondrial disminuye la disponibilidad de protones para la ATP sintasa, por lo que afecta el rendimiento de la síntesis de ATP por oxígeno consumido. Teóricamente, los protones retornan a la matriz mitocondrial solo a través del complejo ATP sintasa, lo que daría como resultado un acoplamiento eficiente entre la degradación del sustrato y la formación de ATP. Sin embargo, la eficacia del proceso no es perfecta; la mitocondria utiliza oxígeno aún en ausencia de ADP (Lowell et al., 2000).

El desacoplamiento de la fosforilación oxidativa se logra por una disminución del gradiente mitocondrial, que bien se puede alcanzar al permitir el flujo de protones del espacio intermembranal a la matriz o a través de la exportación de aniones cargados negativamente de la matriz al espacio intermembranal. Esta característica confiere ventajas al sistema, debido a que permite mantener una cadena respiratoria sin saturación y disminuye la generación de radicales superóxido. En forma indirecta regula la concentración de NADH, factor determinante en la activación de la cetogénesis y la lipogénesis. El principal activador en este proceso son los ácidos grasos, mientras que los nucleótidos de adenosina y guanina lo inhiben (Obregón, 2007).

La familia de proteínas transportadora de la membrana mitocondrial que se encarga de regular la eficiencia de la fosforilación oxidativa son las UCP's de aproximadamente 32 Kda de masa molecular aparente. Esta familia está constituida por 5 UCP's (UCP1, UCP2, UCP3, UCP4 y UCP5) las dos últimas se encuentran en el cerebro (Kim y Dugan, 2005). Estas proteínas se localizan en la membrana interna mitocondrial y cada una de éstas, cataliza la conductancia de protones, lo que causa una disminución del gradiente de protones originado durante la cadena respiratoria (Klingenberg y Huang, 1998). A través de este mecanismo las UCP's participan en la termogénesis, manteniendo el balance redox y una disminución en la generación de especies reactivas de oxígeno (Tabla 2); esto permite responder a la fluctuaciones en la demanda energética, ya que como resultado del proceso de desacoplamiento se induce la movilización de triglicéridos almacenados, el mantenimiento de la homeostasis celular y un adecuado funcionamiento corporal (Vian, 2010).

Tabla 2. Características de las 3 primeras UCP's en el humano.

	UCP 1	UCP 2	UCP3
Distribución	Tejido adiposo marrón	Varios tejidos	Tejido muscular esquelético y marrón
Papel bioquímico	Transporte de protones. Exportación y desprotonación de ácidos grasos Transporte de ROS	Transporte de protones Exportación y desprotonación de ácidos grasos. Transporte de ROS	Transporte de protones Exportación y desprotonación de ácidos grasos Transporte de ROS
Activador	NEFA Superóxido Ubiquinona	NEFA Superóxido Ubiquinona	Superóxido Ubiquinona
Inhibidor	GDP, GTP, ADP ATP	GDP, ATP	GDP, ATP
Papel fisiológico	Termogénesis inducido por el frío y dieta.	Adaptación al incremento de oxidación de ácidos grasos. Limitación de ROS. Regulación en contra aterosclerosis. Inhibición de la secreción de insulina. Inhibición de adhesión de macrófagos, etc.	Adaptación al incremento de la oxidación de ácidos grasos Limitación de ROS, etc.
<p>UCP: Proteína desacoplante; NEFA: Acido grasos no esterificados; GDP: Guanidosina difosfato; GTP: Guanidosina difosfato ADP: Adenosina difosfato; ATP: Adenosina trifosfato; ROS: Especies reactivas de oxigeno</p>			

La familia de las UCP's, tienen características estructurales y funcionales muy similares. Comparten una estructura con tres repeticiones con aproximadamente 100 residuos de aminoácidos, tales repeticiones están unidas por dos regiones hidrofóbicas semejantes que corresponden a α -hélices transmembranales. La cadena polipeptídica cruza la capa lipídica seis veces y la región amino y carboxilo terminal sobresalen hacia el espacio intermembranal mitocondrial. Las hélices están conectadas por un bucle largo hidrofílico

que se localiza en la matriz mitocondrial. La unidad funcional es un dímero formado por dos subunidades idénticas (Ricquier y Kader, 1976).

Los mamíferos tienen 5 proteínas homologas de UCP, de las cuales las UCP1 a la UCP3 están estrechamente relacionadas, mientras que UCP4 y 5 (BMCP1) son más divergentes. Después del descubrimiento de la UCP1, se encontraron otras dos proteínas mitocondriales más, que tenían la misma actividad desacoplante, la UCP2 y la UCP3. La UCP2 fue clonada en 1997, a partir de esto se dedujo que la secuencia de aminoácidos es 57% idéntica a la UCP1 (Fleury et al., 1997), en tanto que la secuencia de UCP3 es 59% idéntica a la UCP1 y 73% idéntica a la UCP2 (Boss et al., 1997).

El descubrimiento de esta familia de proteínas, su amplia distribución en diversos tejidos y su participación en la termorregulación las hace un tema de estudio interesante debido a que se ha establecido participan en la regulación del peso corporal y la generación de ROS (Lowell et al., 2000).

5.4.1 Proteína desacoplante 1 (UCP 1)

La UCP-1 o termogenina fue la primera proteína desacoplante en ser identificada. Pertenece a la superfamilia de transportadores de aniones, localizados en la membrana interna de la mitocondria (MACP) y se expresa únicamente en el TAP. En humanos el gen UCP1 se localiza en el brazo largo del cromosoma 4 y se compone de seis exones que codifican cada uno por una hélice transmembranal (Figura 3). Además, presenta 2 regiones promotoras, una región proximal y un elemento activador a la transcripción localizado en posición distal. La regulación de la expresión proteínica de la UCP-1 se realiza principalmente a nivel transcripcional (Ricquier y Bouillaud, 2000).

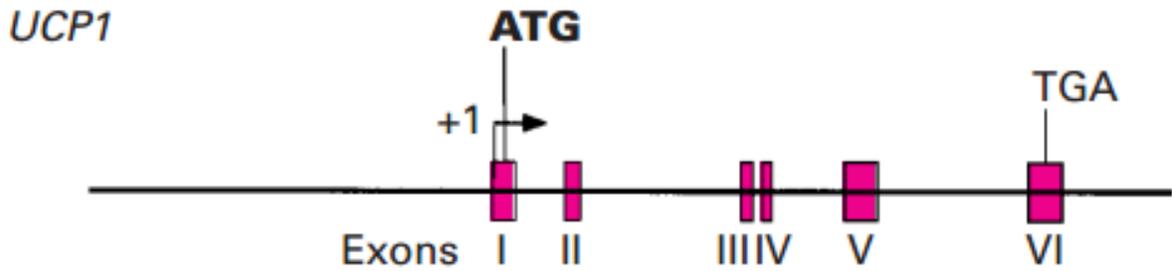


Figura 3. Gen UCP1. Los exones se indican mediante números romanos. ATG: codón de iniciación de la traducción; TGA: codón de terminación de la traducción. Exones codificantes se muestran en cajas de color rosa (imagen tomada de Ricquier y Bouillaud, 2000).

Esta proteína desacopla la cadena de transporte de electrones de la fosforilación oxidativa mediante el control de gradiente de protones (Martínez et al., 2005). Al catalizar la reentrada de los protones a la matriz mitocondrial, se acelera la respiración mitocondrial y, como consecuencia, se reducen las ROS, que son generadas en los tres sitios de acoplamiento en la matriz mitocondrial en los complejos I, III y IV siendo un elemento adicional de defensa frente al estrés oxidante (Figura 4) (Bondia et al., 2012).

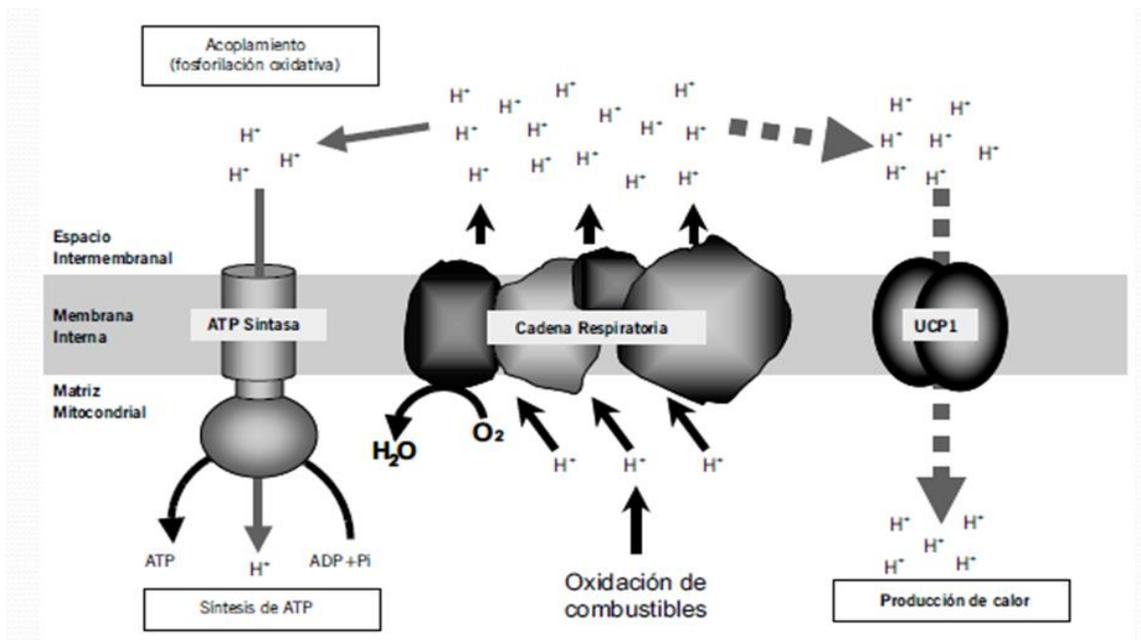


Figura 4. Función de la UCP1 en tejido adiposo marrón (TAM). La actividad de la UCP1 disipa, en forma de calor, parte del gradiente protónico generado por la cadena respiratoria durante la oxidación de combustible (imagen tomada de Palou et al., 2004).

La importancia de la UCP1 en la termogénesis y en la regulación del peso corporal se demostró en animales transgénicos deficientes de esta proteína. Cuando esta proteína se sobre-expresa en tejido adiposo, los ratones no aumentan de peso cuando consumen una dieta rica en grasas. Los ácidos grasos juegan un papel fundamental en la actividad de la UCP1. Sin embargo, el mecanismo por el cual la función de la UCP1 es activado por los ácidos grasos no se encuentra completamente delucidada (Nicholls y Rial, 1999). Se sabe que la UCP1 se expresa en TAP, sin embargo han reportado mRNA y proteínas en tejido adiposo blanco (TAB) en humanos y ratones (Garruti y Ricquier, 1992). La UCP1 también se encuentra en grasa peri-renal en pacientes adultos con feocromocitoma (tumor en la medula suprarrenal), alrededor de las arterias del cuello y en el pericardio de humanos (Hattunen et al., 1981).

5.4.2 Proteína desacoplante 2 (UCP 2)

El gen de la UCP2 en humanos se encuentra en el cromosoma 11q13, cerca de una región asociada a obesidad y diabetes. El gen presenta 6 exones codificantes y dos en el extremo 5' que no se traducen (Ricquier y Bouillaud, 2000) (Figura 5). La región promotora de la UCP2 no tiene caja TATA que es típica en muchas otras regiones promotoras, en vez de ésta, tiene una región rica en GC, con varios posibles sitios de unión para factores de transcripción como SP-1, AP-1, AP-2, proteínas de elementos de unión de respuesta al AMPc (CREB) y el regulador muscular MyoD (Ledesma y García, 2002) aunque no hay evidencia experimental que lo sustente.

UCP2

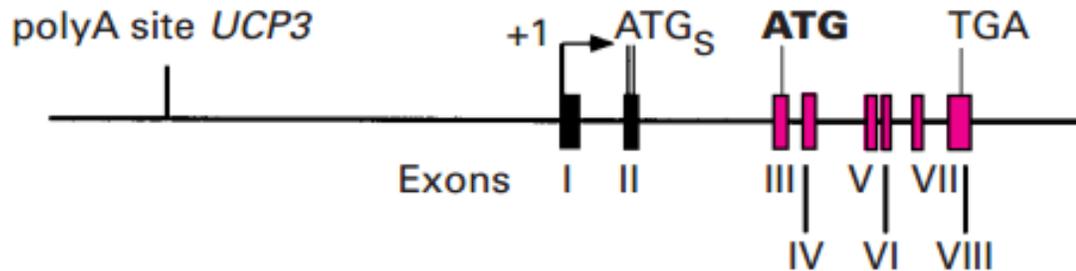


Figura 5. Gen UCP2. La posición +1 del gen UCP2 se encuentra 8.2 kb río abajo del sitio poli A del gen UCP3. Los exones se indican mediante números romanos. ATG: codón de iniciación de la traducción; TGA: codón de terminación de la traducción. Exones no codificantes se muestran en cajas negras y exones codificantes se muestran en cajas de color rosa (imagen tomada de Ricquier y Bouillaud, 2000)

Los ligandos que estimulan la actividad catalítica de la UCP2, también pueden desempeñar un papel en la expresión de la proteína, tales como ácidos grasos y ROS.

Los ácidos grasos estimulan la expresión de la UCP2 a través de los receptores PPAR gamma (por sus siglas en inglés, *peroxisome proliferator-activated receptor gamma*), el cual se sabe que induce la actividad del promotor de la UCP2 vía elemento de la caja E y en ausencia de unión en la región proximal del promotor (Ricquier y Bouillaud, 2000).

La UCP2 se localiza en múltiples tejidos incluyendo el sistema inmune, TAP, TAB, músculo esquelético, corazón, riñones, páncreas, cerebro y en el hígado (Fleury et al., 1997)

La expresión de UCP2 en el músculo esquelético aumenta durante el ayuno o con el consumo de dietas bajas en calorías, situación en que la tasa metabólica basal disminuye. Los niveles de catecolaminas elevados aumentan las concentraciones de

ácidos grasos libres en el plasma, debido a que aumentan la lipólisis, y además causan un aumento en la expresión de la UCP2 (Earlanson, 2003).

La UCP2 regula la secreción de insulina esto se debe a que su acción disminuye la cantidad de ATP y la secreción de insulina (Adams, 2000). Además, bajo condiciones de estrés oxidante la expresión de la proteína aumenta, en tales circunstancias la UCP2 desempeña un papel protector por una limitación de la producción mitocondrial de ROS, y por lo tanto, la prevención de la apoptosis (Diehl y Hoek, 1999).

5.4.3 Proteína desacoplante 3 (UCP 3)

En humanos los genes UCP2 y UCP3 forman un clúster en el cromosoma 11q13, una región sinténica (son genes que se encuentran en el mismo cromosoma y muy próximos, tanto que comparten una región), que ha sido ligado a hiperinsulinemia en ratones (Gong et al., 1999).

El gen UCP3 consiste de 7 exones de aproximadamente 8.5 Kb, 6 exones codificantes y uno en el extremo 5' que no se traduce. En humanos este gen se expresa en dos variantes generadas por splicing alternativo, un transcrito codifica para la proteína larga (UCP3L, 316 aminoácidos), mientras que el otro codifica para proteína corta (UCP3S; 275 aminoácidos) deficiente del sexto dominio transmembranal (Figura 6). La variante UCP3S es generada cuando la señal de paro, localizada en el último intrón termina el mensaje de elongación prematuramente (Ricquier y Bouillaud, 2000).

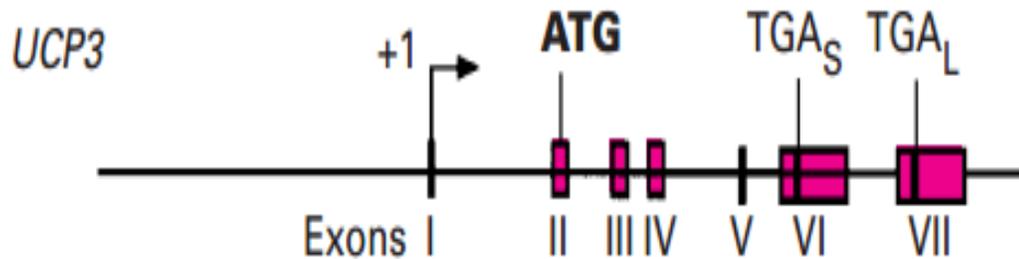


Figura 6. Gen UCP3. Los exones se indican mediante números romanos. ATG: codón de iniciación de la traducción; TGA_S: codón de terminación de la traducción de la forma corta de la UCP3; TGA_L: codón de terminación de la traducción de la forma larga de la UCP3. Exón no codificante se muestra en caja negra y exones codificantes se muestran en cajas de color rosa (imagen tomada de Ricquier y Bouillaud, 2000).

En la región proximal a 5' del gen de la UCP3 tiene una secuencia potencial para elementos reguladores como MyoD (proteína de diferenciación miogénica; regula la diferenciación del tejido muscular), MEF2 (factor potenciador de los miocitos, factor de transcripción que regula el desarrollo muscular). El PPAR y los receptores para hormonas tiroideas que son factores de transcripción, ayudan a entender los patrones de expresión músculo específico de la UCP3 (Nabben y Hoeks, 2008). Actualmente, se sabe que la transcripción del gen de UCP3 es controlada por la activación de los receptores PPAR α y PPAR δ .

La región promotora de UCP3, también tiene una región para la unión de CREB (*AMPc response element-binding*, elementos de respuesta a AMPc), sugiriendo que la transcripción puede ser activada por estímulos fisiológicos que involucren a AMPc como segundo mensajero, tal como un estímulo adrenérgico. De hecho una estimulación de receptores de β -adrenérgicos afecta en cierta medida la expresión de mRNA de UCP3, esto puede deberse a que al ser activado este receptor, hay un aumento en la lipólisis, por lo que aumenta la cantidad de ácidos grasos libres en el plasma que son ligandos de

los receptores PPAR los cuales aumentan la transcripción del gen de la UCP3 (Ricquier y Bouillaud, 2000). La UCP3 se expresa en tejido músculo esquelético, TAP, células β -pancreáticas y corazón (Maedler y Haataja, 2008).

La falta de UCP3 causa el aumento de la producción de radicales libres, es por ello que se ha sugerido que la UCP3 desempeña un papel importante en la protección contra ROS.

5.5 Polimorfismos genéticos de las UCP's

Las UCP's han sido implicadas con las enfermedades coronarias, diabetes, obesidad, cáncer, envejecimiento y enfermedades neurodegenerativas, ya que se ha comprobado que el estrés oxidante está implicado en el desarrollo de estas patologías (Dalle et al., 2006).

Los polimorfismos de un solo nucleótido "SNP" (Single Nucleotide Polymorphism, por sus siglas en inglés) en la región del promotor -3826G/A se ha asociado con la obesidad y otros parámetros relacionados como la reducción de los niveles de c-HDL (Matsushita et al., 2003; Ramis et al., 2004; Nakano et al., 2006; Sramkova et al., 2007), incremento de triglicéridos (Oh et al., 2004; Sale et al., 2007; Hamada et al., 2009) o niveles de c-LDL e incremento en las tensiones sistólica y diastólica (Forga et al., 2003; Oh et al., 2004).

El polimorfismo en el promotor -866G/A de UCP2, se ha vinculado con una disminución de los desórdenes metabólicos y responsable del aumento de la actividad transcripcional (Akami et al., 2007). El polimorfismo-866G/A incrementa la UCP2 asociado con una disminución de la sensibilidad a la insulina, mal funcionamiento de las células β y un incremento severo de la diabetes (Esterbauer et al. 2001; Krempler, Esterbauer et al.,

2002; D'Adamo et al., 2004; Hye et al., 2008). Además, se ha relacionado este polimorfismo con la obesidad, (Esterbauer et al., 1998; Oh et al., 2004; Salopuro et al., 2009). El genotipo AA prevalece en individuos obesos, hipertensos y con eventos de la enfermedad arterial coronaria (Dhamrait et al., 2004; Oberkofler et al., 2005; Palmer et al., 2009).

Se ha observado que una mutación en el aminoácido 55 del exón 4 del gen de la UCP2 parece implicada en el desarrollo precoz de la obesidad (Wang, Huang et al. 2007), en la susceptibilidad a la diabetes mellitus tipo 2 en asiáticos (Souza et al., 2013) y el incremento en los eventos cardiovasculares por la una alteración en la disfunción de la proteína (Gioli et al., 2013). Esta mutación consiste en la substitución de una alanina por una valina (Ala55Val). Otros autores también han determinado que pacientes adultos con el genotipo Alanina/Alanina (Ala/Ala) del gen de UCP2 con la mutación Ala55Val, presentan una mayor predisposición en desarrollar obesidad (Chen et al., 2007). Sin embargo, otros autores han descartado esta implicación del gen de la UCP2 con la obesidad (Berentzen et al., 2005).

El SNP -55C/T en la región promotora del gen UCP3 está relacionado con la obesidad y diabetes mellitus tipo 2 (Schrauwen et al., 1999; Meirhaeghe et al., 2000, De Souza et al., 2013), disminución en los niveles de c-HDL (Hamada et al., 2008) y con el riesgo de EAC. El alelo T se ha asociado con la reducción de la disminución de la incidencia de la obesidad y un incremento de los niveles c-HDL en una población japonesa (Hamada et al 2008), por lo que posiblemente este participando en la disminución de los eventos cardiovasculares (Franceschini et al., 1991).

5.6 Expresión de las UCP's

En un estudio en el tejido adiposo pardo humano se determinó un incremento en los niveles de expresión del mRNA de la UCP1, por una alta ingesta de calorías (Mangareto et al., 2001). Por otro lado, en el TAB se ha establecido una correlación entre el incremento de los niveles de expresión del gen UCP2 con el índice de masa corporal (Millet et al., 1997), es decir con la disminución de la adiposidad acompañado de la disminución de ácidos grasos. El incremento de ácidos grasos libres intracelular en estado de ayuno puede llevar al incremento de la expresión del gen de UCP2 (Pinkney et al., 2000). Otros autores demostraron que hay una asociación entre el alelo A del polimorfismo -866 G/A y el incremento de la expresión en tejido adiposo, disminuyendo la obesidad (Esterbauer et al., 2001). Por otro lado, en pacientes diabéticos el alelo G está asociado con el incremento de la expresión de la UCP2 en musculo esquelético (Beitelshees et al., 2010).

Se conoce que los ácidos grasos actúan en la regulación de la transcripción de la expresión de genes relacionados con los lípidos en el tejido adiposo, se ha reportado que las concentraciones fisiológicas de ácidos grasos monoinsaturados y polinsaturados regulan los niveles de mRNA en pre-adipocitos 3T3-L1, mientras que, los ácidos grasos de la dieta pueden ser posibles reguladores de la expresión de UCP2 (Fakuda et al., 2005).

El incremento de la expresión del mRNA de la UCP3 se ha relacionado con el incremento en la tasa metabólica durante el sueño y reducción del IMC. En la población Pima, en los individuos obesos que presentaron el alelo C se asocio en el músculo esquelético con un aumento en la expresión del mRNA de la UCP3 (Schrauwen et al., 1999). En otro

estudio, se observó un incremento de los niveles de expresión de mRNA de la UCP3 en tejido pardo, por una alta ingesta de calorías (Mangareto et al., 2001).

6 JUSTIFICACIÓN

El tejido adiposo es el principal sitio de almacenamiento de energía a largo plazo y es también el emisor de señales metabólicas centrales y periféricas capaces de regular la movilización de lípidos (Cannon y Nedergaard, 2004).

La acumulación regional de grasa en los depósitos viscerales es el factor predictivo de riesgo cardiovascular más fiable que la cantidad total de grasa corporal. Por tanto, la adiposidad abdominal es un factor de riesgo de infarto agudo de miocardio. El tejido adiposo epicárdico constituye una parte importante de la grasa visceral con una intensa actividad metabólica. Permanece poco claro si el tejido adiposo epicárdico tiene un papel causal en el desarrollo de aterosclerosis coronaria. Inclusive, se podría argumentar que la relación entre ambos es inversa, es decir, que la cantidad de tejido adiposo epicárdico depende del grado de aterosclerosis de la vasculatura adyacente, debido a la inflamación vascular local y los cambios post-isquémicos (Ding et al., 2009).

Las UCP's influyen en el metabolismo de los lípidos y en la regulación de la generación de ROS, que generan un estado de estrés oxidante que está implicado en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, diabetes, obesidad, cáncer, envejecimiento (Dalle et al., 2006). Además, existen pocos estudios de asociación de polimorfismo y expresión génica en tejido adiposo epicardio de humano.

Los niveles de expresión de las UCP's se ven afectados por sus variantes y posiblemente este alterando el perfil lipídico y la regulación de la generación de ROS, pudiendo favorecer el desarrollo de diabetes mellitus, obesidad y enfermedad de arterial coronaria

(EAC) (Salopuro et al., 2009). Los polimorfismos de las UCP's en el tejido adiposo epicárdico, podrían ser un marcador de susceptibilidad o resistencia a padecer EAC.

7 OBJETIVOS

7.1 Objetivo General

Determinar la expresión de UCP1, UCP2 y UCP3 con variantes polimórficas, en tejido adiposo epicárdico de pacientes con EAC sometidos a cirugía de revascularización coronaria en comparación con los sujetos con cirugía de reemplazo valvular.

7.2 Objetivo particulares

- Evaluar la expresión de las UCP's en tejido adiposo de la región epicárdica y mediastina en la población de estudio.
- Evaluar la frecuencia alélica de los polimorfismos de UCP1, UCP2 y UCP3 de pacientes con EAC sometidos a cirugía de revascularización coronaria (casos) y compararlos con sujetos con cirugía de reemplazo valvular (control).
- Determinar si las variantes alélicas se asocian a un mayor riesgo de presentar EAC en la población mexicana.
- Evaluar si el nivel de expresión de UCP's, está asociado con diabetes, IMC y/o dislipidemia, que puedan estar involucrados en la incidencia de EAC.

8 HIPÓTESIS

Los pacientes con EAC sometidos a cirugía de revascularización coronaria, presentarán diferencias en la frecuencia alélica de los polimorfismos y aumento en la expresión de las

UCP's que intervienen en el metabolismo de los lípidos en comparación a los sujetos control.

9 MATERIALES Y MÉTODOS

9.1 Cálculo de la muestra

Se calculó las proporciones en muestras independientes.

$$pq \left[\frac{Z_{\alpha} + Z_{\beta} \sqrt{\frac{p_i q_i}{pq}}}{(p_i - p_o)} \right]^2 \quad \text{Sujetos} = 79$$

Poder estadístico 90% $p > 0.05$.

Se calculó a partir de una incidencia aproximada de (0.08) en los casos y en los controles de (0.02) $\Delta = 0.06$

$$(0.08)(0.92) \left[\frac{1.96 + 1.28 \sqrt{\frac{p(0.02)(0.98)}{(0.08)(0.92)}}}{((0.08) - (0.02))} \right]^2$$

9.2 Población de estudio

9.2.1 Tipo de estudio

Observacional y comparativo

9.2.2 El diseño experimental "casos y controles"

El tamaño de la muestra fue de 166 pacientes intervenidos quirúrgicamente: 60 pacientes con EAC y 106 con remplazo valvular (grupo control). El tamaño de muestra se calculó tomando en cuenta que en el Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" en el último año se realizaron 120 cirugías de revascularización coronaria y un total de 155 pacientes fueron sometidos a cirugía de remplazo valvular.

9.3 Sujetos de estudio

De acuerdo con el cálculo de tamaño de muestra, el grupo de pacientes incluyó al menos 166 individuos mexicanos, no relacionados entre sí, que ingresaron al Departamento de Cirugía del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez” con diagnóstico de alguna enfermedad arterial coronaria o de cambio valvular.

9.3.1 Grupo de casos

9.3.1.1 Criterios de inclusión

- ✓ Pacientes con diagnóstico de EAC estable.
- ✓ Infarto al miocardio.
- ✓ Angioplastia.
- ✓ Estenosis coronario mayor de 50% determinada por angiografía.
- ✓ Pacientes programados para cirugía de revascularización de arterias en el Departamento de Cirugía del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”.
- ✓ Pacientes de ambos géneros con EAC.
- ✓ Edad al diagnóstico menor de 70 años, que no hayan presentado eventos cardiovasculares agudos en los tres meses previos al estudio.

9.3.1.2 Criterios de exclusión

- ✓ Presencia de insuficiencia cardíaca congestiva.
- ✓ Enfermedad hepática, renal u oncológica.
- ✓ Distiroidismo no tratado.
- ✓ Procesos infecciosos y aquellos con tratamiento de corticoesteroides.

9.3.2 Grupo control

9.3.2.1 Criterios de inclusión

- ✓ Pacientes con lesiones de válvulas cardíacas no relacionadas con lesiones aterosclerosas.
- ✓ Pacientes de ambos géneros, edad similar a los pacientes con EAC y con angiografía coronaria normal en el preoperatorio.

9.3.2.2 Criterios de exclusión

- ✓ Los criterios de exclusión fueron los mismos que para el grupo con EAC.
- ✓ Participaron únicamente los individuos que después de conocer las características del estudio aceptaron y firmaron la forma de consentimiento informado.

En todos los participantes se aplicaron cuestionarios estandarizados para obtener información demográfica, nivel de escolaridad, ingreso económico, historia familiar y personal de enfermedad cardiovascular, hábitos dietarios, actividad física, consumo de alcohol y uso de medicamentos y suplementos. La dieta habitual durante el año previo fue evaluada utilizando un cuestionario de frecuencias de consumo, diseñado y validado por el Instituto Nacional de Salud Pública. La actividad física se cuantificó mediante un cuestionario, que proporciona información sobre frecuencia, intensidad y duración de la actividad.

9.3.3 Antropometría

El peso se determinó en una báscula calibrada, y la talla utilizando un estadiómetro de pared SECA 222 (Hamburgo, Alemania). El índice de masa corporal (IMC) fue calculado con la fórmula peso kg/talla (m²). La circunferencia de cintura se midió con una cinta métrica de fibra de vidrio, en el punto medio de la distancia entre la parte inferior de la

última costilla y la cresta iliaca. La tensión arterial se midió en posición sedente, después de por lo menos cinco minutos de reposo, utilizando un esfigmomanómetro digital WelchAllyn, series 52000 (Skaneateles Falls, E.U.A.), y la media de las dos últimas de tres mediciones consecutivas se utilizó en el análisis.

9.4 Determinación de perfil de lípidos

En ayuno de 12 h y después de reposo durante 20 min en posición sedente, se colectó 5 mL de sangre venosa en tubos con EDTA y en tubos sin anticoagulante. Después de centrifugar en frío, el plasma y el suero fueron divididos en alícuotas. A las alícuotas de plasma se añadió inhibidores de proteasas (Aprotinina 100 KIU/mL, Benzamidina 1mM). Todas las alícuotas fueron almacenadas a -70°C . Los lípidos, lipoproteínas y glucosa serán cuantificados en muestras frescas. Las determinaciones de colesterol total, triglicéridos y glucosa en plasma, se realizaron en un autoanalizador Hitachi 902 (Boehring Mannheim, Alemania), utilizando estuches enzimáticos comerciales (Roche Diagnostics, Mannheim Alemania y WakoChemicals, E.U.A). El colesterol de las lipoproteínas de alta densidad se determinó mediante un método enzimático homogéneo (Roche Diagnostics, Mannheim Alemania). Se realizó en el laboratorio de Endocrinología del Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez".

9.5 Obtención del tejido adiposo epicárdico y subcutáneo

Las biopsias de tejido adiposo fueron obtenidas durante la cirugía de revascularización o la valvuloplastía. Las muestras de tejido adiposo epicárdico (0.5 a 1.0 g) se tomaron de la región proximal a la arteria coronaria descendente anterior izquierda por presentar más lesiones, y la muestra de tejido adiposo mediastino se obtuvieron de la región pectoral. Ambas muestras, epicárdica y subcutánea fueron divididas en 2 porciones,

colocadas en recipientes estériles con Tripure y libres de RNasas que fueron congeladas inmediatamente en nitrógeno líquido y almacenadas a -70 ° C hasta la extracción del ARN y proteína.

9.6 Estudio molecular de las proteínas desacoplantes

9.6.1 Extracción DNA

Se tomaron 5 mL de cada individuo en tubos tipo Vacutainer con EDTA como anticoagulante. Se separaron los glóbulos blancos de sangre total mediante la lisis de los eritrocitos con una solución hipotónica de cloruro de sodio. Posteriormente, el paquete de leucocitos se incubo con SDS al 10% (P/V) y con proteínasa K (10 mg/mL) a 37 °C durante toda la noche para su digestión enzimática. La extracción de DNA se realizó con la técnica de expulsión salina (Anexo). El DNA se cuantifico a una longitud de onda de 260/280 en un espectrofotómetro (*BioPhotometer plus*).

9.6.2 Determinación de los polimorfismos

La determinación de los distintos polimorfismos se realizaron utilizando sondas TaqMan en un equipo de PCR en tiempo real (7300 Real Time PCR System, E.U.A.). Las sondas TaqMan fueron sintetizadas por la compañía AppliedBiosystems (E.U.A). Los alelos fueron asignados por medio de un programa de discriminación alélica incluido en los equipos de PCR en tiempo real (7300 System SDS v 1.3.1).

Se utilizaron 6 µL de una mezcla de TaqMan 20X universal PCR master mix en un volumen de reacción de 10 µL a una concentración final de 10 ng de DNA, 700 nM de iniciadores y 100 nM de sonda marcada con fluorocromo (FAM o VIC). Las condiciones de la reacción fueron de 10 min a 95 °C y 40 ciclos a 95 °C por 15 segundos y 1 minuto

a 60 °C. Los niveles de fluorescencia de los productos de la PCR fueron cuantificados usando un programa específico.

9.6.2.1 Sitios polimórficos analizados

Los polimorfismos se seleccionaron considerando los reportes previamente publicados de asociación entre los polimorfismos de estas proteínas con factores de riesgo de EAC y eventos cardiovasculares, así como con otros padecimientos asociados con EAC en otras poblaciones. Después se revisó en el HapMap las frecuencia reportadas en otras poblaciones y solo incluimos aquellos polimorfismos cuya frecuencia del alelo menor (MAF del inglés, minor allele frequency) fuera mayor a 1%.

Se amplificaron los sitios de interés de las UCP´s utilizando los respectivos iniciadores de acuerdo a los parámetros de la tabla 3:

Tabla 3. Polimorfismos analizados

UCP	Localización cromosómica	Polimorfismo	Iniciadores	Ubicación	Cambio de alelo
1	4q28q31	rs1800592	TGTAGAACACATTAACAAATGCACT[G/A]GATCAAACGTGGTCAATCAGAAAT	Promotora	G/A
2	11q13	rs660339	CATCACACCGCGGTACTGGGCGCTG[C/T]CTGTAGCGCGCACTGGCCCCTGACT	Exón 4	C/T
		rs659366	TGACCCGTCTGTGGGGTAACTGA[G/A]GCGTGAACAGCCAACAATTGGGCCC	Promotora	G/A
3	11q13	rs1800849	GGCTTGGCACTGGTCTTATACACAC[C/T]GGCTGACCTGAAACCTTATCCTAGA	Promotora	C/T

9.6.3 Expresión de UCP del tejido adiposo epicárdico y mediastino

El RNA total del tejido adiposo tanto de la región del epicárdica como mediastino se aisló utilizando el reactivo Tripure™ (Roche Molecular Biochemicals), N-Lauroylsarcosine sodium salt al 1% (Sigma, E.U.A.) y por medio de RNasy Lipid Tissue Mini Kit (QIAGEN,

E.U.A.). Los niveles del mARN fueron analizados usando PCR en tiempo real (7300 Real Time PCR System), como control endógeno se utilizó el gen HPRT y los genes de estudio UCP1, UCP2 y UCP3. La cuantificación del mARN se hizo por el método de Pfaffl, utilizando la Ct de nuestros genes de estudio (UCP1, UCP2 y UCP3) y del gen endógeno (Pfaffl, 2001).

10 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las frecuencias tanto alélicas como genotípicas de las variantes de la UCP`s se obtuvieron por conteo directo. Se realizó la prueba de X^2 , con la comparación de las frecuencias observadas y esperadas, mediante la fórmula $(p+q)^n$ donde p y q representan las frecuencias de dos alelos alternativos en un gen (donde $p+q=1$) y $n=2$ que representa el par de alelos de la posición en el gen autosómico, para determinar si las variantes individuales estaban en equilibrio de Hardy Weinberg en cada loci en la población.

La fuerza de asociaciones se calculó por la razón de momios (OR), para lo cual se realizó una tabla de contingencia de 2X2, también se realizó la prueba de X^2 para determinar la significancia estadística de la asociación. Un valor de $p < 0.05$ fue considerado significativo.

Los datos se expresaron como el promedio \pm desviación estándar y las frecuencias como porcentajes. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para evaluar cómo se encontraban las características clínicas en nuestro grupo control en comparación al grupo de EAC Se realizó un ANOVA con una $p < 0.05$ para evaluar el efecto de los genotipos de las UCP`s sobre las características clínicas, posteriormente prueba de Post Hoc: Tukey para la comparación entre los genotipos del mismo grupo (Control o EAC) y para

la comparación de los genotipos entre los grupos de estudio se realizó una prueba de Levene. Un valor de $p < 0.05$ fue considerado significativo. Todos los datos análisis se realizaron con el programa estadístico SPSS v.17.

11 RESULTADOS

11.1 Equilibrio de Hardy-Weinberg

Para determinar si nuestra población se encontraba en equilibrio de Hardy-Weinberg, se realizó una prueba de X^2 (Tabla 4). El cálculo de las frecuencias genotípicas y alélicas se realizó por conteo directo. Se observó que solo 2 de las cuatro polimorfismos estudiados (UCP1 -3826 A/G, UCP2 320 C/T) se encontraron en equilibrio con una $X^2=0.074$, $p=0.05$ y $X^2=0.448$ $p=0.25$, respectivamente.

Tabla 4. Frecuencias genotípicas observadas y esperadas en la población de estudio.

Genotipo	UCP1 -3826 A/G		UCP2 -866 A/G		Genotipo	UCP2 320 C/T		UCP3 -55 C/T	
	F.O. (%)	F.E (%)	F.O (%)	F.E (%)		F.O (%)	F. E (%)	F.O (%)	F.E (%)
AA	27	33	22	24	TT	1	17	71	72
GA	62	49	54	50	CT	82	49	28	26
GG	11	18	24	26	CC	18	34	1	2
P	0.05		0.005*			0.25		0.005 *	
X^2	0.074		0.007			0.448		0.010	
F.O: Frecuencia observada; F.E: Frecuencia Esperada									

11.2 Características clínicas de la población total de estudio.

Los datos se muestran como el promedio \pm desviación estándar de las características clínicas y las variables nominales (género, alcoholismo, tabaquismo, HTA y diabetes) se expresan como valores porcentuales.

En la tabla 5 se muestran las características clínicas de la población total de estudio donde la edad promedio fue de 53.7 ± 14.9 años, el IMC fue 26.0 ± 3.8 indicando sobrepeso y el 85.4 % de la población de estudio fueron hombres. La HTA en nuestra población total tuvo una incidencia del 44.6% mismos que se encontraban en tratamiento con anti-hipertensivos, reflejando valores normales de la presión sistólica (116.3 ± 12.4 mmHg) y diastólica (71.5 ± 9.0 mmHg).

En nuestra población total de estudio los valores del perfil lipídico fueron: c-HDL fue de 37.7 ± 10.9 mg/dL, colesterol total (171.6 ± 58.4 mg/dL), triglicéridos (170.9 ± 210.9 mg/dL) y c-LDL (102.6 ± 37.8 mg/dL) los cuales que se encontraron los valores dentro de los parámetros considerados de no riesgo (Tabla 1), cabe mencionar que el 25.6% de nuestra población en general estaba en tratamiento con estatinas. Además, la incidencia de la diabetes en nuestra población fue de 19.6% de los cuales el 14.7% estaban en tratamiento con hipoglucemiantes, y de acuerdo a lo anterior el nivel de glucosa fue de 109.9 ± 30.2 mg/dL.

Tabla 5. Características clínicas de la población total de estudio.

Características clínicas	(n=156)
Edad (años)	53.7 ± 14.9
Peso (Kg)	70.3 ± 11.7
Talla (m)	1.6 ± 0.08
IMC	26.0 ± 3.8
Hombres % (n)	85.4 (134)
Mujeres % (n)	14.6 (23)
TAD (mmHg)	71.5 ± 9.0
TAS (mmHg)	116.3 ± 12.4

Tabaquismo % (n)	44.9 (70)
Alcoholismo % (n)	24.8 (39)
HTA % (n)	44.6 (70)
Diabetes % (n)	19.6 (31)
Estatinas % (n)	25.6 (40)
Antihipertensivos % (n)	44.6 (70)
Hipoglucemiantes % (n)	14.7 (23)
Colesterol Total (mg/dL)	171.6 ± 58.4
Triglicéridos (mg/mL)	170.9 ± 210.6
c-HDL (mg/dL)	37.7 ± 10.9
c-LDL (mg/dL)	102.6 ± 37.8
Glucosa (mg/dL)	109.9 ± 30.2
Frecuencia Cardiaca	75.1 ± 14.3
Frecuencia Respiratoria	16.7 ± 2.2
IMC: Índice de Masa corporal; TA: Tensión Arterial; HTA: Hipertensión Arterial; c-HDL: colesterol de lipoproteínas de alta densidad; c-LDL: colesterol de lipoproteínas de baja densidad.	

Posteriormente, se hizo el análisis de las características clínicas, dividido de acuerdo al tipo de cirugía: reemplazo valvular que son los controles (n=101) y grupo de revascularización coronaria que conforman el grupo caso (n=56) con diagnóstico de EAC para poder observar cómo se encontraba nuestro grupo control con respecto al grupo de EAC.

En la tabla 6 se muestran las características clínicas divididas por grupo. Se encontraron diferencia significativa ($p < 0.05$) en alcoholismo, tabaquismo, diabetes, TAD, triglicéridos y glucosa entre los dos grupos de estudio. En el grupo de EAC hubo un incremento en la mayoría de los valores de las características clínicas en comparación al grupo control.

En el grupo de EAC el nivel de glucosa (120.2 ± 35.0 mg/dL) y triglicéridos (221.8 ± 337.8 mg/dL) se encuentran arriba del valor considerando normal (Tabla 1).

Tabla 6. Características clínicas por grupo de estudio

Características (n=157)	Control (n=101)	EAC (n=56)	P
Edad (años)	50.3 \pm 16.0	59.9 \pm 9.8	NS
IMC	26.0 \pm 4.1	26.2 \pm 3.4	NS
Hombres % (n)	84.2 (85)	87.5 (49)	NS
Mujeres % (n)	15.8 (16)	12.5 (7)	NS
TAD (mmHg)	70.5 \pm 8.6	73.5 \pm 9.5	0.045
TAS (mmHg)	114.9 \pm 10.6	118.7 \pm 14.8	NS
Tabaquismo % (n)	34.7 (35)	63.6 (35)	0.000
Alcoholismo % (n)	19.8 (20)	33.9 (19)	0.050
HTA % (n)	41.6 (42)	50.0 (28)	NS
Diabetes % (n)	12.9 (13)	32.1 (18)	0.003
Estatinas % (n)	8.9 (9)	58.9 (33)	0.000
Antihipertensivos % (n)	41.6 (42)	50.0 (28)	NS
Hipoglucemiantes % (n)	9.9 (10)	23.2 (13)	0.024
Colesterol Total (mg/dL)	168.0 \pm 45.6	177.9 \pm 76.3	NS
Triglicéridos (mg/mL)	142.8 \pm 64.8	221.8 \pm 337.8	0.024
c-HDL (mg/dL)	39.1 \pm 12.0	35.3 \pm 7.9	NS
c-LDL (mg/dL)	102.3 \pm 33.6	103.3 \pm 45.0	NS
Glucosa (mg/dL)	104.1 \pm 25.6	120.2 \pm 35.0	0.001
*ANOVA p<0.05. TAD: tensión arterial diastólica. TAS: tensión Arterial Sistólica; IMC: Índice de masa corporal; HTA: hipertensión arterial; c-HDL: colesterol de lipoproteína de alta densidad; c-LDL: colesterol de lipoproteína de baja densidad. NS: No significativo.			

Se hizo una regresión logística ($p < 0.05$) para conocer la influencia del tratamiento con estatinas en los niveles de colesterol total, triglicéridos, c-LDL y c-HDL, de la misma manera se realizó el análisis para el tratamiento de antihipertensivos en la relación a la incidencia de la HTA y los valores de presión sistólica y diastólica y, por último el análisis entre hipoglucemiantes, el valor de glucosa y la incidencia de la diabetes, se hizo el análisis tanto en nuestro grupo de estudio control y grupo de EAC. En todos los análisis realizados no hubo diferencias significativas, por tanto no se consideraron estos tratamientos en los siguientes análisis.

Posteriormente, se analizó las características clínicas de cada grupo de estudio (controles-valvulares vs casos-EAC) de acuerdo al genotipo de cada uno de los polimorfismos estudiados (UCP1 -3826 A/G, UCP2 -866 G/A y A55V, UCP3 -55 C/T) para poder conocer si existía una asociación entre las características clínicas con los polimorfismos.

11.2.1 UCP 1 -3826 A/G

Para el polimorfismo -3826 A/G de la UCP1 (Tabla 7) se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en los siguientes parámetros: el genotipo AA se halló valores menores de la TAS y en la incidencia del alcoholismo en comparación a los otros dos genotipos (AA: 113.7 ± 6.3 mmHg vs AG: 115.9 ± 10.4 mmHg; GG: 122.6 ± 22.3 mmHg) y (AA: 11.8% vs AG: 25%; GG: 45.5%).

Tabla 7. Características clínicas de la población en general por genotipo UCP1 para el polimorfismo -3826 A/G.

Genotipo UCP1 -3826	AA	AG	GG
n=154	n=35	n=96	n=23
Edad (años)	53.9 ± 14.9	54.0 ± 15.2	53.8 ± 11.7
Mujeres % (n)	14.7 (5)	16.0 (16)	9.1 (2)
Hombres % (n)	85.3 (29)	84.0 (84)	90.9 (20)
IMC	25.5 ± 3.5	26.2 ± 4.1	26.7 ± 3.3
TAD (mmHg)	70.1 ± 6.6	71.1 ± 9.3	73.4 ± 11.0
TAS (mmHg)	113.7 ± 6.3*	115.9 ± 10.4	122.6 ± 22.3
HTA % (n)	38.2 (13)	45.0 (45)	50.0 (11)
Diabetes % (n)	20.6 (7)	17.0 (17)	31.8 (7)
Tabaquismo % (n)	38.2 (13)	44.4 (44)	59.1 (13)
Alcoholismo % (n)	11.8 (4)*	25.0 (25)	45.5 (10)
Estatinas % (n)	23.5 (8)	28.0 (28)	27.3 (6)
Antihipertensivos % (n)	38.2 (13)	74.0(74)	50.0(11)
Hipoglucemiantes % (n)	11.8(4)	16.0(16)	13.6(3)
Colesterol total (mg/dL)	171.0 ± 45.5	172.9 ± 64.8	165.1 ± 46.4
Triglicéridos (mg/dL)	147.0 ± 62.2	177.2 ± 258.3	180.6 ± 87.9
c-HDL (mg/dL)	37.4 ± 10.5	38.2 ± 11.5	35.4 ± 7.4
c-LDL (mg/dL)	104.8 ± 35.3	104.2 ± 39.4	92.0 ± 35.4
Glucosa (mg/dL)	105.6 ± 24.0	109.8 ± 31.6	116.9 ± 32.7
IMC: índice de masa corporal; TAS: tensión arterial sistólica; TAD: tensión arterial diastólica; HTA: hipertensión arterial. p<0.05, t-student *AA vs GG.			

En la tabla 8 se muestra los parámetros de las características clínicas de acuerdo al grupo de estudio, las cuales fueron agrupados por genotipo, permitiendo identificar la

alteración de los valores según el tipo de grupo de estudio (control vs EAC) de acuerdo al genotipo.

Se halló en el IMC y niveles de glucosa un incremento significativo en el genotipo GG del grupo de EAC (28.3 ± 2.9 y 135.7 ± 34.0 mg/dL, respectivamente) en comparación al genotipo GG del grupo control (25.1 ± 3.0 y 98.0 ± 17.7 mg/dL, respectivamente). En nuestro grupo de EAC se observó un incremento en los valores de las características clínicas en comparación al grupo control.

Tabla 8. Comparación de las características clínicas para el polimorfismo -3826 A/G de la UCP1.

UCP1 -3826	Grupo control n=98				Grupo EAC n=55			
	AA n=27	GA n=62	GG n=11	P	AA n=7	GA n=38	GG n=11	P
Edad (años)	51.6±15.1	50.1±16.5	51.0±14.0	NS	62.7±10.4	60.3±10.1	56.5±8.7	NS
IMC	24.9±3.4	26.6±4.4	25.1±3.0 [¥]	NS	27.5±3.5	25.4±3.3	28.3±2.9 [¥]	0.025
Tabaquismo % (n)	29.6 (8)	35.5 (22)	45.5 (5)	NS	71.4 (5)	59.5 (22)	72.7 (8)	NS
Alcoholismo % (n)	11.1 (3)	19.4 (12)	45.5 (5)	NS	14.3 (1)	34.2 (13)	41.7 (5)	NS
HTA % (n)	33.3 (9)	41.9 (26)	54.5 (6)	NS	57.1 (4)	50.0 (19)	45.5 (5)	NS
Diabetes % (n)	14.8 (4)	9.7 (6)	27.3 (3)	NS	42.9 (3)	28.9 (11)	36.4 (4)	NS
Estatinas % (n)	11.1 (3)	8.1 (5)	9.1 (1)	NS	71.4 (5)	60.5 (23)	45.5 (5)	NS
Antihipertensivos % (n)	33.3 (9)	41.9 (26)	54.5 (6)	NS	57.1 (4)	50.0 (19)	45.5 (5)	NS
Hipoglucemiantes % (n)	11.1 (3)	9.7 (6)	9.1 (1)	NS	14.3 (1)	26.3 (10)	18.2 (2)	NS
TAS (mmHg)	113.3±6.0	115.7±11.8	116.4±12.1	NS	115.3±7.8	116.4±7.7	128.9±28.4 [§]	0.035
TAD (mmHg)	70.0±5.8	71.0±10.0	69.6±5.6	NS	73.0±9.3	72.4±7.9	77.4±13.7	NS
Colesterol total (mg/dL)	167.9±41.4	167.3±48.8	169.6±40.8	NS	182.9±61.2	182.0±84.7	160.5±53.1	NS
Triglicéridos (mg/dL)	142.1±65.0	134.8±56.6	189.3±93.2 [¥]	0.036	165.9±49.9	246.4±406.5	172.0±85.9	NS
c-HDL (mg/dL)	38.4±11.1	39.7±12.8	35.5±8.8	NS	33.7±7.4	35.6±8.6	35.3±8.6	NS
c-LDL (mg/dL)	101.6±30.5	103.4±35.8	96.8±32.5	NS	107.0±51.0	105.6±45.5	87.2±39.0	NS
Glucosa (mg/dL)	100.4±20.2 [*]	106.8±28.8	98.0±17.7 [¥]	NS	125.6±28.7	114.7±35.6	135.7±34.0 [¥]	NS

TAS: tensión arterial sistólica, TAD: tensión arterial diastólica, HTA: Hipertensión arterial, IMC: índice de masa corporal. p< 0.05 ANOVA comparación entre genotipos del mismo grupo, prueba Post Hoc: Prueba Tukey se compararon los genotipos del mismo grupo, [¥] GG vs AG del grupo control. [§]GG vs AG del grupo EAC. Para la comparación de los genotipos entre los grupos de estudio se realizó una Levene p<0.05; comparación: [¥]GG control vs GG EAC. NS. No significativo.

11.2.2 UCP2 -866 G/A

En cuanto al análisis del polimorfismo para el SNP -866 G/A de la UCP2 se muestra en la tabla 11 que la población que presentó el genotipo AA se encontró los valores más altos de triglicéridos, colesterol total, c-HDL y glucosa en comparación a los otros

genotipos, pero solo los niveles de glucosa (AA: 120.6 ± 34.1mg/dL) y triglicéridos (AA: 167.1 ± 121.1mg/dL) no se encontraron dentro de los parámetros considerados no de riesgo (Tabla 9). Los portadores del genotipo AA presentaron el valor más alto de HTA en comparación a los otros genotipos (AA: 64.5 % vs AG: 38.4%, GG: 35.3% con una p<0.05).

Tabla 9. Comparación de las características clínicas para el polimorfismo -866 G/A de la UCP2.

Genotipo UCP2 -866	GG	GA	AA
n=151	n=34	n=86	n=31
Edad	56.1 ± 13.7	53.8 ± 14.9	53.2 ± 14.4
Mujeres %(n)	17.6(6)	17.4(15)	6.5(2)
Hombres %(n)	82.4(28)	82.6(71)	93.5(29)
IMC	25.7 ± 2.7	26.2 ± 3.8	26.2 ± 4.9
TAD (mmHg)	71.8 ± 9.2	71.9 ± 9.3	71.7 ± 8.4
TAS (mmHg)	116.3 ± 10.4	116.5 ± 14.2	117.6 ± 8.3
HTA %(n)	35.3 (12)	38.4 (33)	64.5 (20)**
Diabetes %(n)	11.8 (4)	18.6 (16)	29.0 (9)
Tabaquismo %(n)	52.9 (18)	44.7 (38)	38.7 (12)
Alcoholismo %(n)	29.4 (10)	22.1 (19)	22.6 (7)
Estatinas %(n)	35.3 (12)	19.3 (16)	30.3 (10)
Antihipertensivos %(n)	35.3 (12)	38.4 (33)	64.5 (20)**
Hipoglucemiantes %(n)	8.8(3)	14.0(12)	25.8(8)
Colesterol total (mg/dL)	156.4 ± 46.7	171.1 ± 50.0	163.0 ± 41.5
Triglicéridos (mg/dL)	156.4 ± 62.2	151.6 ± 70.7	167.1 ± 121.1
c-HDL (mg/dL)	38.2 ± 10.8	38.1 ± 10.7	35.9 ± 10.7
c-LDL (mg/dL)	101.4 ± 38.8	104.8 ± 39.3	95.5 ± 28.3
Glucosa (mg/dL)	108.9 ± 25.7	106.4 ± 29.8	120.6 ± 34.1

IMC: Índice de masa corporal; TAS: tensión arterial sistólica; TAD: tensión arterial diastólica;
HTA: hipertensión arterial. p<0.05, t-student *AA vs GG, *AA vs GA.

En la tabla 10 se muestran las características clínicas de acuerdo al grupo de estudio, los cuales fueron agrupados por genotipo. En el grupo de EAC los individuos con el genotipo AA presentaron un incremento significativo del valor de glucosa (AA: 158.1±32.4) en comparación a los otros dos genotipos (GA: 112.7±32.7; GG: 109.9±22.9 mg/dL), además se halló un aumento significativo en la incidencia de HTA de 88.9% en el genotipo AA a comparación de los otros genotipos.

En el genotipo AA del grupo de EAC se encontró un incremento en los parámetros de diabetes (55.6%), estatinas (66.7), colesterol (189.0 ± 32.7 mg/dL), triglicéridos (227.2 ± 171.4 mg/dL) y glucosa (158.1 ± 32.4 mg/dL) en comparación al genotipo AA del grupo control. Por lo tanto el grupo de EAC se halló los valores incrementados en comparación al grupo control.

Tabla 10. Características clínicas de acuerdo al grupo de estudio del polimorfismo UCP2 -866 G/A

UCP2 -866	Grupo control n=97				Grupo EAC n=53			
	AA n=22	GA n=53	GG n=23	P	AA n=9	GA n=33	GG n=11	P
Edad (años)	49.7±14.9*	50.7±16.3	52.5±14.8	NS	61.6±9.3*	58.6±11.0	63.6±6.6	NS
IMC	27.0±5.2	25.9±3.9	25.6±2.9	NS	24.3±3.8	26.6±3.4	26.0±2.4	NS
Tabaquismo %(n)	31.8 (7)	32.1 (17)	47.8 (11)	NS	55.6 (5)	65.6(21)	63.6 (7)	NS
Alcoholismo %(n)	18.2 (4)	15.1 (8)	30.4 (7)	NS	33.3 (3)	33.3(11)	27.3 (3)	NS
HTA %(n)	54.5 (12)	39.6(21)	26.1 (6)	NS	88.9 (8) ^b	36.4(12)	54.5 (6)	0.045
Diabetes %(n)	18.2 (4)*	11.3 (6)	13.0 (3)	NS	55.6 (5)*	30.3 (10)	9.1 (1)	NS
Estatinas %(n)	9.1 (2)*	7.5 (4)	8.7 (2)	NS	66.7 (6)*	51.5(17)	72.7 (8)	NS
Antihipertensivos % (n)	54.5 (12)	39.6(21)	26.1 (6)	NS	88.9 (8) ^b	36.4(12)	54.5 (6)	0.045
Hipoglucemiantes% (n)	18.2 (4)	7.5 (4)	8.7 (2)	NS	44.4 (4)	24.2 (8)	9.1 (1)	NS
TAS (mmHg)	116.4±8.9	114.8±10.8	115.6±11.4	NS	120.8±5.5	119.2±18.3	117.8±8.2	NS
TAD (mmHg)	71.0±8.7	71.0±8.5	69.7±9.2	NS	73.3±7.7	73.2±10.6	76.2±7.8	NS
Colesterol total (mg/dL)	152.4±40.6*	170.6±47.0	178.3±46.5	NS	189.0±32.7*	171.9±55.4	151.8±43.8	NS
Triglicéridos (mg/dL)	134.3±76.7*	143.4±65.3	153.1±55.1	NS	227.2±171.4*	164.7±77.9	163.4±77.7	NS
c-HDL (mg/dL)	36.1±12.1	39.4±12.3	40.7±11.0	NS	35.2±6.3	35.8±7.4	32.7±6.3	NS
c-LDL (mg/dL)	90.3±24.6	105.5±34.1	107.5±39.7	NS	108.3±34.1	103.6±47.5	87.8±35.0	NS
Glucosa (mg/dL)	105.2±20.3*	102.4±27.4	108.4±27.4	NS	158.1±32.4* ^b	112.7±32.7	109.9±22.9	0.001

TAS: tensión arterial sistólica, TAD: tensión arterial diastólica, HTA: Hipertensión arterial, IMC: índice de masa corporal. p< 0.05 ANOVA comparación entre genotipos del mismo grupo, prueba Post Hoc: Prueba Tukey se compararon los genotipos del mismo grupo, ^bAA vs GA y GG del grupo EAC. Para la comparación entre grupos genotipos por grupo de estudio se realizó una Levene p<0.05; comparación: *AA control vs AA EAC. NS: No significativo

11.2.3 UCP3 -55 C/T

Para el polimorfismo -55 C/T de la UCP3 se muestra en la tabla 11 que hubo diferencia significativa en la incidencia de la diabetes siendo el genotipo CC el que presento el valor más bajo en comparación al genotipo CT (CC: 15.5 % vs CT: 33.3%). Los valores más altos de la mayoría de las características clínicas se hallaron en la población con el genotipo CC.

Tabla 11. Características clínicas de la población en general por genotipo para el polimorfismo UCP3 -55 C/T.

Genotipo UCP3 -55 n=156	CC n=113	CT n=42	TT n=1
Edad (años)	55.3 ± 14.6	50.2 ± 13.9	15.0 ± 0.0
Mujeres % (n)	15.9(18)	11.9(5)	0.0(0)
Hombres % (n)	84.1(95)	88.1(37)	100.0(1)
IMC	26.3 ± 3.9	26.6 ± 3.5	17.2 ± 0.0
TAD (mmHg)	71.2 ± 9.4	72.7 ± 7.9	60.0 ± 0.0
TAS (mmHg)	117.0 ± 13.6	115.0 ± 8.1	100.0 ± 0.0
HTA % (n)	47.8 (54)	33.3 (14)	100.0 (1)
Diabetes % (n)	15.0 (17)*	33.3 (14)	0.0 (0)
Tabaquismo % (n)	47.3 (53)	40.5 (17)	0.0 (0)
Alcoholismo % (n)	28.3 (32)	14.3 (6)	100.0 (0)
Estatinas % (n)	26.8 (30)	21.4 (9)	0.0 (0)
Antihipertensivos % (n)	47.8 (54)	33.3 (14)	100.0 (1)
Hipoglucemiantes %(n)	12.4(14)	21.4(9)	0.0 (0)
Colesterol total (mg/dL)	173.9 ± 63.4	166.7 ± 43.4	130.0 ± 0.0
Triglicéridos (mg/dL)	175.5 ± 244.6	162.0 ± 70.9	101.0 ± 0.0
c-HDL (mg/dL)	37.9 ± 11.3	37.4 ± 9.7	42.0 ± 0.0

c-LDL (mg/dL)	105.2 ± 40.2	97.0 ± 31.3	68.0 ± 0.0
Glucosa (mg/dL)	109.7 ± 30.5	111.3 ± 30.0	81.0 ± 0.0
IMC: Índice de masa corporal; TAS: tensión arterial sistólica; TAD: tensión arterial diastólica; HTA: hipertensión arterial. p<0.05, t-student *CC vs CT.			

Al analizar las características clínicas de acuerdo al grupo de estudio del polimorfismo UCP3 -55 C/T, se halló que en el genotipo CC del grupo de EAC presento una diferencia significativa en los parámetros de tabaquismo (63.4%), diabetes (26.3%), estatinas (57.1%), triglicéridos (235.5 ± 387.8 mg/dL) y glucosa (118.4 ± 32.5 mg/dL) en comparación al genotipo CC del grupo control. De manera general el grupo de EAC tuvo los valores más altos de los parámetros en comparación al grupo control (Tabla 12).

Tabla 12. Comparación de las características de la población en general para el polimorfismo -55 C/T de la UCP3.

UCP3 -55	Grupo control				Grupo EAC			
	n=100				n=56			
	CC	CT	TT	P**	CC	CT	TT	P**
	n=71	n=28	n=1		n=42	n=14	n=0	
Edad (años)	51.8±15.5*	47.6±16.1	15.0±0.0	NS	61.3±10.6*	55.5±5.4	0.0±0	NS
IMC	26.2±4.3	25.7±3.4	17.2±0.0	NS	26.5±3.3	25.5±3.8	0.0±0	NS
Tabaquismo % (n)	38.0 (27)*	28.6 (8)	0.0 (0)	NS	63.4 (26)*	64.3 (9)	0.0(0)	NS
Alcoholismo % (n)	22.5(16)	10.7(3)	100.0 (1)	NS	38.1(16)	21.4(3)	0.0(0)	NS
HTA %(n)	45.1(32)	28.6(8)	100.0 (1)	NS	52.4(22)	42.9(6)	0.0(0)	NS
Diabetes % (n)	8.5 (6)*	25.0 (7)	0.0 (0)	NS	26.3(11)*	50.0 (7)	0.0(0)	NS
Estatinas % (n)	7.0 (5)*	10.7 (3)	0.0 (0)	NS	57.1 (24)*	64.3 (9)	0.0(0)	NS
Antihipertensivos % (n)	45.1(32)	28.6(8)	100.0 (1)	NS	52.4(22)	42.9(6)	0.0(0)	NS
Hipoglucemiantes % (n)	9.9 (7)	10.7 (3)	0.0 (0)	NS	16.7 (7)	42.9 (6) ^ε	0.0 (0)	0.045
TAS (mmHg)	115.6±11.4	114.2±7.9	100.0±0.0	NS	119.4±16.4	116.5±8.6	0.0±0.0	NS
TAD (mmHg)	70.0±9.0	72.1±7.6	60.0±0.0	NS	73.4±9.8	73.7±8.6	0.0±0.0	NS
Colesterol total (mg/dL)	166.3±46.5	174.5±44.4	130.0±0.0	NS	186.8±83.8	151.2±38.2	0.0±0.0	NS
Triglicéridos (mg/dL)	140.0±64.5*	152.9±67.1	101.0±0.0	NS	235.5±387.8*	180.4±77.2	0.0±0.0	NS
c-HDL (mg/dL)	39.3±12.7	38.8±10.5	42.0±0.0	NS	35.5±8.0	34.7±7.7	0.0±0.0	NS
c-LDL (mg/dL)	102.5±35.2	102.8±30.6	68.0±0.0	NS	109.9±48.0	85.2±30.5	0.0±0.0	NS
Glucosa (mg/dL)	104.6±28.3*	104.1±18.1	81.0±0.0	NS	118.4±32.5*	125.7±42.5	0.0±0.0	NS

TAS: tensión arterial sistólica, TAD: tensión arterial diastólica, HTA: Hipertensión arterial, IMC: índice de masa corporal. p< 0.05 ANOVA comparación entre genotipos del mismo grupo, prueba Post Hoc: Prueba Tukey se compararon los genotipos del mismo grupo, εCC grupo EAC vs GA, GG del grupo EAC. Para la comparación entre grupos genotipos por grupo de estudio se realizó una ANOVA p<0.05; comparación: *CC control vs +CC EAC. NS: No significativo

11.2.4 UCP 2 A55V

Al analizar las características clínicas del polimorfismo UCP2 A55V C/T en la población en general se halló una alta incidencia de HTA (69.2%) en los portadores que presentaron el genotipo TT en comparación a los otros genotipos. En el caso de los triglicéridos (170.3 ± 30.4mg/dL) en el genotipo CC en la población se presentó el valor más alto en comparación a los otros genotipos. Los portadores del genotipo TT tuvieron los valores más bajos del perfil lipídico en comparación a los otros genotipos (Tabla 13).

Tabla 13. Características clínicas de la población en general por genotipo UCP2 para el polimorfismo A55V.

Genotipo UCP2	CC	CT	TT
A55V	n=3	n=127	N=26
n=156			
Edad	42.7±19.6	54.0±14.8	53.9±14.8
Mujeres % (n)	0.0 (0)	16.5 (21)	7.7 (2)
Hombres % (n)	100.0 (3)	83.5 (106)	92.3 (24)
IMC	27.9±4.9	25.9±3.5	26.5±3.5
TAD (mmHg)	66.7±5.8	71.8±9.3	71.3±7.6
TAS (mmHg)	110.0±10.0	116.6±12.9	116.2±9.3
HTA %(n)	66.7 (2)	38.6 (49) ⁺	69.2 (18)
Diabetes %(n)	33.3 (1)	16.5 (21)	30.8 (8)
Tabaquismo %(n)	16.7 (1)	45.2 (57)	42.3 (11)
Alcoholismo %(n)	33.3 (1)	24.4 (31)	23.1 (6)
Estatinas %(n)	33.3 (1)	26.0 (33)	26.9 (7)
Antihipertensivos %(n)	66.7 (2)	38.6 (49) ⁺	69.2 (18)

Hipoglucemiantes %(n)	33.3(1)	11.8(15) ⁺	30.8(8)
Colesterol total (mg/dL)	171.3±31.1	168.6±47.9	169.3±44.8
Triglicéridos (mg/dL)	170.3±30.4 [*]	157.4±82.6	144.0±74.9
c-HDL (mg/dL)	37.7±17.8	37.6±10.8	37.7±9.9
c-LDL (mg/dL)	99.7±15.0	102.3±38.1	99.7±31.4
Glucosa (mg/dL)	119.0±41.8	107.3±29.1	120.5±33.3
IMC: Índice de masa corporal; TAS: tensión arterial sistólica; TAD: tensión arterial diastólica; HTA: hipertensión arterial. p<0.05, t-student *CC vs CT, *CT vs TT.			

En cuanto a las características clínicas de acuerdo al grupo de estudio en este polimorfismo se halló en el genotipo TT del grupo de EAC una diferencia significativa en los parámetros de glucosa (158.0±32.0 mg/dL) HTA (100.0%), diabetes (62.5%), estatinas (62.5%) y antihipertensivos (100.0%) en comparación al genotipo TT del grupo control. En el grupo de EAC presento un incremento en los valores en comparación al grupo control, especialmente en el perfil lipídico (Tabla 14).

Tabla 14. Comparación de las características clínicas para el polimorfismo A55V de la UCP2 de acuerdo al genotipo.

UCP2 A55V	Grupo control				Grupo EAC			
	n=101				n=55			
	CC n=1	CT n=82	TT n=18	P	CC n=2	CT n=45	TT n=8	P
Edad (años)	20.0±0.0	50.6±15.9	50.6±16.0	NS	54.0±0.0	60.0±10.3	61.4±8.9	NS
IMC	23.4±0.0	25.7±3.6	27.4±5.7	NS	30.1±4.4	26.3±3.2	24.7±4.1	NS
Tabaquismo % (n)	0.0 (0)	35.4 (29)	33.3 (6)	NS	50.0 (1)	63.6 (28)	62.5(5)	NS
Alcoholismo % (n)	100.0 (1)	19.5(16)	22.2 (4)	NS	50.0 (1)	33.3 (15)	25.0 (2)	NS
HTA % (n)	100.0 (1)	37.8(31)	55.6 (10)¥	NS	50.0 (1)	40.0 (18)	100.0 (8) ¥	NS
Diabetes % (n)	0.0 (0)	12.2 (10)	16.7 (3) ¥	NS	50.0 (1)	24.4 (11)	62.5 (5) ¥	NS

Estatinas % (n)	0.0 (0)	8.5 (7)	11.1 (2) ¥	NS	50.0 (1)	57.8 (26)	62.5 (5) ¥	NS
Antihipertensivos % (n)	100.0 (1)	37.8(31)	55.6 (10) ¥	NS	50.0 (1)	40.0 (18)	100.0 (8) ¥	NS
Hipoglucemiantes % (n)	0.0 (0)	7.3 (6)	16.7 (3)	NS	0.0 (0)	20.0 (9)	50.0 (4)	NS
TAS (mmHg)	100.0±0.0	115.3±10.7	114.1±9.9	NS	115.0±7.1	118.9±16.1	120.9±5.9	NS
TAD (mmHg)	60.0±0.0	70.6±8.8	70.6±8.0	NS	70.0±0.0	74.0±10.0	73.1±6.7	NS
Colesterol total (mg/dL)	201±0.0	168.8±45.8	162.8±46.3	NS	156.5±24.7	168.3±52.2	183.8±40.3	NS
Triglicéridos (mg/dL)	145.0±0.0	146.0±62.8	128.1±75.1	NS	183.0±29.7	161.7±110.0	179.6±66.0	NS
c-HDL (mg/dL)	57.0±0.0	39.1±12.1	36.9±6.4	NS	28.0±8.5	34.8±7.1	36.9±6.4	NS
c-LDL (mg/dL)	115.0±0.0	103.6±34.8	95.5±28.6	NS	92.0±9.9	99.7±44.1	109.0±37.3	NS
Glucosa (mg/dL)	105.0±0.0	104.2±27.5	103.8±34.8¥	NS	126.0±56.6	113.0±31.3	158.0±32.0¥ ^z	0.003
<p>TAS: tensión arterial sistólica, TAD: tensión arterial diastólica, HTA: Hipertensión arterial, IMC: índice de masa corporal. p< 0.05 ANOVA comparación entre genotipos del mismo grupo, prueba Post Hoc: Prueba Tukey se compararon los genotipos del mismo grupo, ^zAA grupo control vs GA y GG del grupo control. Para la comparación entre grupos genotipos por grupo de estudio se realizó una Levene p<0.05; comparación: ¥TT control vs TT EAC. NS: No significativo.</p>								

11.3 Frecuencia alélicas y genotípicas de las UCP's

En la tabla 15 se muestra las frecuencias tanto alélica como genotípicas de cada uno de los polimorfismos estudiados (UCP1 -3826, UCP2 -866 y A55V, UCP3 -55) de nuestra población de estudio, divididas por grupo (control y EAC) para evaluar la asociación de cada polimorfismo con la EAC mediante un test de la X^2 y calculando la razón de momios (OR) de cada genotipo (la frecuencia está presentada en %). Se encontró diferencia significativa en el genotipo CC ($p= 0.025$) del SNP A55V de UCP2.

Tabla 15. Frecuencias genotípicas y alélicas de los SNP's por grupo de estudio.

	Genotipo			Alelo	
UCP1 -3826 A/G	AA	AG	GG	A	G
Control n=100	27	62	11	58	42
EAC n=56	13	67	20	46	54
OR 95%(IC)	0.26(0.55-2.88)	0.61(0.41-0.92)	1.0(0.43-2.3)	0.62(0.35-1.08)	1.62(0.93-2.83)
P	0.50	0.25	0.25	0.25	0.10
UCP2 -866 G/A	AA	AG	GG	A	G
Control n=98	22	54	24	49	51
EAC n=53	17	62	21	48	52
OR 95%(IC)	0.77(0.42-1.41)	0.97(0.68-1.38)	0.88(0.49-1.58)	0.96(0.55-1.67)	1.04(0.60-1.81)
P	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
UCP2 A55V C/T	CC	CT	TT	C	T
Control n=101	1	81	18	42	58
EAC n=55	4	82	14	45	55
OR 95%(IC)	4.0(0.44-35.8)	1.01(0.74-1.37)	0.78(0.39-2.79)	1.13(0.65-1.98)	0.89(0.51-1.55)
P	0.025*	0.25	0.25	0.25	0.25
UCP3 -55 C/T	CC	CT	TT	C	T
Control n=100	71	28	1	85	15
EAC n=56	75	25	0	88	12
OR 95%(IC)	1.06(0.77-1.46)	0.89(0.52-1.52)	0.0(0)	1.3(0.57-2.92)	0.77(0.34-1.75)
P	0.25	0.25		0.25	0.25
OR: Razón de momios, X² p<0.05*					

Posteriormente se determinó el tipo de herencia de cada polimorfismo estudiado (UCP1 -3826 A/G, UCP2 -866 G/A, UCP2 A55V, UCP3 C/T) en nuestra población (Tabla 16), de acuerdo a una modelación y con la aplicación de un programa estadístico (MedCalc) donde obtuvo la odds ratio (OR) con un IC de 95% y una $p < 0.05$. Cada individuo posee una pareja de alelos, el riesgo asociado con cada genotipo puede depender del número de copias de un alelo u otro. De acuerdo con la OR: 0.39 y IC 95%: 0.16-0.95 con una significancia de 0.04, nos indica que el polimorfismo UCP1 -3826 A/G presenta una herencia dominante en la población estudio, en el polimorfismo UCP2 -866 G/A de acuerdo a la OR: 0.66 y IC al 95%: 0.27-1.60 con una $p > 0.354$, indica que posiblemente se trata de una herencia codominante, en el polimorfismo UCP2 A55V la OR: 0.78 IC al 95%: 0.32-1.94 con una $p > 0.600$, nos indica que posiblemente se trata de una herencia recesiva y por último en el polimorfismo de UCP3 -55 C/T la OR: 0.85 IC al 95%: 0.40-1.78 con una $p > 0.659$, nos indica que posiblemente se trata de una herencia codominante.

Tabla 16. Tipo de herencia de nuestros polimorfismos en la población de estudio.

	Herencia	Genotipos	Control		Casos		OR IC 95%	p
			N	%	N	%		
UCP 1 -3826 A/G	Codominancia	AA	27	27	7	13	1	
		AG	62	62	38	68	0.42(0.17-11.07)	0.068
		GG	11	11	11	19	1.63(0.64-4.13)	0.301
	Dominancia	AA	27	27	7	13	1	
		AG+GG	73	73	49	87	0.39(0.16-0.95)	0.040*
	Recesividad	GG	89	89	45	81	1	
	AA+AG	11	11	11	19	1.98(0.80-4.91)	0.142	
UCP2 -866 G/A	Codominancia	AA	22	22	9	17	1	
		AG	53	54	33	62	0.66(0.27-1.60)	0.354
		GG	23	24	11	21	0.77(0.33-1.78)	0.538
	Dominancia	AA	22	22	9	17	1	
		AG+GG	76	76	44	83	0.71(0.30-1.67)	0.429

	Recesividad	GG	75	76	42	79	1	
		AA+AG	23	24	11	21	0.85(0.38-1.92)	0.703
UCP2 A55V	Codominancia	CC	1	1	2	3	1	
		CT	82	81	45	82	3.64(0.32-41.31)	0.297
		TT	18	18	8	15	0.81(0.33-2.01)	0.650
	Dominancia	CC	1	1	2	3	1	
		CT+TT	100	99	53	97	3.77(0.33-42.59)	0.283
	Recesividad	TT	83	82	47	85	1	
CC+CT		18	18	8	15	0.78(0.32-1.94)	0.600	
UCP3 -55 C/T	Codominancia	CC	71	71	42	75	1	
		CT	28	28	14	25	0.85(0.40-1.78)	0.659
		TT	1	1	0	0	0.66(0.03-17.11)	0.800
	Dominancia	CC	71	71	42	75	1	
		CT+TT	29	29	14	25	0.81(0.38-1.72)	0.592
	Recesividad	TT	99	99	56	100	1	
		CC+CT	1	1	0	0	0.59(0.02-14.65)	0.746
OR: Razón de momios. P < 0.05								

Para conocer cómo se encuentra la carga genética de nuestra población de estudio en relación a las UCP`s, se realizó un análisis comparativo entre las frecuencias genotípica y alélicas de nuestra población de estudio con otras poblaciones del mundo previamente reportadas (Tabla 17).

Es importante mencionar que únicamente se incluyó al grupo control de cada uno de los reportes de los SNP en las diferentes poblaciones del mundo para realizar la comparación, debido a que los grupos de estudio presentaban diversos padecimientos que pueden influir en las frecuencias obtenidas, que podrían estar alterados debido a su padecimiento.

En el caso del polimorfismo -3826 de la UCP1 se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en el genotipo GG, con una disminución en la frecuencia del genotipo GG y del alelo G con respecto a la población alemana (5.8%; 27.5%) mientras que en la población

afroamericana (42.2%; 62.4%) fue a la inversa, es decir un incremento en estas población con respecto a nuestra sujetos de estudio (11%; 42%).

En el caso del polimorfismo -866 de la UCP2 se encontró una disminución en la frecuencia para el genotipo AA y el alelo A en la población norte de India (8.8%; 32.3%), en comparación a nuestra población (22% y 42% respectivamente), también la población caucásica y nordeste de Colombia presenta una disminución en la frecuencia del genotipo AA (17.2% y 17.0%, respectivamente). En el polimorfismo A55V de la UCP2 la población caucásica presento una disminución significativa en la frecuencia del alelo T (42.5%) con respecto a nuestra población (58%).

Finalmente, para el polimorfismo -55 de la UCP3 en el caso de la población de Japón, Corea y Alemania presentaron un incremento en la frecuencia del genotipo TT y el alelo T (9.9% y 30.3%; 8.6% y 29.8%; 2.9% y 23.9, respectivamente). Nuestra población presento una frecuencia de 1% y 15%, respectivamente.

Tabla 17. Frecuencias genotípicas y alélicas de las UCP en la población mexicana estudiada y en distintas poblaciones del mundo.

	POBLACIÓN	AA	AG	GG	A	G	FUENTE
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
UCP1	México (Nuestro estudio) n=100	27(27)	62(62)	11(11)	114(58)	84(42)	
-3826	Japón N=289	79(26.5)	153(51.3)	66(22.2)	310(52)	286(48)	Kotani et al., 2008
	Alemania N=69	35(50.7)	30(43.5)	4(5.8)	100(72.5)*	38(27.5)*	Stefan, 2003
	Caucásico N=981	489(49.9)	370(37.7)	122(12.4)	674(68.7)*	307(31.3)*	Sauza et al., 2006
	Afroamericano N=287	50(17.4)	116(40.4)	121(42.2)	216(39.4)*	358(62.4)*	Sale et al., 2006
	Hispanos EUA N=494	174(35.2)	249(50.4)	71(14.4)	597(60.4)	391(39.6)	Sale et al., 2006
	Nordeste Colombia n=449	162(36)	215(48)	72(16)	539(60)	359(40)	Hincapié et al., 2009

UCP2 -866	México (Nuestro estudio) n=98	22(22)	53(54)	23(24)	96(42)	100(58)	
	Corea N=1385	328(23.7)	691(49.9)	366(26.4)	1341(48.4)	1429(51.6)	Lee et al., 2008
	Norte India N=240	21(8.8)	113(47.1)	106(44.1)	155(32.3)*	325(67.7)*	Srivasta et al., 2010
	PIMA, Nativos Americanos, Arizona N=263	80(30.4)	132(50.2)	51(19.4)	292(55.5)	234(44.5)	Kovacs et al., 2005
	Caucásicos N=778	134(17.2)	372(47.8)	272(35)	458(58.9)*	320(41.1)*	Sauza et al., 2006
	Afroamericanos N=287	52(19.2)	130(48)	89(32.8)	266(43.2)	308(56.8)	Sale et al., 2006
	Hispanos EUA N=494	127(26.1)	227(46.7)	132(27.2)	497(49.2)	491(50.5)	Sale et al., 2006
	Nordeste de Colombia N=449	76(17)	229(51)	144(32)	359(40)*	491(60)*	Hincapié et al 2009
		CC	CT	TT	C	T	
UCP2 A55V	México (Nuestro Estudio) N=101	1(1)	82(81)	18(18)	84(42)	118(58)	
	Caucásicas N=784	265(33.8)	314(47.3)	148(18.9)	422(57.5)*	362(42.5)*	Sauza et al., 2013
UCP3 -55	México (Nuestro Estudio) N=100	71(71)	28(28)	1(1)	170(85)	30(15)	
	Japón N=282	139(49.3)	115(40.8)	28(9.9)	393(69.7)*	171(30.3)*	Harmada et al., 2008
	Corea N=1387	679(49)	588(42.4)	120(8.6)	1947(70.2)*	827(29.8)*	Lee et al., 2008
	Alemania N=69	38(55.1)	29(42)	2(2.9)	105(76.1)*	33(23.9)*	Herrman, 2003
	Caucásicos N=822	559(68)	231(28.1)	32(3.9)	675(82.1)	147(17.9)	Sauza et al., 2013
	Afroamericanos N=57	42(73.7)	13(22.8)	2(3.5)	97(85.1)	17(4.9)	Kimm et al 2002
	EUA N=56	36(64.3)	16(28.6)	4(7.1)	88(78.6)	24(21.4)	Kimm et al 2002
	Nordeste de Colombia N=449	324(72)	112(25)	13(3)	754(84)	144(16)	Hicapié et al., 2009
*p<0.05 vs nuestra población de estudio							

11.4 Determinación de la expresión del mRNA de las UCP's

Primeramente se hizo un gel de agarosa al 3% para visualizar las dos bandas (28S y 18S) de integridad del ARN total de cada una de las muestras (tejido adiposo epicardico y tejido adiposo mediastino) (Figura 7) de cada paciente.

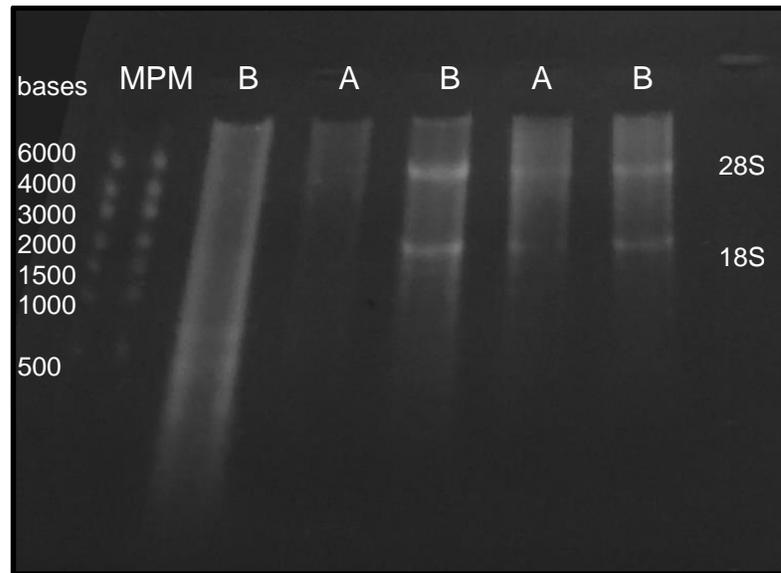
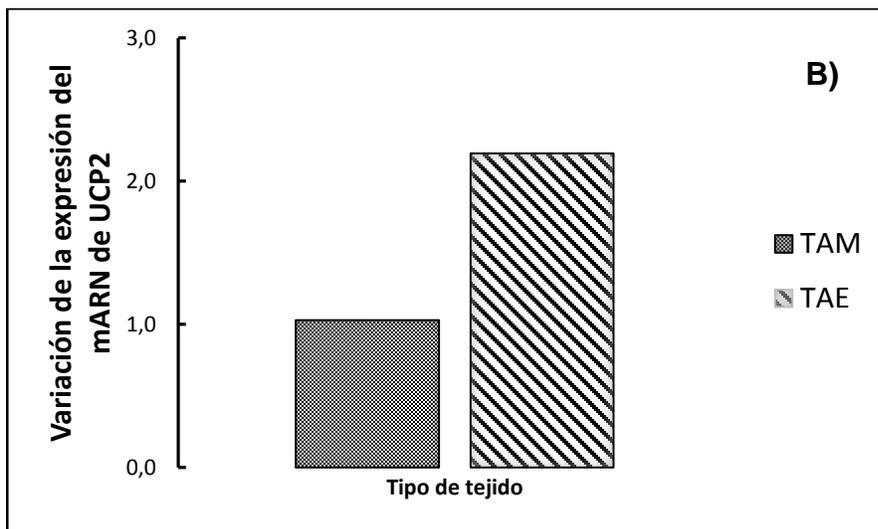
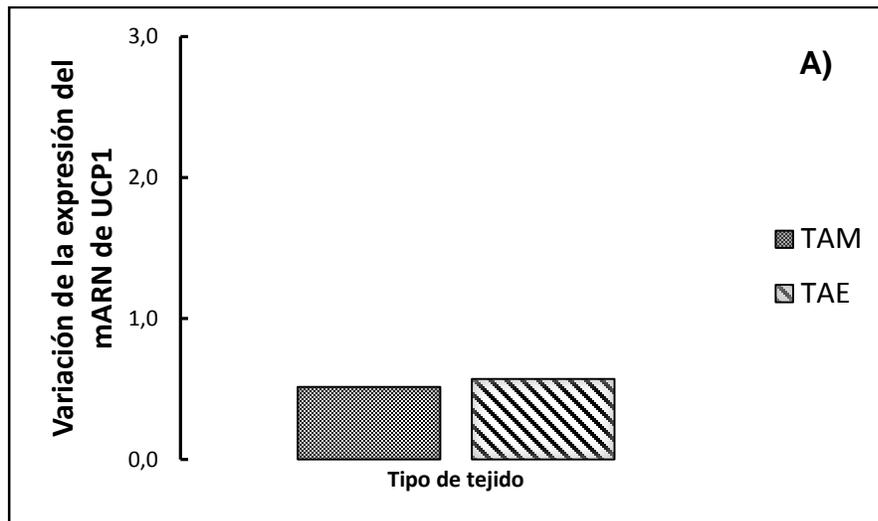


Figura 7. Integridad del ARN total. Grasa Epicárdica (A); Grasa Subcutánea (B); MPM: marcador de peso molecular.

Con el propósito de conocer la expresión de mRNA de la UCP1, UCP2 y UCP3 entre los 2 tipos de tejido estudiados (TAE: tejido adiposo epicárdico y TAM: tejido adiposo mediastino) se utilizó el método Pfaffl, es decir, primeramente se normalizo con respecto al gen endógeno hipoxantina fosforibosiltransferasa (HPRT) y posteriormente se comparó con el grupo control. En la figura 8A se muestra que en el grupo de EAC hubo un mayor nivel de expresión de mRNA de la UCP1 (0.57) en el TAE, que en el TAM (0.52). Se halló una mayor variación de la expresión del mRNA de UCP2 (2.19) en el TAE que al de TAM (1.03) (Figura 8B) y por último se encontró una mayor variación de

la expresión del mRNA de la UCP3 (1.97) en el TAE en comparación al TAM (1.24) (Figura 8C). Indicando que se presentó una tendencia al aumento de la expresión de la UCP1, UCP2 y UCP3 en el TAE a comparación al TAM.



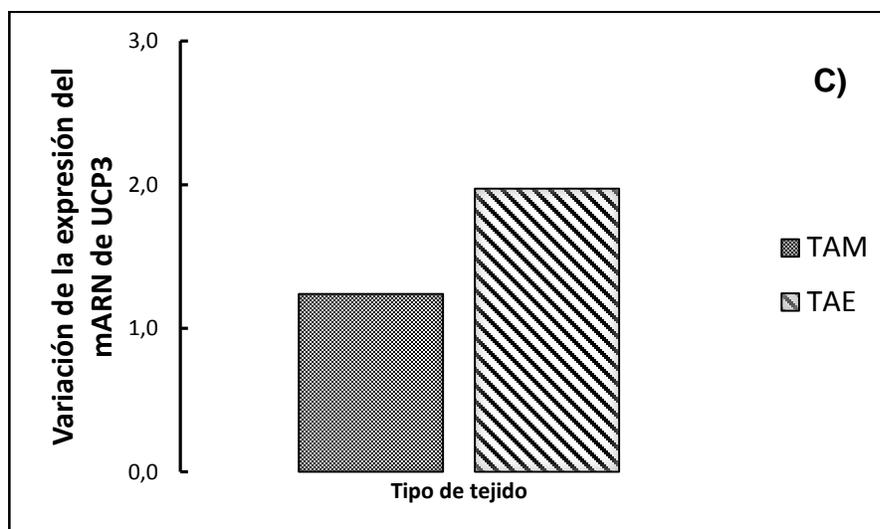


Figura 8. Variación de la expresión del mRNA de UCP1, UCP2 y UCP3 por el método de Pfaffl en el grupo de EAC. A) La variación de la expresión del mRNA de UCP1 en el TAM fue menor vs TAE; B) La variación de la expresión del mRNA de UCP2 en el TAM fue menor vs TAE; C) La variación de la expresión del mRNA de UCP3 en el TAE fue mayor vs al TAM. TAE: Tejido adiposo epicárdico; TAM: Tejido adiposo mediastino.

Posteriormente, con el propósito de conocer que genotipo está posiblemente influyendo en la expresión del mRNA, se analizó la variación de la expresión del mRNA de las tres UCP's con respecto al gen endógeno (HPRT), de acuerdo al polimorfismo estudiado (UCP1 -3826 A/G, UCP2 A55V C/T y -866 G/A, UCP3 -55 C/T).

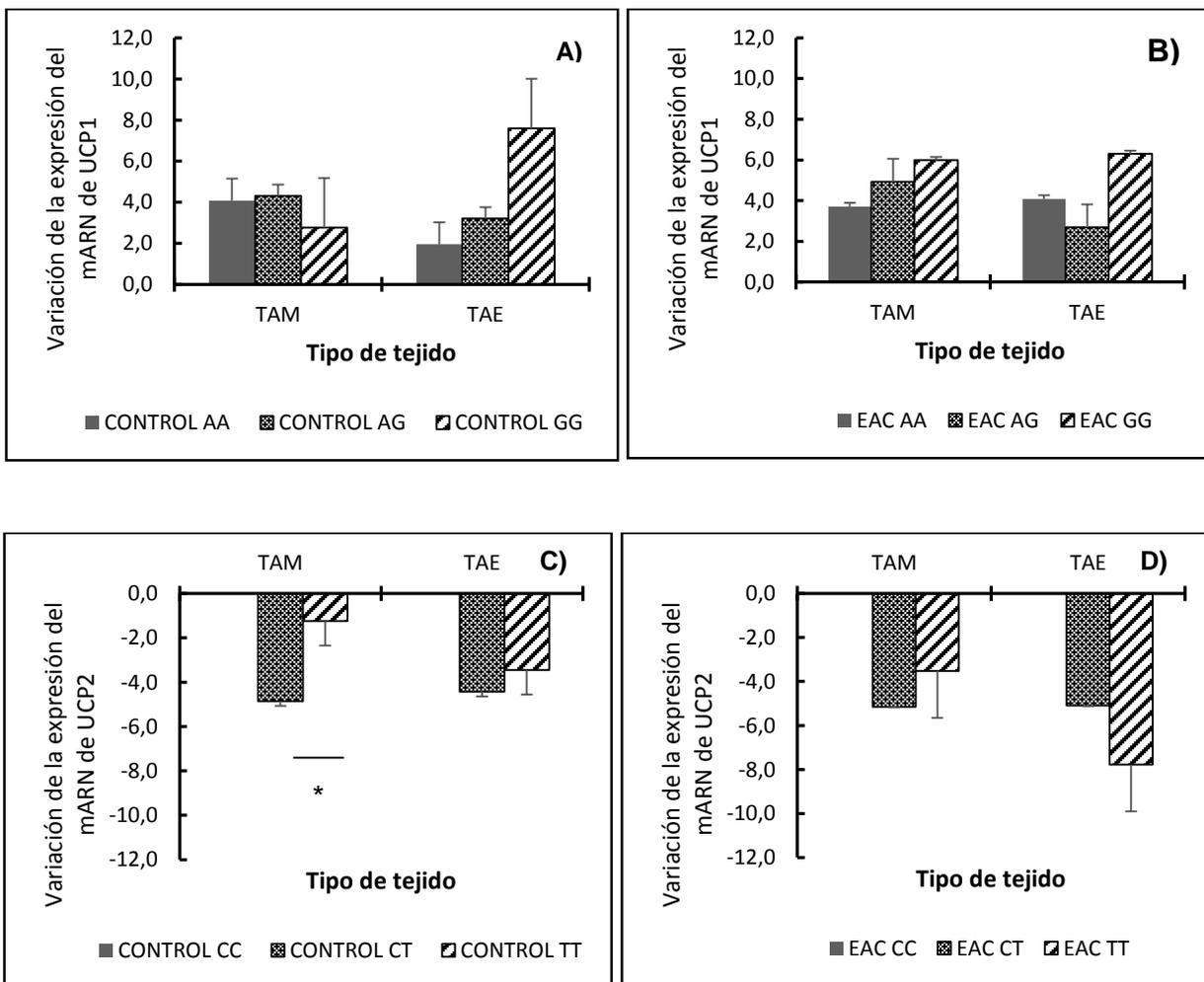
En el polimorfismo -3826 A/G de la UCP1 se encontró que en el grupo control (Figura 9A) y en el grupo de EAC (Figura 9B) el genotipo GG estuvo incrementada la variación de la expresión en el TAE (7.60) en comparación al TAM (2.77).

Para el polimorfismo A55V C/T se encontró una menor variación de la expresión del mRNA de la UCP2 en el genotipo TT (-3.46) en comparación al genotipo CT (-4.43) en el TAE en el grupo control (Figura 9C), sin embargo en el mismo tejido del grupo de EAC se presentó una mayor variación de la expresión en el genotipo TT (-7.78) (Figura 9D).

En la figura 9E y F se muestra la variación de la expresión del mRNA de la UCP2 de acuerdo al polimorfismo UCP2 -866 G/A, se encontró que en el grupo de EAC tuvo una

menor variación de la expresión del mRNA en el genotipo GG en el TAE (-3.79) en comparación a los otros dos genotipos (AA: -7.12 y AG: -5.45). La variación de la expresión del mRNA de la UCP2 el genotipo AA en el TAM (-1.80) del grupo EAC es menor en comparación al genotipo AA del TAE (-2.50) del grupo control.

En la figura 9G y H se muestra que la variación de la expresión del mRNA de la UCP3 en el genotipo TT es menor al del genotipo CT, no importando el tipo de tejido y el grupo de estudio.



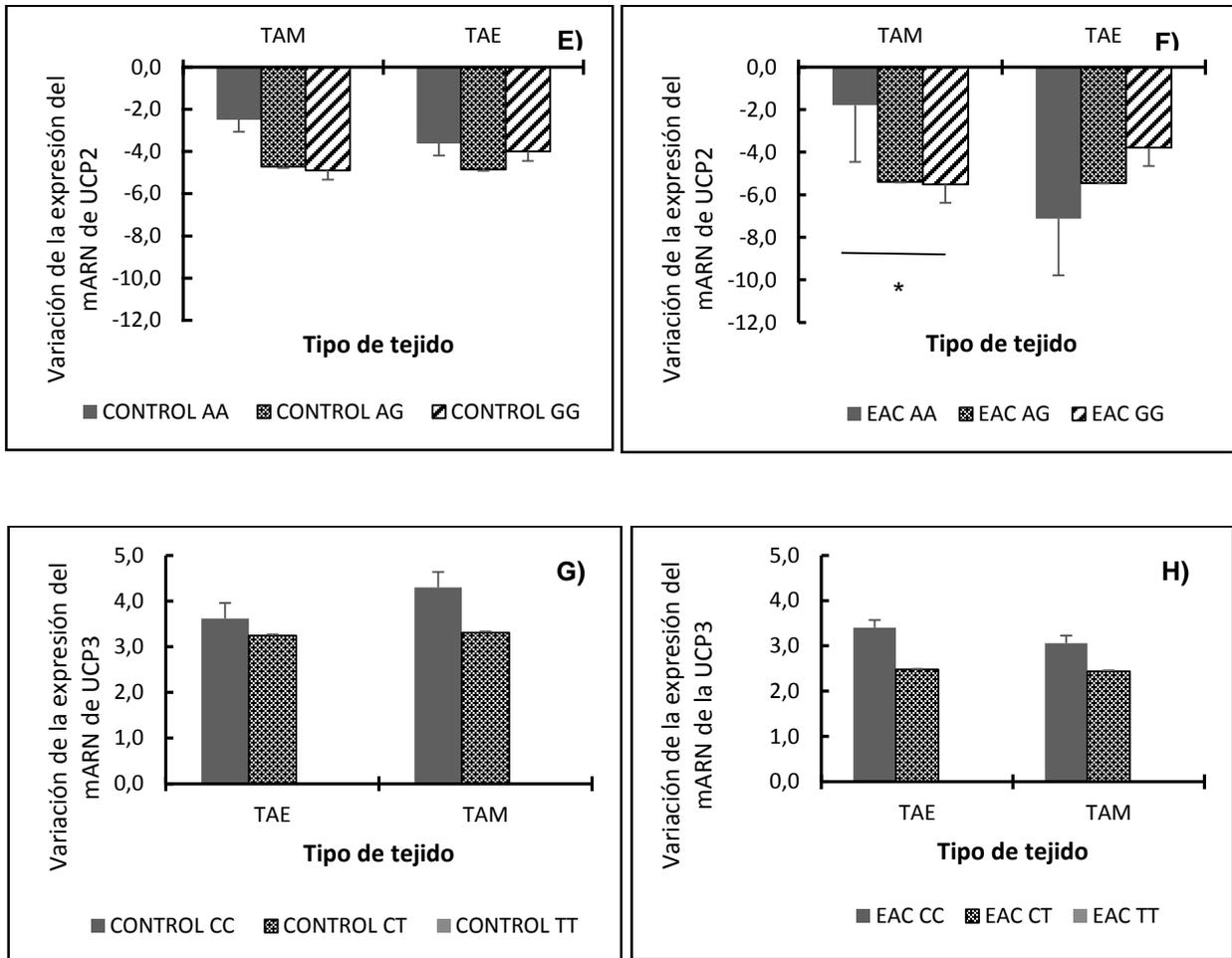


Figura 9. Variación de la expresión del mRNA de la UCP1, UCP2 y UCP3 de acuerdo al polimorfismo de estudio (UCP 1 -3826 A/G, UCP2 A55V y -866 G/A, UCP3 -55 C/T) en los dos grupos de estudio por el TAM y TAE). A) y B) Se muestra la variación de la expresión del mRNA de la UCP1 de acuerdo al polimorfismo UCP1 -3826 A/G, en el grupo control y EAC; C) y D) se muestra la variación de la expresión del mRNA de la UCP2 de acuerdo al polimorfismo UCP2 A55V C/T, en el grupo control y EAC; E) y F) se muestra la variación de la expresión del mRNA de la UCP2 de acuerdo al polimorfismo UCP2 -866 G/A, en el grupo control y grupo de EAC; G) y H) se muestra la variación de la expresión del mRNA de la UCP3 de acuerdo al polimorfismo UCP3 -55 C/T, en el grupo control y EAC. TAM: tejido adiposo mediastino; TAE: tejido adiposo epicárdico; EAC: Enfermedad arterial coronaria. * Diferencia significativa t-student $p < 0.05$.

Al realizarse una análisis (correlación, $p < 0.05$) para observar si existía una relación del polimorfismo UCP1-3826, UCP2 -866, UCP2 A55V, UCP3 -55 con la variación de la expresión de mRNA de la UCP1, UCP2 y UCP3 respectivamente, se encontró una relación en la disminución de la expresión del mRNA de la UCP1 en el genotipo AG del TAE del grupo control con el IMC (26.6 ± 4.4) con una $p = 0.014$.

Con respecto al polimorfismo A55V de la UCP2 el genotipo CT en el TAE del grupo de EAC se encontró una relación de la disminución de la expresión del mRNA de la UCP2 con la disminución de c-HDL (34.8 ± 7.1 mg/dL), con una $p=0.033$. De acuerdo con el polimorfismo -866 UCP2 se encontró una relación con el incremento de la expresión del mRNA de la UCP2 en el genotipo GG en el TAM en comparación a los otros genotipos y parece estar influyendo en la disminución de c-HDL (32.7 ± 6.3 mg/dL), con una $p=0.014$. De acuerdo al polimorfismo -55 UCP3 se encontró una relación del incremento de la expresión de mRNA de la UCP3 en el genotipo CC del grupo de EAC en el TAE y que posiblemente está participando el incremento del colesterol total (186.8 ± 83.8 mg/dL) ($p=0.002$).

12 DISCUSIÓN

Dentro de nuestra población de estudio dos de los polimorfismos estudiados (UCP2 -866 y UCP3 -55) no se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg en el grupo control, por lo que, posiblemente hubo un sesgo de la población debido al tipo de muestra estudiada. Las características clínicas analizadas en este estudio (IMC, diabetes, tabaquismo, alcoholismo, HTA, perfil lipídico, glucosa, etc.) están consideradas como factores de riesgo para padecer EAC. Una de las principales causas de muerte evitable, es el consumo de tabaco debido a su alta incidencia y por el daño endotelial, promoviendo la oxidación de lípidos (c-LDL) que está relacionado con el desarrollo de EAC (Talmud et al., 2002). El tabaquismo en nuestra grupo de EAC presento una incidencia del 63.5%. Los tratamientos farmacológicos para los niveles altos de colesterol, HTA y diabetes pueden estar influyendo en la disminución del desarrollo de EAC. Gómez (2005) señaló

que el tratamiento con estatinas puede disminuir los niveles de las c-LDL, coincidiendo con nuestros datos del grupo de EAC. Las personas con HTA suponen una mayor resistencia para el corazón (tensión alta), que responde aumentando su masa muscular, para hacer frente a ese sobre-esfuerzo, promoviendo un daño en el endotelio de las arterias perdiendo su permeabilidad y una mayor entrada de c-LDL, así como en la generación de ROS. Los diabéticos manejan niveles altos de glucosa en ayuno por la deficiencia de la insulina, causando una toxicidad y un incremento de ROS (Vinocour y Tortós, 2002). De acuerdo a lo anterior, se sustenta porque en el grupo de EAC presentó una mayor incidencia de HTA y diabetes.

En el polimorfismo -3826 A/G UCP1 se obtuvo que los portadores del genotipo GG del grupo EAC presentaron los valores más altos en la mayoría de los parámetros en comparación al grupo control. Estudios previos, encontraron que el alelo G estaba asociado con el incremento del IMC, c-LDL, tensión arterial sistólica y diastólica, y con una disminución de c-HDL (Forga et al., 2003; Proenza et al., 2000; Hayakawa et al., 1999; Heilbronn et al., 2000; Nakano et al., 2006). Debido a que la UCP1 promueve la disminución del potencial de membrana (gradiente eléctrico) disipando la energía en forma de calor induciendo la pérdida de peso. En este estudio se encontró que hubo una mayor variación de la expresión del mRNA de la UCP1 en el TAE en pacientes que portaban el alelo G. Por otro lado, se ha reportado que el alelo G incrementa la expresión del mRNA de la UCP1 en tejido adiposo, como fue en nuestro caso. Sin embargo, otros autores asociaron el alelo G con la disminución de la expresión en tejido adiposo en obesos (Sramkova et al., 2007). Se halló una disminución de la expresión de mRNA en el genotipo AG en el TAE de nuestro grupo de EAC con el incremento de los niveles de glucosa.

En el caso del polimorfismo -866 G/A de la UCP2 encontramos que los portadores del genotipo AA en el grupo de EAC presentaron los parámetros más altos en las características clínicas como el colesterol total, triglicéridos, c-LDL, glucosa, HTA y diabetes, en comparación al grupo control. En otras poblaciones al estudiar este polimorfismo se ha encontrado una mayor frecuencia del alelo A en individuos obesos, asociándolo a la susceptibilidad de adiposidad central, hipercolesteronemia, hipertrigliceridemia y resistencia a la insulina (Li et al., 2013; Oguzkan et al., 2013). Posiblemente debido a que la UCP2 inhibe la secreción de la insulina por la disminución de la generación de ATP, promoviendo el almacenamiento de triglicéridos provenientes de hidratos de carbono. Otros autores encontraron una relación del alelo A con el incremento de accidentes isquémicos en mujeres con diabetes mellitus tipo 2, y por lo tanto, un mayor riesgo de presentar EAC (Chai et al., 2013, Stephens et al., 2008), aunque en otras poblaciones disminuye el riesgo de desarrollar EAC en hombres con diabetes mellitus tipo 2 (Cheurfa et al., 2008). En el grupo de EAC el genotipo AA en el TAE tuvo una mayor variación de la expresión del mRNA de UCP2 en comparación al grupo control. En diferentes estudios han reportado que los sujetos con el alelo A, presentan un incremento en la expresión del mRNA en el tejido adiposo disminuyendo el riesgo de obesidad, el incremento en la disipación de energía, reduciendo la función de células β y con alto riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2, disminución de la secreción de insulina y disminución de la oxidación de lípidos (Esterbauer et al., 2001; Krempler et al., 2002; Sesti et al., 2003; Le Fur et al., 2004; Kovacs et al., 2005). Otros autores hallaron una asociación de este alelo (A) con el aumento de la expresión y el diagnóstico de aterosclerosis preclínica en mujeres (Dhamrait et al., 2004; Oberkofler et al., 2005).

En el polimorfismo UCP2 A55V C/T se halló que los portadores del alelo T presentaron los niveles más altos de las características clínicas (colesterol total, triglicéridos, glucosa HTA, diabetes y alcoholismo) en el grupo de EAC a comparación al grupo control. De acuerdo a lo reportado en la población brasileña, este polimorfismo está relacionado con el incremento del riesgo de eventos cardiovasculares en pacientes con EAC y disglucemia (Gioli et al., 2013). Además el genotipo TT en niños indoneses está relacionado con la disminución de la disipación de energía, promoviendo el desarrollo de la obesidad por el incremento del tejido adiposo, ya que se sabe que este polimorfismo induce la disfuncionalidad de la UCP2 y por tanto un incremento de la expresión de la proteína, siendo un riesgo para el desarrollo de EAC (Mexitalia et al. 2013; Gioli et al., 2013), este dato concuerda con lo que se encontró en nuestra población de estudio. El genotipo TT tuvo una mayor variación de la expresión del mRNA de la UCP2 en el TAE en comparación al genotipo TT del TAM, no importando el grupo de estudio (control o EAC). Se encontró una relación de la disminución de la expresión del mRNA de la UCP2 en el genotipo CT en el TAE con la disminución de los niveles de c-HDL.

El polimorfismo UCP3 -55 C/T en nuestro grupo de EAC se halló los valores más altos en la mayoría de los parámetros en el genotipo CC en comparación al del grupo control y un incremento en la variación de la expresión del mRNA de la proteína. En un estudio encontraron que el genotipo TT está asociado con el incremento del nivel de glucosa y triglicéridos en pacientes con EAC del Sudáfrica (Phulukdaree et al., 2013), así como en la disminución de la disipación de energía en niños indoneses (Mexitalia et al., 2013). En la población Pima el alelo T presenta un incremento de la expresión del mRNA de UCP3 en musculo esquelético en comparación al alelo C (Schrauwen et al., 1999) y el nivel de expresión esta correlacionada negativamente con el IMC. También el alelo T fue asociado

con la tasa cintura-cadera disminuyendo el riesgo a DM2 y perfil de lípidos aterogénicos (Otabe et al., 2000; Hamada et al 2008). Encontramos una asociación con el incremento de la expresión del mRNA de la UCP3 en el TAE con el aumento de colesterol total y c-LDL.

Al hacer el análisis de asociación de los cuatro polimorfismos con la EAC, obtuvimos que ninguno de los polimorfismos está asociado con la EAC, a pesar de que se presentó una diferencia significativa en el genotipo CC del polimorfismo A55V de la UCP2 (OR: 4.0, IC 95%: 0.44-35.8 con una $p=0.025$). Al parecer no hay un genotipo de riesgo de estos polimorfismos en nuestra población. Sin embargo, cuando el polimorfismo A55V de la UCP2 se sometió a la modelación para obtener el tipo de herencia, se obtuvo la posibilidad de que se tratara de herencia recesiva que podría explicar los eventos caracterizados en la EAC de la población de estudio.

13 CONCLUSIONES

El genotipo GG del polimorfismo -3826 A/G de la UCP1 presento una disminución de la expresión del mRNA de la UCP1.

El genotipo AA del polimorfismo -866 G/A de la UCP2 presento un incremento de la expresión del mRNA de la UCP2.

El genotipo TT del polimorfismo A55V C/T de la UCP2 presento un incremento de la expresión del mRNA de la UCP2.

El genotipo CC del polimorfismo -55 C/T de la UCP3 presento una disminución de la expresión del mRNA de la UCP3.

No se encontró una asociación de los cuatro polimorfismo estudiados con el desarrollo de la enfermedad arterial coronaria.

14 BIBLIOGRAFÍA

- ✓ Adams SH. (2000). Uncoupling protein homologs: emerging views of physiological function. *J Nutr.* 130(4): 711-714.
- ✓ Ahmed AT, Karter AJ, Liu J. (2006). Alcohol consumption is inversely associated with adherence to diabetes self-care behaviours. *Diabet. Med.* 23: 795-802.
- ✓ Akami SM, Headari J, Heshmat R, Amiri P, Fakhrzadeh H, Pajouhi M. (2007). The common polymorphis of the UCP2 gene in healthy Iranians compared with world populations. *Human Biology* 79 (1): 103-110.
- ✓ Alexánderon E. Granados N. Gómez MD. Ricalde A. Meave A. (2005). Evaluación de enfermedad arterial coronaria con imágenes de perfusión miocárdica en mujeres. *Arch. Cardiol. Méx.* 75(1): 35-41.
- ✓ Alegría EE, Castellano VMJ, Alegría BA. (2008). Obesidad, síndrome metabólico y diabetes: implicaciones cardiovasculares y actuación terapéutica. *Rev. Esp. Cardiol.* 61 (7): 752.764.
- ✓ Alves A. Rosa M.I. (2009). Fatores relacionados ao risco de doença arterial coronaria entre estudantes de enfermagem. *Rev. Bras. Enferm.* 62(6): 883-888.
- ✓ Angeras O, Alberstsson P, Karason K, Ramunddal T, Matejka G, James S, Lagerqvist B, Rosengren, A, Omerovic E. (2013). *Eur. Heart J.* 34: 345-353.
- ✓ Balasubramaniam K, Viswanathan GN, Marshall SM, Zaman AG. (2012). Increased atherothrombotic burden in patients with diabetes mellitus and acute coronary syndrome: A review of antiplatelet therapy. *Cardiol. Res. and Pract.* 1-18.

- ✓ Bao S, Kennedy A, Wojciechowski B, Wallace P, Ganaway E, Garvey T. (1998). Expression of mRNAs Encoding Uncoupling Proteins in Human Skeletal Muscle. *Diabetes*. 47:1935-1940.
- ✓ Beitelshees AL, Finck BN, Leone TC, Cresce S, Wu J, Province MA, Fabbrini E, Kirk E, Zineh I, Klein S, Spertus JA, Kelly DP. (2010). Interaction between the UCP2 -866 G>A polymorphism, diabetes, and β -blocker use among patients with acute coronary syndromes. *Pharmac. Genom.* 20(4): 231-238.
- ✓ Berentzen T, Dalgaard LT, Petersen L, Pedersen O, Sorensen TI. (2005) Interactions between physical activity and variants of the genes encoding uncoupling proteins -2 and -3 in relation to body weight changes during a 10-y follow-up. *Int. J. Obes (Lond)* 29(1): 93–99.
- ✓ Bondia-Pons I, Ryan L, Martínez JA. (2012). Oxidative stress and inflammation interactions in human obesity. *J. Physiol. Biochem.* 68(4):707-711.
- ✓ Boronat GM, Parra PSM, Albaladejo OD, Martínez HP. (2005). LDL oxidada: el cuarto colesterol. *Asoc. Esp. Farmac. Anal. Modesto Lafuente*. 1-11.
- ✓ Boss, O, Samec S, Paoloni GA, Rossier C, Dulloo A, Seydoux J, Muzzin P, Giacobino JP et al. (1997). "Uncoupling protein-3: a new member of the mitochondrial carrier family with tissue-specific expression". *FEBS Lett.* 408(1): 39-42.
- ✓ Boudina S, Dale AE. (2006). Mitochondrial uncoupling: A key contributor to Reduced cardiac efficiency in diabetes. *Physiology*. 21(1): 250-258.
- ✓ Boyko EJ, Meigs JB. (2011). Does Diabetes always confer coronary heart disease risk equivalent to Prior Myocardial Infarction. *Diab. Care J.* 34(1): 782-784.

- ✓ Cannon B, Nedergaard J. (2004). Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiol. Rev.* 84(1): 277-359.
- ✓ Chai Y, Gu B, J. Qiu JR, Yi HG, Zhu Q, Zhang L, Hu G. (2012). “The uncoupling protein 2 -866G >a polymorphism is associated with the risk of ischemic stroke in Chinese type 2 diabetic patients,” *CNS Neurosci & Ther.* 8(8): 636–640.
- ✓ Chapman MJ, Ginsberg HN, Amarenco P, Andreotti F, Borén J, Catapano AL, Descamps OS, Fisher E, Kovanen PT, Kuivenhoven JA, Lesnik P, Masana L, Nordestgaard BG, Ray KK, Reiner Z, Taskinen MR, Tokgözoğlu L, Tybjaerg-Hansen A, Watts GF, of the Cheurfa N, Dubois LD, Ferrarezi DA, Reis AF, Brenner GM, Bouche C, et al. (2008). The common-866G> A variant in the promoter of UCP2 is associated with decreased risk of coronary artery disease in type 2 diabetic men. *Diabetes.* 57(1): 1063–1068.
- ✓ Chen HH, Lee WJ, Wang W, Huang MT, Lee YC, Pan WH. (2007). Ala55Val polymorphism on UCP2 gene predicts greater weight loss in morbidly obese patients undergoing gastric banding. *Obes. Surg.* 17(7): 926–933.
- ✓ Cheng VY, Dey D, Tamarappoo B, Nakazato R, Gransar H, Miranda-Peats R, Ramesh A Wong ND, Shaw LJ, Slomka PJ, Berman DS. (2010). Pericardial fat burden on ECG-gated non-contrast CT in asymptomatic patients who subsequently experience adverse cardiovascular events. *JACC Cardiovasc. Imag.* 3(4): 352-360.
- ✓ D’Adamo M, Perego L, Cardellini M, Marini MA, Frontoni S, Andreozzi F, Sciacqua A, Lauro D, Sbraccia P, Federici M, Paganelli M, Pontiroli AE, Lauro R, Perticone F, Folli F, Sesti G, (2004). The -866 A/A genotype in the promoter of the human uncoupling protein 2 gene is associated with insulin resistance and increased risk of type 2 diabetes. *Diabetes.* 53(7): 1905-1910.

- ✓ Dalle DI., R. Rossi, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. (2006). "Biomarkers of oxidative damage in human disease." *Clin Chem* 52(4): 601-23. Diehl AM, Hoek JB. (1999). Mitochondrial uncoupling: role of uncoupling protein anion carriers and relationship to thermogenesis and weight control "the benefits of losing control". *J. Bioenerg. Biomembr.* 31(5): 493-506.
- ✓ De Souza BN, Brondani LA, Boucas AP, Sorticia DA, Kraner CK, Canani LH, Leutao CB, Crispim D. (2013). Association between UCP1-3826^a/G, UCP2 - 866G/A, Ala55Val and Ins/Del, and UCP3 -55 C/T Polymorphisms and Susceptibility to Type 2 Diabetes Mellitus: Case-Control Study and Meta.analysis. *PLoS ONE* 8(1): e54259.
- ✓ Dhamrait SS, Stephens JW, Cooper JA, Acharya J, Mani AR, Moore K, Miller GJ, Fleury, C., M. Neverova (1997). Uncoupling protein-2: a novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia. *Nat. Genet.* 15(3): 269-72.
- ✓ Dhamrait SS, Stephens JW, Cooper JA, Acharya J, Mani AR, Moore K, Miller GJ, Humphries SE, Hurel SJ, Montgomery HE. (2004). Cardiovascular risk in healthy men and markers of oxidative stress in diabetic men are associated with common variation in the gene for uncoupling protein 2. *Eur. Heart J.* 25(6): 468–475.
- ✓ Ding J, Hsu FC, Harris TB, Liu Y, Kritchevsky SB, Szklo M, Ouyang P, Espeland MA, Lohman KK, Criqui MH, Allison M, Bluemke DA, Carr JJ. (2009). The association of pericardial fat with incident coronary heart disease: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Am. J. Clin. Nutr.* 90 (3): 499-504.
- ✓ Erlanson AC, (2003). The role of uncoupling proteins in the regulation of metabolism. *Acta Physiol. Scand.* 178(4): 405-412.

- ✓ Esteves TC, Brand MD. (2005). The reactions catalyzed by the mitochondrial uncoupling proteins UCP2 and UCP3. *Biochim. Biophys. Acta.* 1709(1): 35-44.
- ✓ Esterbauer H, Oberkofler H, Liu YM, Breban D, Hell E, Krempler F, Patsch W. (1998). Uncoupling protein-1 mRNA expression in obese human subjects: the role of sequence variations at the uncoupling protein-1 gene locus. *J. Lipid Res.* 39(4): 834-844.
- ✓ Esterbauer H, Schneitler C, Oberkofler H, Ebenbichler C, Paulweber B, Sandhofer F, Ladurner G, Hell E, Strosberg AD, Patsch JR, Krempler F, Patsch W. (2001). A common polymorphism in the promoter of UCP2 is associated with decreased risk of obesity in middle-aged humans. *Nat. Genet.* 28(2):178-183.
- ✓ European Atherosclerosis society Consensus Panel. (2011). Triglyceride-rich lipoproteins and high density lipoprotein cholesterol in patients at high risk of cardiovascular disease: evidence and guidance for management. *Eur. Heart J.* 32: 1345-1361.
- ✓ Fajadet J, Chieffo A. (2012). Current management of left main coronary artery disease. *Eur. Heart J.* 33: 36-50.
- ✓ Fakuda H, Kimura T, Iritani N. (2005). Effects of dietary nutrients on UCP family expressions in rat tissues. 80-90.
- ✓ Fleury C, Neverova M, Collin S, Raimbault S, Champigny O, Levi-Meyrueis C, Bouillaud F, Seldin MF, Surwit RS, Ricquier D, Warden CH. (1997). Uncoupling protein-2: a novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia. *Nat. Genet.* 15(3): 269- 272.
- ✓ Franceschini G, Maderna P, Sirtori CR, (1991). Reverse cholesterol transport: physiology and pharmacology. *Atherosclerosis* 88(2-3): 99-107.

- ✓ Freiberg MS, Cabral HJ, Heeren TC, Vasan RS, Curtis ER, Third National Health and Nutrition Examination Survey. (2004). Alcohol consumption and the prevalence of the prevalence of the Metabolic Syndrome in the US: a cross-sectional analysis of data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Diabetes Care*. 27(12): 2954-2959.
- ✓ Forga L, Corbalán M, Marti A, Martínez GMA, Martínez A. (2003). Influence of the polymorphism -3826 A/G in the UCP1 gene on the components of metabolic síndrome. *Ann. Sist. Sanit. Navar*. 26(2): 231-236.
- ✓ Fukuyama K, Ohara T, Hirota Y, Maeda K, Kuno S, Zenibayashi M, Teranishi T, Kouyama K, Maeda E, Sakamoto N, Kasuga M. (2006). Association of the $_112A > C$ polymorphism of the uncoupling protein 1 gene with insulin resistance in Japanese individuals with type 2 diabetes. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 339 (4): 1212–1216.
- ✓ García TD, Castellanos GM, Cedeño MR, Benet RM, Ramírez AI, (2011). Tejido adiposo como glandula endocrina. Implicación fisiopatologicas. *Rev. Finlay*. 1(2): 48-65.
- ✓ Garruti G, Ricquier D. (1992). Analysis of uncoupling protein and its mRNA in adipose tissue deposits of adult humans. *Int. J. Obes. Rel. Metab. Disord*. 16(5): 383-390.
- ✓ Gioli PL, Santos PCJL, Sugaya LS, Ferreira NE, Krieger JE, Pereira AC, Hueb WA. (2013). Association between UCP2 A55V polymorphism and risk of cardiovascular events in patients with multi- vessel coronary arterial disease. *BMC Medical Genetics* 14(40): 1-7.

- ✓ Gómez FP, (2005). Estatinas y efectos beneficiosos. Med. Clín. Barc. 125(15): 578-579.
- ✓ Gong DW, He Y, Reitman ML (1999). Genomic organization and regulation by dietary fat of the uncoupling protein 3 and 2 genes. Biochem. Biophys. Res. Commun. 256(1): 27-32.
- ✓ Hernández-Jiménez S. (2004). Fisiopatología de la obesidad. Gac. Med. Méx. 140 (2): 527-532.
- ✓ Gutierrez O. (2008). Abordaje de la enfermedad arterial coronaria. Opinión. Acta Méd. Costarric. 50(3): 172-174.
- ✓ Haffner SM, Lehto S, Rönnemaa T, Pyörälä K, Laakso M. (1998). Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. N Engl J Med. 339(4):229-234.
- ✓ Hamada T, Kotani K, Fujiwara S, Sano Y, Domichi M, Tsuzaki K, Sakane N. (2008). The common -55 C/T polymorphism in the promoter region of the uncoupling protein 3 gene reduces prevalence of obesity and elevates serum high-density lipoprotein cholesterol levels in the general Japanese population. Metabolism. 57(3): 410-415.
- ✓ Hamada T, Kotani K, Nagai N, Tsuzaki K, Matsuoka Y, Sano Y, et al. (2009). Low-calorie diet-induced reduction in serum HDL cholesterol is ameliorated obese women with the -3826 G allele in the uncoupling protein-1 gene. Tohoku J. Exp. Med. 19(4): 337-342.
- ✓ Himms J. (1989). Role of thermogenesis in the regulation of energy balance in relation to obesity. Can. J. Physiol. Pharmacol. 67(4): 394-401.

- ✓ Himms J, Harper ME. (2001). Physiological Role of UCP3 May Be Export of Fatty Acids from Mitochondria When Fatty Acid Oxidation Predominates: Ann Hypothesis. *Exp. Biol. Med.* 226 (2): 78-84.
- ✓ Humphries SE, Hurel SJ, Montgomery HE. (2004). Cardiovascular risk in healthy men and markers of oxidative stress in diabetic men associated with common variation in the gene for uncoupling protein 2. *Eur. Heart J.* 25(6): 428-475.
- ✓ Kesavulu M, Rao BK, Giri R, Vijaya J, Subramanyam G, Apparao CH. (2001). Lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in Type 2 diabetic with coronary heart disease. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 53(1): 33-39.
- ✓ Huttunen P, Hirvonen J, Kinnula V. (1981). The occurrence of Brown adipose tissue in outdoor workers. *Eur. J Applied Phys.* 46(4): 339-345.
- ✓ Hye JL, Ha JR, (2008). Associations between polymorphism in the mitochondrial uncoupling proteins with T2DM. *Clin. Chim. Acta.* 398(1-2): 27-33.
- ✓ Lacobellis G, Bianco AC, (2011). Epicardial adipose tissue “emerging physiological, pathophysiological and clinical features. *Trends Endocrinol. Metabol.* 22(11): 450-457.
- ✓ Lacobellis G, Barbaro G. (2008). The double role of epicardial adipose tissue as pro- and anti-inflammatory organ. *Horm. Metab. Res.* 40 (7): 442-445.
- ✓ lacobellis G, Corradi D, Sharma AM. (2005). Epicardial adipose tissue: anatomic, biomolecular and clinical relationships with the heart. *Nature.* 2(10): 536-543
- ✓ Kim-Han JS, Dugan LL. (2005). "Mitochondrial uncoupling proteins in the central nervous system." *Antioxid. Redox Signal.* 7(9-10): 1173-1181.
- ✓ Klingenberg M, Huang SG. (1998). Structure and function of the uncoupling protein from brown adipose tissue. *Biochim. Biophysic. Acta* 1415: 271-296.

- ✓ Krempler F, Esterbauer H, Weitgasser R, Ebenbichler C, Patsch JR, et al. (2002). A functional polymorphism in the promoter of UCP2 enhances obesity risk but reduces type 2 diabetes risk in obese middle-aged humans. *Diabetes*. 51(11): 3331 – 3335.
- ✓ Kovacs P, Hanson RL, Franks P, Stumvoll M, Bogardus C, Baier LJ, (2005). Genetic variation in UCP2 (uncoupling protein 2) is associated with energy metabolism in Pima Indians. *Diabetologia*. 48(11): 2292-2295.
- ✓ Ledesma A, García de la Lacoba M, Rial E. (2002). The mitochondrial uncoupling proteins, protein family. *Genome Biology* 3(12): 3015-3019.
- ✓ Le Fur S, Le Stunff C, Dos Santos C, Bougnères P, (2004). The common -866 G/A polymorphism in the promoter of uncoupling protein 2 is associated with increased carbohydrate and decreased lipid oxidation in juvenile obesity. *Diabetes*. 53(1): 253-259.
- ✓ Libby P (2002). Inflammation in atherosclerosis. *Nature*. 420(6917):868-874.
- ✓ Lima-Martínez MM, Balladares N, Torres C, Guerra E, Contreras MA. (2011). Medición ecocardiográfica de la grasa epicárdica. *Imagen Diagn*. 2(1): 23-26.
- ✓ Li Q, Kuanfeng X, Xinyu X, Rong G, Xuan L, Shan S, Tao Y, (2013). UCP2 - 866G/A, Ala55Val and UCP3 -55C/T Polymorphisms in Association with Obesity Susceptibility — A Meta-Analysis Study. *J PLoS One*. 8(4): e58939.
- ✓ Li Y, Maedler K, Shu L, Haataja L. (2008). UCP-2 and UCP-3 proteins are differentially regulated in pancreatic beta-cells. *PLOS one*. 3(1): e1397.
- ✓ Lowell BB, Spiegelman BM. (2000). Towards a molecular understanding of adaptive thermogenesis. *Nature*. 404 (6778): 652-660.

- ✓ Manguía MC, Sanchez BRG, Hernandez SD, Cruz LM. (2008). Prevalencia de dislipidemias en una población de sujetos en apariencia sanos y su relación con la resistencia a la insulina. *Salud Pública (Méx)*. 50 (5): 375-382.
- ✓ Margareto J, Marti JA, Martínez A. (2001). Changes in UCP mRNA expression levels in brown adipose tissue and skeletal muscle after feeding a high-energy diet and relationships with leptin, glucose and PPAR γ . *J. Nutr. Biochem*. 12(3): 130-137.
- ✓ Martínez AE, Sánchez RMA, El Hafidi BM. (2005). Participación de la mitocondria en el desarrollo del estrés oxidativo en la obesidad. *Bioquím*. 30(3): 82-89.
- ✓ Matsushita H, Kurabayashi T, Tomita M, Kato N, Tanaka K. (2003). Efects of uncoupling protein 1 and beta 3-adrenergic receptor gene polymorphism on body size and serum lipid concentrations in Japanese women. *Maturitas*. 45(1): 39-45.
- ✓ Meirhaeghe A, Amouyel P, Helbecque N, Cottel D, Otabe S, Frogued P, Vasseur F. (2000). An uncoupling protein 3 gene polymorphism associated with a lower risk of developing Type II diabetes and with atherogenic lipid profile in French cohort, *Diabetologia*. 43(11):1424-1428.
- ✓ Mendis S, Puska P, Norving B (2011). Global Atlas on cardiovascular disease prevention and control. World Health Organization. 1-153.
- ✓ Mendoza GC. Rosas M. Estrada CL. Lorenzo JA. Méndez A. Martínez Reding J. Martínez-Sánchez C. Pastelín G. Férrez-Santander SM. Attie F. (2008). Prevención y tratamiento de la hipertensión arterial sistémica en el paciente con enfermedad arterial coronaria. *Arch. Cardiol. Méx*. 78(2): 58-73.

- ✓ Mexitalia M, Utari A, Romadhona S, Yamauchi T, Ishida T, (2013). UCP2 and UCP3 polymorphisms as risk factors of insulin resistance for Indonesian obese adolescents. *Intern. J. Pediat. Endocrinol.* S(1): 105.
- ✓ Mitchell P. (1961). Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemiosmotic type of mechanism. *Nature.* 191: 423-427.
- ✓ Nabben, Hoeks, (2008). Mitochondrial uncoupling protein 3 and its role in cardiac- and skeletal muscle metabolism. *Physiol & Behavior.* 94 (2): 259-269.
- ✓ Nakuno T, Shinka T, Sei M, Sato Y, Umeno M, Sakamoto K, Nomura I, Nakahori Y. (2006). A/G heterozygote of the A -3826G polymorphism in the UCP-1 gene has higher BMI than A/A and G/G homozygote in young Japanese males. *J. Med. Invest.* 53(3-4): 218-222.
- ✓ Nicholls DG, Locke RM, (1984). Thermogenic mechanism in Brown fat. *Physiol. Rev.* 64(1):1-64.
- ✓ Nicholls DG, Rial E. (1999). A history of the first uncoupling protein, UCP1. *J. Bioenerg. Biomemb.* 31(5): 399-406.
- ✓ Oberkofler H, Dallinger G, Liu YM, Hell E, Krempler F, Platsch W. (1997). Uncoupling protein gene: quantification of expression levels in adipose tissues of obese and non-obese humans. *J. Lipid Res.* 38(10): 2125-2133.
- ✓ Oberkofler H, Iglseder B, Klein K, Unger J, Hatmayer M, Krempler F, Paulweber B, Patsch W. (2005). Associations of the UCP2 gene locus with asymptomatic carotid atherosclerosis in middle-aged women. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 25(3): 604-610.
- ✓ Obregón MJ. (2007). Obesidad, termogénesis y hormonas tiroideas. *Resp. Esp. Obes.* 5(1):27-38.

- ✓ Oguzkan BS, Col AN, Muradiye N , Mustafa, Halime S, Ayse B, Sacide P. (2013). Mitochondrial uncoupling protein 2 (UCP2) gene polymorphisms are associated with childhood obesity and related metabolic disorders. *J. Pediat. Endocrinol. Met.* 26(3-4): 277–283.
- ✓ Oh HH, Kim KS, Choi SM, Yang HS, Yoon Y. (2004). The effects of uncoupling protein-1 phenotype on lipoprotein cholesterol level in Korean obese subjects. *Metabolism* 53(8): 1054-1059.
- ✓ Palmer BR, Devereaux CL, Dhamrait SS, Mocatta TJ, Pilbrow AP, Frampton CM, Skelton L, Yandle TG, Winterbourn CC, Richards AM, Montgomery HE, Cameron VA. (2009). The common G-866A polymorphism of the UCP2 gene and survival in diabetic patients following myocardial infarction. *Cardiov. Diabet* 8(31): 1-8.
- ✓ Pfaffl MW. (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res.* 29(9): 2003-2007.
- ✓ Phulukdaree A, Moodley D, Khan S, Chuturgoon AA (2013). Uncoupling protein 2 -866 G/A and uncoupling protein 3 -55 C/T polymorphisms in young South African Indian coronary artery disease patients. *Gene* 524(2): 79-83.
- ✓ Pinkney JH, Boss O, Bray GA, Bulmer K, Coppack SW, Mohamed AV. (2000). Physiological relationships of uncoupling protein 2 gene expression in human adipose tissue in vivo. *J. Clin. Endocrin. Metabolism.* 85(6): 2312-2318.
- ✓ Polou A, Bonet ML, Picó C, Rodríguez AM. (2004). *Nutrigenómica y obesidad.* Red. Med. Univ. Navarra 48(2): 36-48.
- ✓ Posada R. (1995). *Dislipidemia y aterosclerosis.* Ed. Interamericana. McGraw-Hill. 1ª Edición. México. Pp 1-22.

- ✓ Ramis JM, González SJL, Proenza AM, Martínez Imt, Fernandez PC, Palou A, et al. (2004). The Arg64 allele of the beta 3-adrenoceptor gene but not the -3826G allele of the uncoupling protein 1 gene is associated with increased leptin levels in the Spanish population. *Metabolism*. 53(11): 1411-1416.
- ✓ Reynolds K, Lewis B, Nolen JD, Kinney GL, Sthya B, He J. (2003). Alcohol consumption and risk of stroke: A meta-analysis. *JAMA*. 289(5): 579-588.
- ✓ Rial E, González BMM, (2001). La proteína desacoplante UCP1 del tejido adiposo café: mecanismo, estructura, función y regulación. *Mens. Bioquím.* XXXI. 31: 30-43.
- ✓ Rial E, Zardoya R. (2009). Oxidative stress, thermogenesis and evolution of uncoupling proteins. *J. Biol.* 8(6): 1-5 art. 58.
- ✓ Ricquier D, Kader JC. (1976). Mitochondrial protein alteration in active brown fat: a sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoretic study. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 73 (3): 577-583.
- ✓ Ricquier, D, Bouillaud F. (2000). "The uncoupling protein homologues: UCP1, UCP2, UCP3, StUCP and AtUCP." *Biochem. J.* 345(2): 161-79.
- ✓ Rojas J, Bermúdez V, Leal E, Aparicio D, Peña G, Acosta L, Finol F, Urdaneta A, Comenares C, Almarza J, Linares S, Carrillo M, Bustamante M. (2008). Origen étnico y enfermedad cardiovascular. *Farmacol. Terap.* 1(27): 41-58.
- ✓ Sale MM, Hsu FC, Palmer ND, Gordon DJ, Keene KL, Borgerink HM, Sharma AJ, Bergman RN, Taylor KD, Saad MF, Norris JM (2007). The uncoupling protein 1 gene, UCP1, is expressed in mammalian islet cells and associated with acute insulin response to glucose in African families from the IRAS Family Study. *BMC Endocr. Disord.* 7(1): 1-10.

- ✓ Saloporu T, Pulkkinen L, Lindström J, Kolehmainen M, Tolppanen AM, Eriksson JG, Valle TT, Aunola S, Ilanne P, Keinänen KS, Tuomilehto J, Laakso M, Uusitupa M. (2009). Variation in the UCP2 and UCP3 genes associates with abdominal obesity and serum lipids: The Finnish Diabetes Prevention Study. *BMC Med. Genet.* 10 (94): 1-13.
- ✓ Sesti G, Cardellini M, Marini MA, Frontoni S, D'Adamo M, Del Guerra S, Lauro D, De Nicolais P, Sbraccia P, Del Prato S, Gambardella S, Federici M, Marchetti P, Lauro R. (2003). A common polymorphism in the promoter of UCP2 contributes to the variation in insulin secretion in glucose-tolerant subjects. *Diabetes.* 52(5): 1280-1283.
- ✓ Schrauwen P, Xia J, Bogardus C, Pratley RE, Ravussin E. (1999). Skeletal muscle uncoupling protein 3 expression is a determinant of energy expenditure in Pima Indians. *Diabetes* 48(1): 146-149.
- ✓ Schrauwen P, Walder K, Ravussin E (1999). Human uncoupling proteins and obesity. *Obes. Res.* 7(1): 97-105.
- ✓ Schrauwen P, Xia J, Walder K, Snitker S, Ravussin E. (1999). A novel polymorphism in the proximal UCP3 promoter region: effect on skeletal muscle UCP3 mRNA expression and obesity in male nondiabetic Pima Indians. *Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.* 23(12): 1242-1245.
- ✓ Somoza B, Guzmán R, Cano V, Merino B, Ramos P, Díez FC, Fernández AMS, Ruiz G M. (2007). Induction of cardiac uncoupling protein-2 expression and adenosine 5'-monophosphate-activated protein kinase phosphorylation during early states of diet-induced obesity in mice. *Endocrinol.* 148 (3): 924-931.

- ✓ Sanz J, Fayad ZA. (2008). Imaging of Atherosclerotic cardiovascular disease. *Nature*. 451(7181): 953-957.
- ✓ Sramkova D, Krejbichova S, Vcelak J, ankova M, Samaliova P, Hill M, Kvasnickova H, Dvorakova K, Vondra K, Hainer V, Bendlova B. (2007). The UCP1 gene polymorphism A-3826G in relation to DM2 and body composition in Czech population. *Exp. Clin. Endocr. Diab.* 115(5): 303-307.
- ✓ Stephens JW, Dhamrait SS, Mani AR, Acharya J, Moore K, Hurel SJ, Humphries SE, (2008). Interaction between the uncoupling protein 2 -866G>A gene variant and cigarette smoking to increase oxidative stress in subjects with diabetes. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 18(1): 7–14.
- ✓ The Expert Panel (2002). The National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adults Treatment Panel III). *Circulation*. 106: 3143-3421.
- ✓ Vian azzu. (2010). The regulation and turnover of mitochondrial uncoupling proteins, *Biochim. Biophys. Acta* (1797): 785-791
- ✓ Vinocour FMV, Tortós GJE. (2002). Diabetes Mellitus, una enfermedad del cardiovascular. *Costtarric. Cardiol.* 4(1): 36-44.
- ✓ Wang H, Chu WS, Lu T, Hasstedt SJ, Kern PA, Elbei SC. (2004). Uncoupling protein-2 polymorphisms in type 2 diabetes, obesity, and insulin secretion. *Am. J Physiol. Endocrinol. Metab.* 286(1): E1–E7.
- ✓ Wang CP, Hsu HL, Hung WC, Yu TH, Chen YH, Chiu CA, Lu LF, Chung FM, Shin SJ, Lee YJ. (2009). Increased epicardial adipose tissue volume in type 2 diabetes mellitus and association with metabolic syndrome and severity of coronary atherosclerosis. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. 70(6): 876-82.

- ✓ Zhang CY, Baffy G, Perret P, Krauss S, Peroni O, Grujic D, Hagen T, Vidal AJ, Boss O, Kim YB, Zheng XX, Wheeler MB, Shulman GI, Chan CB, Lowell BB. (2001). Uncoupling protein-2 negatively regulates insulin secretion and is a major link between obesity, beta cell dysfunction, and type 2 diabetes. *Cell*. 105 (6): 745-755.

15 ANEXO

I. Técnica de Extracción de DNA por el método de expulsión salina

- 1.- Recolectar 8-10 mL de sangre total periférica con anticoagulante (EDTA).
- 2.- En un tubo Falcon de 50 mL. Poner 40 mL de solución de lisis (SLR 1X) y el vaciar toda la sangre. Mezclar vigorosamente (vortex o con la mano) la solución.
- 3.- Centrifugar la solución a 2500 rpm/10 min.
- 4.- Quitar el sobrenadante con una pipeta o a vacío con cuidado, sin tocar el paquete.
- 5.- Agregar nuevamente SLR 1X hasta 40 mL, y centrifugar a 2500 rpm/10 min.
- 6.- Quitar nuevamente el sobrenadante, sin tocar el paquete. En este caso puede invertir el tubo y dejado escurrir. Repetir el lavado hasta (aprox. 4 veces) que el paquete este limpio (color blanco).
- 7.- Agregar al tubo Falcon: 260 μ L de agua estéril; 160 μ L de buffer de proteinasa; 40 μ L de SDS al 20% y 40 μ L de proteinasa (guardados a 4°C).
- 8.- Resuspender el paquete con la solución y transferido a un tubo Eppendorf de 1.5 mL. Previamente marcado. Mezclar vigorosamente (vortex).
- 9.- Incubar a 37°C toda la noche o a 55°C durante 3-4 horas (en este caso agregar 20 μ L más de proteinasa).
- 10.- Terminada la incubación agregar 240 μ L de NaCl 5M. Mezclar vigorosamente. Centrifugar a 14000 rpm/ 10min.
- 11.- Recuperar el sobrenadante en todo Eppendorf previamente marcado sin tomar el precipitado.
- 12.- Centrifugar nuevamente a 14000 rpm/10min. Y recuperar el sobrenadante. Repetir este paso hasta que el sobrenadante no tenga sedimentos.

- 13.- Agregar EtOH frío al 95% e invertir el tubo hasta que aparezca un precipitado blanco (ADN). Se recomienda dejarlo en el congelador unos min.
- 14.- Centrifugar a 14000 rpm/10 min.
- 15.- Se elimina el sobrenadante por decantación y se agrega EtOH frío al 70% (lavado).
- 16.- Centrifugar nuevamente a 14000 rpm/5 min.
- 17.- Se elimina el sobrenadante por decantación y se deja escurrir el tubo boca abajo.
- 18.- Secar el tubo a 37°C o en el concentrador de ADN.
- 19.- Agregar de 50 a 100 μ L d Tris-EDTA (T.E) estéril y dejarlo a temperatura ambiente a 2 h hasta que se resuspenda el ADN en el agua.
- 20.- Medir la concentración del ADN a 260 nm. La pureza se obtiene de medir el ADN a 260 nm y las proteínas a 280 nm, la relación entre 260/280 nos da la pureza. Este valor debe corresponder entre 1.7 y 1.8.

II. Extracción de ARN usando el Mini kit “RNeasy Lipid Tissue”

- 1.- Homogenizar del tejido en 1mL de Tripure y 100µL de Sarcosina al 1%.
- 2.- Agregar 200 µL de cloroformo grado molecular y agitar vigorosamente.
- 3.- Incubar 5 min a temperatura ambiente.
- 4.- Centrifugar a 12000 x g por 15 minutos a 4 °C.
- 5.- Transferir la fase acuosa a un tubo de 1.5 mL y agregar 600 µL de etanol al 70% y agitar vigorosamente.
- 6.- Transferir 700µL de la muestra a la columna y centrifugar 8000 x g, 30 segundos, 4 °C. Descartar lo filtrado.
- 7.- Agregar 700 µL del *Buffer* RW1 a la columna y centrifugar a 8000 x g, 30 segundos, 4 °C. Descartar lo filtrado.
- 8.- Agregar 500 µL del *Buffer* RPE a la columna y centrifugar a 8000 x g, 30 segundos, 4 °C. Descartar lo filtrado.
- 9.- Agregar 500 µL del *Buffer* RPE a la columna y centrifugar a 8000 x g, 90 segundos, 4 °C. Descartar lo filtrado.
- 10.- Pasar la columna a otro tubo de 1.5 mL. Agregar 40 µL de agua libre de RNasa y centrifugar a 8000 x g, 1 minuto, 4 °C.

III. Consentimiento informado.

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGIA "IGNACIO CHÁVEZ"

COSENTIMIENTO INFORMADO

Nombre: del Paciente: _____
Domicilio _____
Telefono casa: _____ Cel. _____
No. Expediente/afiliación: _____

Por medio de la presen doy mi consentimiento para participar de manera voluntaria y sin percepción económica alguna, en el protocolo de investigación intitulado "" .
Por lo cual acepto donar que me sea tomada una muestra de sangre y de grasa epicardica durate el procedimiento quirúrgico al cual voy a ser sometida. Entiendo que los datos geberados asi como el nombre (s) de (los) participante (s) son totalmente confidenciales y anónimos.

Me han explicado la impotancia y utilidad de la investigación, asi mismo he comprendido las aplicaciones las cuales se me han dado de manera clara y sencilla, y que el médico que me ha atendido me ha permitido realizar todas las observaciones y me ha aclarado todas las dudas que le he planteado. También comprendo que, en cualquier momento y sin necesidad de dar explicación alguna puedo revocar el consentimiento que ahora presto.

NOMBRE Y FIRMA DEL RESPONSABLE
DEL PROYECTO

NOMBRE Y FIRMA DEL PACIENTE

NOMBRE Y FIRMA DEL TESTIGO

NOMBRE Y FIRMA DEL TESTIGO

MEXICO D.F. A _____ DEL MES DE _____ DE 201_