



UADY

CIENCIAS DE LA SALUD

POSGRADO INSTITUCIONAL
EN CIENCIAS DE LA SALUD

Evaluación del riesgo conferido por los microARN miR-122 y miR-222 a la obesidad en escolares de Mérida, Yucatán.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE YUCATÁN.

Programa:

Pogrado Institucional en Ciencias de la Salud: Maestría en Investigación en Salud.

Tesis presentada por:

Biol. Larissa Michelle González Arce.

lari_gonzar@hotmail.com

En opción al grado de:

Maestra en Investigación en Salud.

Directora de tesis:

Dra. Lizbeth J. González Herrera

Mérida, Yucatán, México, 6 de Septiembre del 2019

ÍNDICE

RESUMEN	6
INTRODUCCIÓN	7
DEFINICIÓN Y DIAGNÓSTICO DE LA OBESIDAD INFANTIL.....	7
EPIDEMIOLOGÍA DE LA OBESIDAD INFANTIL.....	8
IMPORTANCIA DE LA OBESIDAD INFANTIL	8
ETIOLOGÍA Y FACTORES DE RIESGO DE LA OBESIDAD INFANTIL	10
EPIGENÉTICA	12
CLASIFICACIÓN DE LOS ARN NO CODIFICANTES	14
MICRO ARN.....	14
MICRO ARN CIRCULANTES.....	18
MICRO ARN Y OBESIDAD	19
DEFINICIÓN DEL PROBLEMA	26
JUSTIFICACIÓN.....	28
HIPÓTESIS.....	29
OBJETIVO GENERAL.....	29
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
TIPO Y DISEÑO DEL ESTUDIO.....	30

UNIVERSO	30
MUESTRA	31
DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES Y ESCALAS DE MEDICIÓN	32
CRITERIOS	39
Definición de la exposición	40
FUENTES Y RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN	41
MÉTODOS Y TÉCNICAS	43
TÉCNICAS DE ANTROPOMETRÍA.	43
TÉCNICAS DE LABORATORIO.	44
Toma de muestra sanguínea.	44
Extracción de ARN.	44
Determinación de los niveles de expresión circulantes de MicroRNAs	44
Síntesis de ADNc	44
Cuantificación y expresión de miARN con el método de doble delta CT	46
Muestra de referencia: Normalización	46
ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	47
Descripción de los datos	47
Diferencia en los parámetros antropométricos, bioquímicos y de ingesta calórica en escolares con obesidad y normopeso.	47
Diferencia en la expresión de los miARN circulante en escolares con peso adecuado y con obesidad.	47

Evaluación de la asociación entre los parámetros antropométricos, bioquímicos e ingesta calórica con la expresión de los miARN miR-122 y miR-222.	48
Modelo de riesgo a partir de variables epigenéticas y ambientales.	48
CONSIDERACIONES ÉTICAS.	48
RESULTADOS	50
Descripción de la muestra	50
Descripción de los parámetros bioquímicos de la población de estudio.	53
Consumo energético y de nutrimentos en la población de estudio	55
Expresión relativa de los miARN miR-122 y miR-222	57
Asociación entre la expresión relativa de los miR-122 y miR-222 con variables antropométricas.	61
Asociación entre la expresión relativa de los miR-122 y miR-222 con parámetros bioquímicos.	62
Asociación entre la expresión relativa de los miR-122 y miR-222 con la ingesta calórica y los niveles de expresión de los miARN con la actividad física.	63
Asociación entre los niveles de expresión de los miR-122 y miR-222 circulantes con el género.	65
Modelo de riesgo a partir de las variables epigenéticas y ambientales para la obesidad en escolares.	68
DISCUSIÓN	70
CONCLUSIONES	78
RECOMENDACIONES	80
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	81

ANEXOS..... 90

RESUMEN

La obesidad infantil es un trastorno metabólico crónico caracterizado por una acumulación excesiva de grasa debido a un desequilibrio entre la ingesta dietética y el gasto energético que reduce la esperanza y calidad de vida. En Yucatán la prevalencia del exceso de peso en niños llega a un 50% rebasando la media nacional de 34%. Su etiología es multifactorial, explicada por factores externos e internos. Los miARN, como mecanismo epigenético explican la regulación de la expresión génica sin modificar la secuencia de ADN. La relación entre los miARN y la obesidad se estableció gracias a investigaciones en las que se han observado que modulan la diferenciación de adipocitos, la homeóstasis del colesterol y los lípidos del hígado, la secreción y señalización de la insulina, la integración metabólica y la regulación del apetito. El miR-122 está asociado con el metabolismo de grasas, y el miR-222 asociado a la inflamación y resistencia a la insulina. El presente estudio busca evaluar el riesgo conferido por los miARN 122 y 222 circulante a la obesidad en escolares de Mérida, Yucatán. Bajo el diseño metodológico de casos y controles se obtuvieron datos antropométricos, ingesta calórica, y con muestra de sangre se midieron parámetros bioquímicos y expresión relativa del miR-122 y miR-222 circulante por reacción en cadena de la polimerasa. Se analizaron los datos por comparación de medias independientes utilizando el estadístico *t* de Student, además se realizaron correlaciones con *r* de Pearson, asociaciones con Chi-cuadrada y regresión lineal múltiple y logística. Con datos de 49 escolares de peso adecuado y 50 con obesidad se observó que los miR-122 y miR-222 se encontraban expresados 1.47 y 1.78 veces más, respectivamente en niños con obesidad ($p=0.001$ y $p=0.02$). Los niveles de ambos miARN se asociaron a porcentaje de grasa, HDL, triglicéridos, índice metabólico ($p>0.001$). La expresión del miR-122 se asocian a obesidad confiriendo 3.85 veces más riesgo ($p=0.002$). La expresión elevada de ambos miARN confiere 3.11 más riesgo del desarrollo de obesidad ($p=0.02$). En conclusión, los niveles de expresión incrementada del miR-122 circulante confiere riesgo al desarrollo de obesidad en escolares de Mérida Yucatán y se asocia directamente con el porcentaje de grasa, niveles séricos de triglicéridos y con índice metabólico; de manera inversa se asoció con los niveles séricos de HDL. El miR-222 no se asoció con obesidad en esta población.

INTRODUCCIÓN

DEFINICIÓN Y DIAGNÓSTICO DE LA OBESIDAD INFANTIL

La obesidad es un trastorno metabólico crónico, complejo y multifactorial. Se caracteriza por una acumulación excesiva de grasa en el organismo conduciendo a un aumento de peso corporal, debido a un desequilibrio entre la ingesta dietética y el gasto energético,^{1,2} sin discriminar edad, sexo, etnia ni clase social.³ Este padecimiento es catalogado como un problema de salud pública, debido a múltiples estudios que evidencian su importancia como el principal factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles.⁴

La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda realizar el diagnóstico cualitativo y cuantitativo, utilizando estándares establecidos como la circunferencia de cintura y el índice de masa corporal (IMC).^{5,6}

El IMC se calcula dividiendo el peso (medido en kilogramos), entre la estatura (en metros) al cuadrado ($IMC = \text{kg}/\text{m}^2$). En adultos, si el IMC se sitúa entre los valores 25 y 29.9, se considera sobrepeso; entre 30 y 34.9, obesidad y sobrepasando los 35, obesidad mórbida.^{1,6}

En el caso de niños y adolescentes menores de 19 años, la OMS recomienda el IMC ajustado a la edad y el sexo, haciendo uso de curvas de crecimiento medidos en percentiles y/o puntaje Z (Anexo I y II); por ejemplo, un percentil mayor a 97.7 o a dos desviaciones estándar de la media, se considera obesidad. El término que engloba al sobrepeso y obesidad es “exceso de peso”, lo que ubica a un individuo por encima de una desviación estándar o del percentil 85. Lo valores mencionados previamente se pueden visualizar en el cuadro 1.⁶⁻⁸

Cuadro 1. Valores en percentiles y puntaje Z para el estado nutricional en niños de entre 5-19 años.

Estado nutricional	Percentiles	Puntaje Z
Peso adecuado	>15P- <85P	Entre -1DE y +1DE
Sobrepeso	>85P- <97P	>+1DE pero <2DE
Obesidad	>97P	>+2DE

P: Percentiles. DE: Desviación estándar. Puntaje Z: El valor a transformar menos la media, lo anterior dividido entre la desviación estándar de la distribución.

EPIDEMIOLOGÍA DE LA OBESIDAD INFANTIL

El problema de la obesidad infantil ha progresado rápidamente en los últimos años. Según reportes de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD), 1 de cada 6 niños padecen sobrepeso u obesidad en el mundo.⁹ A nivel nacional, de acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2006, de 1999 al 2006, la obesidad infantil aumentó de 5.3% a 9.4% en niños y de 5.9 a 8.7% en niñas.^{6,10} Todo esto tiene como resultado que hoy en día existan más niños con problemas de sobrepeso y obesidad que niños con desnutrición o bajo peso.

México ocupa el primer lugar mundial en exceso de peso infantil. Los datos más recientes los presenta ENSANUT a medio camino 2016¹¹ donde reporta una prevalencia de sobrepeso más obesidad de 33.2% en escolares entre 5 y 11 años, donde la menor proporción de estos padecimientos se observa en niñas (32.8%: 20.6% con sobrepeso y 12.2% con obesidad) en comparación con los varones (34%: 15.4% con sobrepeso y 18.6% con obesidad). En la ENSANUT 2012, se reporta una prevalencia de exceso de peso en escolares de 34.4%, a saber, 19.8% de sobrepeso y 14.6% de obesidad, manteniéndose el mismo nivel de alerta para la problemática en cuestión.¹²

Prevalencia a nivel estatal y municipal

El ENSANUT 2012 reportó una prevalencia de sobrepeso-obesidad en Yucatán del 45.2%, correspondiendo al 22.7% para obesidad en escolares.¹³

De acuerdo con el estudio de Barbosa y cols. (2016)¹⁴ la prevalencia de obesidad en Yucatán en el año 2016 fue de 22.7%. Sin embargo, el mismo estudio reporta que en la ciudad de Mérida, capital del estado de Yucatán, la prevalencia de escolares con alguno de estas dos condiciones es de 51%, donde el 25.5% corresponde a obesidad, siendo mayor en varones (28.8%) que en niñas (22%).

IMPORTANCIA DE LA OBESIDAD INFANTIL

Los niños conforman un grupo vulnerable. Esta etapa representa un punto crítico para el desarrollo de padecimientos asociados a los malos hábitos, que repercuten en la generación de adultos enfermos. Si esta patología se previene desde etapas tempranas, se reduciría la prevalencia futura en adultos.

La obesidad infantil trae consigo efectos perjudiciales a corto y a largo plazo, incluido el riesgo de muerte prematura. Las complicaciones afectan múltiples órganos y sistemas, entre los cuales podemos encontrar alteraciones de tipo endocrinológicas, como el síndrome metabólico, dislipidemias, hipertensión arterial, resistencia a la insulina, diabetes mellitus tipo dos (DMT2), síndrome del ovario poliquístico, hiperandrogenismo, pubertad temprana y oligomenorrea; problemas en el sistema cardiovascular, mediante la formación de placa ateromatosa e hipertrofia del ventrículo izquierdo; En el sistema respiratorio se observan problemas como asma, apnea obstructiva del sueño e hipertensión pulmonar. También el sistema gastrointestinal se ve afectado conduciendo al padecimiento de hígado graso no alcohólico, reflujo gastroesofágico y mayor riesgo de colelitiasis; Se observan daños en el sistema osteomuscular por deslizamientos epifisarios, escoliosis y, debido al peso, estrés mecánico que ocasionando dolor en las articulaciones y mayores riesgos de fracturas; en la piel y anexos es frecuente la acantosis nigricans, estrías, mayor predisposición a intertrigo candidiásico y queratosis pilaris. El sistema nervioso no está exento de los efectos que trae la obesidad, ya que se puede presentar pseudotumor del cerebro o hipertensión endocraneana idiopática.¹⁵⁻¹⁷

A su vez, diversos estudios realizados en México encontraron en escolares con obesidad una mayor concentración de triglicéridos y colesterol en sangre conduciéndolos a un mayor riesgo cardiovascular. En Yucatán, un estudio demostró que existen diferencias significativas entre escolares con obesidad y sanos en sus niveles de triglicéridos, y una mayor concentración de colesterol en los primeros.¹⁸ Por todo lo antes mencionado, se puede inferir que una persona seriamente obesa tiene una pobre calidad de vida y mayor riesgo de morir 10 años antes que una persona normal.¹⁷

Se ha observado que la obesidad infantil predice su aparición en adultos: un niño obeso de 10 años tiene de 8 a 10 veces más riesgo de padecerlo a los 35. Así mismo, esta condición incrementa con la edad; esto es, una persona enferma con 18 años de vida tiene entre 35 a 56 veces mayor riesgo de presentarlo a los 35¹⁹. Lo anterior, conlleva a un aumento en la probabilidad de desarrollar otras enfermedades crónico-degenerativas, quienes se ostentan con un 67% como la primera causa de fallecimiento en el mundo, y de las cuales, 80 % ocurren en países en desarrollo.²⁰

Además de las alteraciones fisiológicas, la obesidad también repercute en la salud emocional, generando baja autoestima debido al rechazo de la imagen corporal por la difusión de prototipos ideales esbeltos que conducen a la depresión, aislamiento social y

riesgo de trastornos de alimentación.²¹ También puede existir menor productividad laboral y una disminución en la expectativa laboral.¹⁵

Las complicaciones fisiológicas que trae consigo el exceso de peso son muy costosas, debido a los tratamientos o cirugías. Por otro lado, se agregan otros costos que derivan del ausentismo escolar y laboral, así como la carencia o las pocas oportunidades laborales, las cuales sugieren un ingreso familiar menor impactando sobre la productividad de las naciones y el costo de invalidez recae sobre el gobierno.^{9,22}

ETIOLOGÍA Y FACTORES DE RIESGO DE LA OBESIDAD INFANTIL

Entre las posibles causas de la obesidad en niños, se sugieren factores ambientales, genéticos y epigenéticos.^{23,24}

Factores ambientales

Los factores ambientales que pueden favorecer el desarrollo de obesidad infantil incluyen el contexto sociocultural, familiar y escolar en el que se desenvuelve la población infantil, así como el estilo de vida y la alimentación. Esto depende en gran medida del ejemplo que reciben de los individuos mayores con los que conviven en casa, así como las facilidades y oportunidades que los padres ofrezcan a sus hijos.

La carencia de conocimiento nutricional y la poca disponibilidad e/o inaccesibilidad a la comida saludable conduce a hábitos poco saludables, como lo es ingerir grandes cantidades de azúcar, grasas y sal, meriendas con alimentos procesados en lugar de frutas o verduras, además de porciones muy elevadas de comidas con poco valor nutricional.

La historia cultural también es considerada un factor social. Años atrás en Yucatán, los actuales padres de familia experimentaron problemas de desnutrición, por lo que suelen ofrecer a la generación actual lo que no tuvieron y prevén que lo padezcan, con la idea errónea de que “estar llenito es estar sano”, con el desconocimiento de que la obesidad es, en realidad, una enfermedad.^{16, 23}

Asimismo, algunos padres no fomentan el deporte y favorecen el uso de aparatos electrónicos digitales; sustituyen las caminatas o bicicletas por el uso del automóvil, conduciendo al infante al sedentarismo, considerado la causa del 27% de diabetes y 30% de cardiopatía isquémica. Además, los niños con al menos un padre con obesidad tienen entre 3 y 4 veces más probabilidad de padecerlo.^{3,15, 16} Sin embargo, la respuesta a lo

anterior varía según la persona, atribuyéndose a que el balance energético está también modulado por factores fisiológicos, genéticos y epigenéticos.

Factores genéticos

Respecto a la etiología genética, se proponen tres tipos de obesidad de acuerdo con el origen: monogénica, sindrómica y poligénica o multifactorial.²⁵

De acuerdo con estudios previos, se han observado genes que codifican proteínas destinadas a la transmisión de señales de hambre y saciedad relacionados con el crecimiento y diferenciación de los adipocitos, el control del metabolismo o la regulación del balance energético. Cerca del 20 al 40% de la variación de la energía y la ingesta de macronutrientes es explicada por efectos genéticos; por ejemplo, ciertos estudios refieren que el 21% de la variación en el IMC se debe a variantes genéticas.^{24,25}

Entre los genes presuntamente involucrados en la obesidad monogénica o mendeliana, se encuentra el gen de la leptina (*LEP*), el receptor de leptina (*LEPR*), el de la proopiomelanocortina (*POMC*), el gen de la prohormona convertasa 1 (*PCSK1*), el receptor activado por proliferadores de peroxisoma gamma (*PPAR-γ*), el receptor 4 de la melanocortina (*MC4R*), el gen asociado a la masa grasa y obesidad (*FTO*) y el receptor adrenérgico beta 3 (*ADRB3*), entre otros. Tomando en cuenta esto, se puede decir que no existe un único tipo de obesidad, sino varios con fenotipos similares, incluso la regulación de la expresión génica, mediante mecanismos epigenéticos es un factor importante de predisposición genética.^{24, 25}

Por otro lado, existen síndromes hereditarios en los que la obesidad es una de las características, y que presentan diferentes tipos de herencia: autosómica recesiva como el Síndrome de Cohen; autosómica dominante como la lipodistrofia tipo Dunningan, resistencia a la insulina, Prader-Willi y resistencia a hormona tiroidea; herencia ligada al cromosoma X como el síndrome X frágil tipo Prader-Willi.⁵

Existen también evidencias que indican que la obesidad es una condición en la que puede estar involucrado más de un gen (poligénica), de manera que es importante el estudio de los genes, sus expresiones genéticas, las relaciones entre hormonas y proteínas, así como la interacción con el ambiente externo.²⁶

En los últimos años, la estrategia utilizada para encontrar las bases genéticas de la obesidad poligénica involucra el rastreo de variantes con potencial susceptibilidad bajo la

hipótesis de que cada alelo de cada gen tiene un efecto importante en el fenotipo de la enfermedad, mediante el uso de técnicas de secuenciación masiva del genoma humano (GWAS en inglés).²⁷ Dichos estudios buscan hallar nuevos genes, QTL (quantitative trait loci) o haplotipos, y cuántos de estos son capaces de predecir el riesgo inherente en cada individuo para desarrollar la obesidad. Al respecto, los primeros trabajos con GWAS permitieron identificar 73 loci con asociaciones significativas (valores de p menores a 5.0×10^{-8}), 42 de los cuales se relacionaron al IMC, 3 al porcentaje de grasa corporal, 26 a circunferencia de cintura o índice cintura-cadera y 2 al área de grasa subcutánea o visceral. Se han descrito más de 100 polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) en genes como *FTO*, *MC4R*, *NEGR1* o *TMEM18*²⁸ de los cuales, *FTO* y *MC4R* mostraron el mayor número de variaciones asociadas a la obesidad en diferentes grupos étnicos.²⁷

Factores epigenéticos

Se ha demostrado que el desarrollo de la obesidad puede estar involucrado en la modificación de la expresión génica, alterando la expresión de genes que controlan el apetito, el metabolismo, la señalización de la insulina, la inmunidad, el crecimiento, la regulación del ciclo circadiano, genes impresos, entre otros.^{29, 30}

Respuesta fisiológica

Otra de las causas que puede favorecer el aumento excesivo de peso es la respuesta fisiológica a los efectos secundarios de fármacos como los corticoesteroides, antidepresivos, anticonvulsivos, etc.^{1,2}

EPIGENÉTICA

La epigenética es un proceso que regula la expresión génica a partir de marcas específicas que no modifican la secuencia de ADN, pero que pueden surgir a partir de diversos mecanismos.²⁰⁻³¹

Entre los factores externos o ambientales que influyen en la expresión de los genes encontramos a la nutrición, la hiperglucemia, el estrés oxidativo, el ejercicio físico, las toxinas, la hipoxia, la inflamación, la edad, la historia médica, o incluso la exposición a metales pesados, pesticidas o químicos ambientales. Otros elementos a considerar comprenden la etapa fisiológica en la que se encuentre un individuo, por ejemplo, el embarazo, la lactancia, la pubertad, e inclusive, estadios de la diferenciación celular de los tejidos.^{8,31,32,33.}

Las marcas epigenéticas se pueden heredar por medio de una división celular y éstas afectan la transcripción o traducción de los genes. Entre los mecanismos epigenéticos más estudiados están: a) la metilación del ADN, b) la acetilación y/o metilación de las histonas, también conocida como modificaciones post-traduccionales de las histonas; c) ARN no codificantes.^{20, 30,34}

a) Metilación del ADN: Es la más estudiada y consiste en la adición de un grupo metilo a una citosina adyacente a una guanina (sitios CpG), mediante la formación de un enlace covalente. Esta modificación inhibe la expresión génica, ya que las regiones que presentan una gran cantidad de sitios CpG continuos, denominadas islas CpG, generalmente se localizan en la región promotora de los genes regulando su expresión.^{31,32}

En los mamíferos, la metilación del ADN es llevada a cabo por las ADN-metiltransferasas: DNMT1, DNMT3a y DNMT3b, de las cuales, la primera mantiene la metilación del ADN durante su replicación, mientras que las dos últimas están implicadas en la metilación *de novo* durante el desarrollo y la determinación de la localización celular. Bajo alguna condición fisiológica, como una enfermedad, los sitios CpG de algunos genes importantes son anormalmente hiper o hipometilados, dando como resultado la desregulación transcripcional.^{31,32,33}

b) Modificaciones post-traduccionales de las histonas: La compactación del ADN involucra unas proteínas llamadas histonas, en las que la cromatina se enrolla dos veces aproximadamente, comprendiendo 147 pares de bases (en adelante pb). Lo anterior se conoce como nucleosoma, el cual está constituido por 8 histonas (dos copias de H2A, H2B, H3 y H4) y la cromatina que envuelve al octámero, con la histona H1 en el exterior.^{31,34,35}

Las modificaciones post-traduccionales son procesos dinámicos y reversibles^{33,36}, entre las que se encuentran la acetilación (la más conocida), la metilación, fosforilación y ubiquitinación. No obstante, se han identificado nuevas modificaciones como la O-GlcNAcilación, butirilación, biotinización, ADP-ribosilación, malonilación y crotonilación, entre otros.^{33,35}

c) ARN no codificantes (sARN): Corresponden a un grupo de ácidos ribonucleicos que no codifican ninguna proteína, pero son capaces de regular la expresión de los genes por unión complementaria al transcrito del gen, previo a la traducción. Participan en la regulación de procesos como la apoptosis, la proliferación celular, la diferenciación y el metabolismo.

Además, pueden inhibir directamente la actividad de ciertas enzimas relacionadas con la acetilación de las histonas, lo cual se considera un punto importante en la cascada epigenética.³³

CLASIFICACIÓN DE LOS ARN NO CODIFICANTES

Los ARN no codificantes (sARN) eucarióticos son capaces de regular el 40% de los genes conocidos, entre los que podemos encontrar tres tipos: los ARN interferentes pequeños endógenos (siARN), los asociados a PIWI (piARN) y los micro ARN (miARN).³⁷

piARN. Son pequeños fragmentos endógenos con una longitud entre 23 a 31 nucleótidos (nt), siendo los sARN más largos. Se procesan de manera independiente de la endonucleasa ARNasa tipo III llamada Dicer (diferente a los otros dos tipos), mediante su unión específica a PIWI, una subfamilia de las proteínas Argonautas (AGO). Los piARN tienen como principal función silenciar elementos transponibles en la línea germinal y derivan de elementos repetitivos dentro del genoma de algunos organismos pluricelulares. Para poder discriminar secuencias de genes diferentes a los elementos transponibles, los piARN son regulados por una vía a nivel cromatina.³⁷

siARN. Surgen de fragmentos de ARN de doble cadena endógenos o exógenos (virus) y su procesamiento, el cual genera fragmentos de aproximadamente 21 a 25nt, depende de Dicer; además, se encuentran asociados a AGO al igual que los miARNs. Se encargan del silenciamiento de genes repetidos, transposones y virus como mecanismo de defensa y guía la metilación del ADN dirigiendo el reordenamiento del genoma.³⁷

MICRO ARN

Los miARN son fragmentos de ARN de cadena sencilla provenientes de transcritos endógenos cuyo producto al final del procesamiento contiene una longitud de 22 nt en promedio. Su estructura presenta forma de horquilla y están asociados a proteínas de la subfamilia AGO. El mecanismo de acción de estas moléculas depende del grado de complementariedad con la región 3' no codificante (UTR, del inglés untranslated region) de los ARN mensajeros (ARNm) blancos. El silenciamiento ocurre a nivel traduccional cuyo efecto es la disminución de la síntesis de la proteína que codifica el ARNm blanco, promoviendo la detención de la fase de elongación de esta o provocando su separación anticipada de los ribosomas y posterior degradación. Se estima que, de todos los genes

humanos regulados por sARN, el 30% es atribuible a los miARN. Es importante mencionar que un solo miARN tiene la capacidad de modular aproximadamente 200 transcritos diferentes, quienes pueden estar involucrados en la regulación de distintos procesos celulares. Por otro lado, un solo ARNm puede ser silenciado por diferentes miARN.³⁸⁻⁴⁰

La versión 21 de la base de datos www.mirbase.org, reportó aproximadamente 35,828 miARNs maduros en 223 especies, de los cuales, 2,588 miARN maduros se identificaron en el ser humano. Una actualización en marzo del 2018 registró un total de 38,589 miARN maduros, en 286 especies, siendo 2,654 miARN maduros para *Homo sapiens*. (versión 22, revisado en octubre 2018).^{40,41}

Nomenclatura de los miARN

Para la identificación de los miARN se ha asignado una nomenclatura, la cual se puede visualizar en el cuadro 2.

Cuadro 2. Nomenclatura de los miARN.

Nomenclatura	Significado	Ejemplo
Prefijo de tres letras	Identificación de especies.	hsa (humanos) mmu (ratón)
pri-mir o pre-mir (la r de 'mir' es minúscula)	Indica los transcritos primarios (pri-mir) o el precursor antes del procesamiento por Drosha (pre-mir). Inmaduros.	pri-mir-122, pre-mir-122
miR	miARN maduro.	hsa-miR-16
a o b	miARN estrechamente relacionados en secuencia y origen evolutivo	hsa-miR-20 ^a hsa-miR-20b
-1 o -2	Secuencia de miARN maduros idénticos que se originan de diferentes loci genéticos.	hsa-miR-16-1 hsa-miR-16-2
-3p o -5p	miARN maduros originados del extremo 3' o 5' del pre-mir.	hsa-miR-142-3p hsa-miR-142-5p
miR* (con asterisco)	Cadena pasajera. En baja concentración y usualmente se degrada.	hsa-miR-9*
<i>hsa-miR-122</i> (en cursiva)	Nombre del gen.	<i>hsa-miR-122</i>

Tomado de: Pritchard C, Cheng H, Muneesh T. MicroRNA profiling: approaches and considerations. Nat Rev Genet; 2012.⁴²

Biogénesis y localización de los miARN

El primer miARN descubierto y estudiado en 1993 pertenece al nemátodo *Caenorhabditis elegans*, del gen *lin-4*; para el 2000, se encontró el *let-7* con quien se inició el estudio de los miARN.⁴³

Los miARN se encuentran en regiones exónicas o intrónicas de ARN no codificantes, de ARNm,³⁹ o entre genes.⁴⁴ Cuando se encuentran localizados en intrones y presentan la misma orientación del gen, pueden ser co-transcritos del ARNm. De igual manera, se puede encontrar secuencias de miARN traslapados, en clústers o en regiones no traducidas 5' o 3'.⁴⁴

Existen dos vías para la generación de miARNs, la vía canónica (figura 1) y la vía no canónica: La biogénesis en ambas vías ocurre en el núcleo, por medio de la enzima ARN polimerasa II. El transcrito resultante mide alrededor de 100 nt constituido por uno o varios tallos de doble cadena y por asas o bucles de cadena sencilla, así como los extremos 3' y 5' libres (configuración tallo-asa) al cual se le conoce como miARN primario (pri-miARN). Seguidamente, el pri-miARN es cortado por un microprocesador que incluye a Drosha (una ARNasa III) y al cofactor DGCR8 (región crítica del gen responsable del-síndrome de DiGeorge 8), los cuales reconocen las regiones dúplex del pri-miARN. Gracias a la ARNasa de Drosha, en los extremos basales se agregan 2nt libres (en el extremo 3') y un grupo fosfato (en el 5').^{39,43,45}

En este microprocesador se realizan cortes de la región del tallo de aproximadamente 11 pb, generando una horquilla pequeña de más o menos 65 a 70nt (precursor de miARN o pre-miARN). El producto se asocia a moléculas como la exportina-5 y Ran-GTP para liberarse al citoplasma en donde se unirán a un complejo llamado TAR (o TRBP), la enzima Dicer (ARNasa III) y la proteína quinasa activadora dependiente de ARN de cadena doble inducible por interferón (PRKRA). En el complejo de procesamiento que reconoce pre-miARN, Dicer corta las secuencias cerca del asa terminal, formando un dúplex de miARN (miARN/miARN*) maduro, el cual contiene una cadena madura de miARN (guía) y su cadena complementaria llamada cadena pasajera (miARN*). La secuencia bicatenaria madura generada mide entre 21 a 25 nt.^{39,45}

A continuación, el extremo 3' y el grupo fosfato 5' del miARN maduro se ensamblan con la proteína AGO2 y GW182 para la formación de un complejo silenciador inducido por miARN, RISC.^{39,45}

El complejo RISC selecciona la cadena guía, responsable de dirigir el silenciamiento de genes, y la cadena pasajera se libera. La determinación de la identidad de una u otra secuencia se da por la estabilidad termodinámica del extremo 5'.³⁹

El miARN reconoce al ARNm por complementariedad de bases lo que provoca una represión de la síntesis proteica. Esta unión abarca de la segunda a la octava base del extremo 5' del miARN, conocida como "secuencia semilla", y la región no codificante 3'UTR, del ARNm. El nivel de asociación entre ambos determina el fin de este último. Si el apareamiento es cercano al 100%, el complejo RISC atraerá proteínas para iniciar la degradación del mensajero. En cambio, si es incompleta, RISC bloqueará su traducción.

^{39,43,45}

La principal diferencia entre la vía canónica y la no canónica es el uso de los complejos Drosha y Dicer, ya que, en la segunda los miARNs pueden producirse en vías independientes de Drosha o de Dicer, pero no de ambas.³⁹

Los dúplex generados de miARN-ARNm se almacenan o degradan en estructuras citoplásmicas llamadas «cuerpos de procesamiento» (Cuerpos P), dando como resultado una inhibición de la expresión del gen correspondiente. Sin embargo, los miARN no solamente se encuentran en el citosol celular, puesto que varios estudios han evidenciado la detección de estos en varios fluidos corporales, a quienes se les conoce como circulantes.⁴⁵

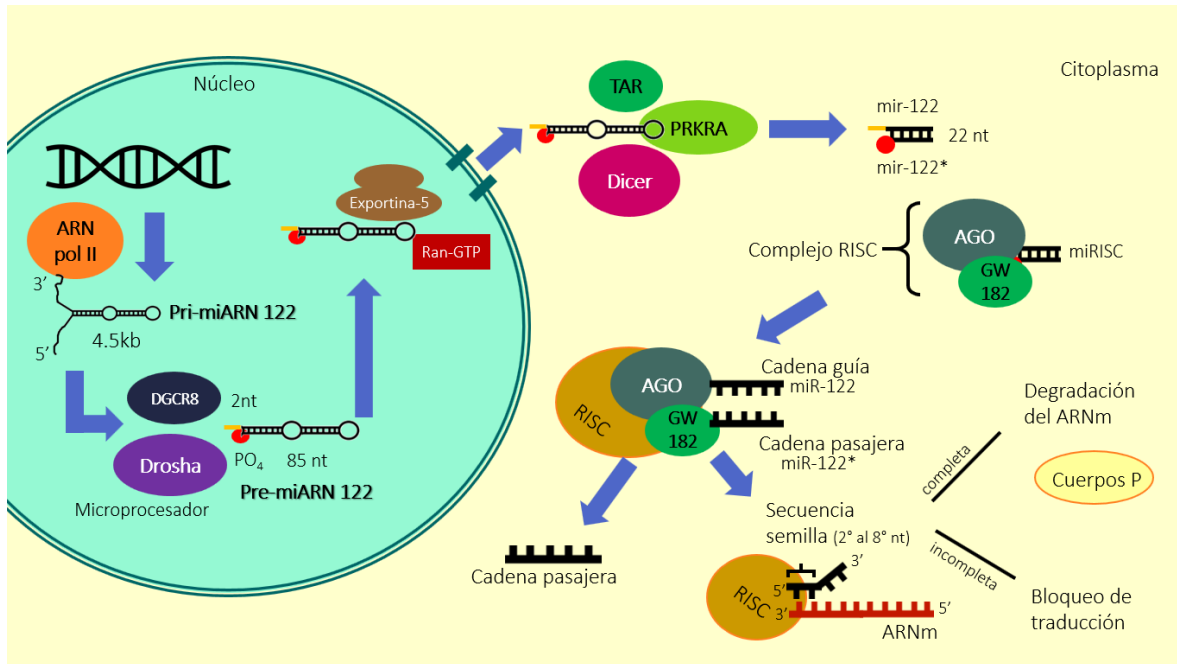


Figura 1. Biogénesis vía canónica de los miARN, ejemplificado el miR-122. La generación de miARN comienza con su transcripción en el núcleo por Pol II, generando un transcrito de 4543 pb. Posteriormente se llevan a cabo dos procesamientos por endonucleasas, uno en el núcleo mismo, llevado a cabo por Drosha, generando el precursor con 85 nt y el siguiente, en el citoplasma por Dicer, donde se produce el miR-122 con 22 nt. La complementariedad de la cadena de miARN con el ARNm respectivo, definirá la represión. Fuente de la imagen: Propia.

MICRO ARN CIRCULANTES

Si bien, la mayoría de los miARN se localizan en el espacio intracelular, es posible observarlos extracelularmente, formando parte de fluidos corporales como suero, plasma, saliva, orina y leche materna. Se encuentran estables y protegidos de la degradación por ribonucleasas, posiblemente gracias a su asociación con proteínas AGO2 o NPM1 (nucleofosmina 1) o contenidos en vesículas membranosas (microvesículas o exosomas), encapsulados en cuerpos apoptóticos, en complejos de lipoproteínas de alta densidad (HDL) o en lipoproteínas de baja densidad (LDL). Sin embargo, estos últimos constituyen una menor proporción en comparación con las vesículas. Además de la protección a ARNasas, la interacción con elementos lipídicos o proteicos evita su degradación por pH extremos, temperaturas elevadas, ciclos repetitivos de congelación-descongelación o el almacenamiento prolongado.^{43,46,47}

Distintos autores proponen que la presencia de los miARN en vesículas es regulada por su concentración en el interior de la célula, siendo seleccionados mediante reconocimiento de

motivos específicos en la secuencia de nucleótidos. Otros estudios indican que la existencia de miARNs extracelular es un proceso no específico y se debe a la muerte o daño de la célula que los contenía, permitiendo su liberación.^{43,47}

La función de los miARNs extracelulares distribuidos a otros tejidos por medio de vesículas se encuentra en debate. Una posible hipótesis que la explicaría se basa en la facilidad con la que los endosomas y cuerpos apoptóticos son capaces de transferir su contenido a otras células. De esta manera, los miARN depositados en células receptoras pueden alterar la expresión génica y los efectos funcionales de las mismas, explicando entonces, la comunicación intercelular o incluso, entre diferentes órganos.⁴³

La comunicación endocrina o paracrina está regulada por un proceso de secreción que sugiere la participación de la vía secretora dependiente de ceramida, la cual podría estar involucrada en la liberación de los miARN's exosomales. Lo anterior se explica debido a que la modulación enzimática que controla la biosíntesis de ceramida altera los niveles de miARN extracelular.^{43,46}

Análisis mostraron que la concentración total de miARN's en plasma, se encuentra dentro del rango femtomolar de 100. Para que la actividad de miARN pueda ser medible y puedan ejercer su función con los ARNm blancos, se requieren aproximadamente 1,000 copias de los primeros.⁴³

Existe evidencia *in vitro* y de trabajos recientes en humanos en los que se han identificado miARN específicos que se asocian a la obesidad.³⁸

MICRO ARN Y OBESIDAD

La relación entre los miARN y la obesidad se estableció gracias a investigaciones en lo que se ha observado que estas moléculas modulan la diferenciación de adipocitos, la homeóstasis del colesterol y los lípidos del hígado, la secreción y señalización de la insulina, la integración metabólica y la regulación del apetito. De este modo, la desregulación de su expresión en el tejido adiposo y otros tejidos contribuye al desarrollo de la obesidad y las patologías asociadas. Existen estudios que relacionan a los miARN con el desarrollo de la obesidad misma, considerándolos como moléculas con potencial terapéutico.^{45,48}

Los miARN pueden expresarse en los tejidos y de manera circulante en suero o plasma. Entre los tejidos que sintetizan estas moléculas asociados a obesidad, encontramos al

adiposo, hígado, páncreas y músculo esquelético.⁴⁹ Por otro lado, diversos artículos han reportado miARN circulantes asociados a varias enfermedades, como diabetes mellitus tipo 2, enfermedades cardiovasculares, daño hepático, esteatosis, hipertensión, dislipidemias, síndrome metabólico, entre otras. En el caso de la obesidad, pocos son los estudios dónde se esclarece la expresión diferencial entre pacientes sanos y pacientes con exceso de peso, Algunos autores han propuesto a los miARN como biomarcadores y otros los han considerado blancos potenciales para tratamientos mediante el uso de moléculas anti-miARN.²⁵

En 2017, un estudio realizado por Zhao y cols. monitoreó durante 5 años una población de mujeres de origen mexicano-americanas, reportando varios miARN incrementados significativamente en relación con la ganancia de peso en el periodo de la investigación, entre ellos, el miR-142, miR-122, miR-222, miR-130b y miR-519d; pero también registraron niveles reducidos de miR-125b y miR-31; de estos, miR-142-3p y miR-122 estaban asociados positivamente al IMC.⁵⁰

En otro estudio realizado por Wang y cols. en el 2015, se determinó que los niveles de miR-122 circulantes en adultos con obesidad eran 3.07 veces mayor que en adultos delgados. Demostraron también, una correlación significativa de este miRNA con el sexo, IMC, porcentaje de grasa corporal, presión sanguínea, resistencia a la insulina, HDL, LDL, presión diastólica y sistólica, niveles de triglicéridos, ALT y AST, entre otros.⁵¹

El estudio de Ortega y cols. (2013)⁵² reportó niveles de expresión elevada de los miR-142-3p, miR-140-5p y miR-222 en pacientes españoles con obesidad mórbida, y encontró asociación entre el miR-222 con el IMC, la masa grasa y circunferencia de cintura. También evidenció que posterior a la cirugía bariátrica los pacientes mostraron una disminución importante de los niveles circulantes de miR-140-5p, miR-142-3p, miR-16-1 y miR-122, lo que sugiere que la grasa corporal influye en la concentración sanguínea de estos. En 2014, los mismos autores encontraron un incremento significativo de miR-140-5p, miR-142-3p y miR-222 en pacientes con diabetes mellitus tipo 2.⁵³

El trabajo de Thompson y cols. (2017)⁵⁴ comparó los niveles circulantes de niños estadounidenses con obesidad y con peso adecuado y los relacionó con la enfermedad del hígado graso no-alcohólico (NAFLD en inglés), encontrando un incremento del miR-122 y el miR-222 en niños con obesidad correlacionados con el IMC. Además, el miR-122 se

asoció con los niveles séricos de transaminasas por lo que se le consideró un biomarcador garantizado para obesidad y NAFLD en niños.

En España, Prats y cols. (2013)⁵⁵ encontraron en niños varios miARN con niveles elevados en sangre y además, fuertemente asociados a obesidad, entre ellos, los miR-486-5p, miR-486-3p, miR-142-3p, miR-130b, miR423-5p, miR-122, miR-532-5p, miR-140-5p, miR-16-1, miR-222 y miR-363. Se puede apreciar un resumen de los estudios anteriores, sujetos de estudio y miARN asociados a diversas variables en el cuadro 3.

Cuadro 3. Estudios donde se reporta la relación entre miARN y obesidad en diferentes poblaciones.

Estudio	Población	Origen	miARN con mayor expresión en obesidad	Ref
Perfil de miARN circulantes en el estudio de la ganancia de peso.	Seguimiento del peso en mujeres con obesidad	Nacidas en EUA, con ascendencia mexicana.	miR-142, miR-122 , miR-222 , miR-130b y miR-519d	50
Obesidad y resistencia a la insulina.	Adultos jóvenes con peso normal vs con obesidad.	China	miR-122	51
miARN circulantes en la obesidad y cirugía bariátrica.	Pacientes con obesidad mórbida	España	142-3p, miR-140-5p, miR-222 y miR-122 .	52
Niveles de miARN circulantes en niños con obesidad y NAFLD.	Niños obesos vs no obesos	EUA	miR-122 , miR-199a, miR-15b, miR-222 , miR-223, miR-181, miR-23a, miR-27b, miR-21-5p, miR-34a-5p, miR-451-5p, miR-192-5p, miR-16-5p,	53
Perfil de miARN circulantes en obesidad infantil.	Niños obesos vs no obesos	España	miR-486-5p, miR-486-3p, miR-142-3p, miR-130b, miR423-5p, miR-122 , miR-532-5p, miR-140-5p, miR-16-1, miR-222 y miR-363	55

Las letras en negritas representan a los dos miARN que se tratan en el presente documento.

El cuadro 3 expone el número reducido de trabajos enfocados a población infantil la cual representa un factor de riesgo para desarrollar obesidad en la edad adulta, así como enfermedades crónicas como la diabetes, síndrome metabólico, varios tipos de cáncer, inclusive de la afectación de su estilo de vida, entre otros.

No obstante, en los estudios realizados en niños va apareciendo evidencia sólida de la correlación de ciertos miARNs con el sobrepeso y obesidad y que, además, se han visto consistentemente en otros grupos de edad. Entre estos, podemos resaltar al miR-122 y miR-222.

miR-122

El gen *hsa-miR-122* es una secuencia conservada entre vertebrados, localizándose en el cromosoma 18 (locus 18q21.31, cadena positiva).^{56,57} El locus del miR-122 está compuesto por 2 exones y 1 intrón, cuya región promotora posee los elementos típicos para ser reconocida por la ARN polimerasa II (Fig. 2A).⁵⁸

La secuencia del transcrito primario (pri-mir-122) contiene 7506 pb de longitud y codifica únicamente al miR-122; posterior al corte y empalme, el transcrito de pri-mir-122 cuenta con 4543 pb. El pri-miRNA se corta mediante el complejo de Drosha y DGCR8, para formar la horquilla pre-miR-122 compuesto de 85 nt. Esta molécula se exporta desde el núcleo y se escinde una vez más en el citoplasma mediante Dicer, dando como resultado el dúplex de miARN bicatenario (Figura 2).⁵⁹

La secuencia de la cadena guía del miR-122 (miR-122-5p) está compuesta por 22 nt siendo la siguiente: 15-UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUG-36 como se visualiza la sección en color rojo de la figura 2b. ⁵⁹

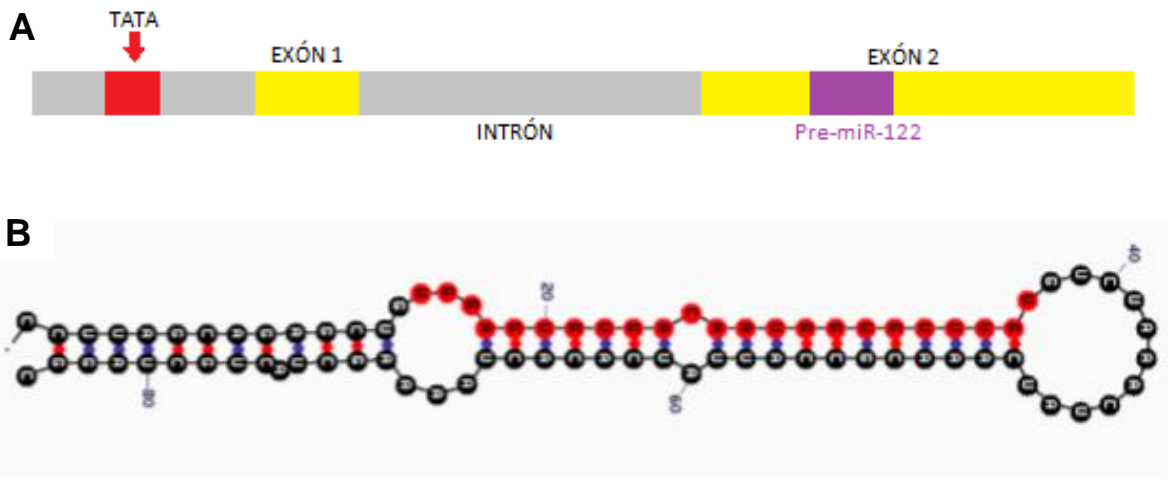


Figura 2. A. Estructura del gen hsa-miR-122. El recuadro rojo indica el promotor (Caja TATA). Recuadros amarillos indican los exones del pri-mir-122. El recuadro morado corresponde a la secuencia que da origen al pre-miR-122. Imagen adaptada de Jopling, 2012. **B.** Estructura del pre-mir-122, el cual cuenta con 85 nt. Los nt en rojo indican el miARN maduro de 22 nt (5' UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUG 3'). Sin embargo, en la figura se agrega un nt debido a que corresponde al miR-122a. Fuente: Imagen de miRNAMap; información de Gailius y cols. 2014. ^{59,60}

La regulación de la expresión del gen es dada por distintos factores, como el Factor Nuclear de Hepatocito 4 α (*HNF-4 α*), siendo expresado en hígado, riñón, intestino y páncreas. El *HNF-4 α* juega un papel clave en la modulación del metabolismo energético, incluyendo la homeostasis de glucosa o de lípidos. Otro factor encargado de mantener el metabolismo lipídico que se piensa podría tener relación con la síntesis de miR-122, es el *PPAR α* . En cuanto a una represión del *hsa-miR-122* en el mecanismo de expresión circadiano, se ha identificado a *REV-ERB α* . Un estudio reciente, sugiere que la leptina, hormona de tejido adiposo inhibe la síntesis *de novo* de ácidos grasos y puede revertir la diferenciación de adipocitos, también inhibe la síntesis de *hsa-miR-122* en las células estrelladas hepáticas. La regulación de *hsa-miR-122* también depende de la conformación de la cromatina por medio de la acetilación de la histona 3 (H3).^{56,57}

El miR-122 tiene como genes blancos a *HMGCoA-R* (Hidroximetilglutaril CoA reductasa), *7DHCR* (7-Dehidrocolesterol reductasa), *MVK* (Mevalonato cinasa), *HMGCoS1*, *FDPS* (Farnesil difosfato sintasa), *SQLE* (Escualeno epoxidasa), *SREBP2* (Proteína de unión al elemento regulador del esterol) y *PMVK* (fosfomevalonato cinasa), que intervienen en la biosíntesis de colesterol; a *ACC1*, *ACC2* (Acetil Co-A carboxilasa 1 y 2 respectivamente), *ACLY* (ATP citrato liasa) y *SCD1* (estearil Co-A desaturasa). que contribuyen al metabolismo de los ácidos grasos; así como a los genes *MTTP* (proteínas de transferencia microsomal de triglicéridos), los cuales favorecen la secreción de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL).⁶¹ La mayoría de los genes blanco forman parte de la biosíntesis del colesterol o del metabolismo de ácidos grasos, por lo que, al silenciarlos los niveles lipídicos disminuirían. No obstante, para explicar que una elevada expresión de miR-122 conlleva a dislipidemias, se sugiere que este regula la expresión de los anteriores de manera indirecta mediante la supresión de un represor transcripcional.⁵⁹

En general, este miARN juega un papel importante en varias funciones hepáticas, desde el metabolismo del colesterol, cáncer de hígado, respuesta al estrés hasta infecciones virales, entre otros, y se ha propuesto como un potencial biomarcador de obesidad y resistencia a la insulina.⁵¹

miR-222

Otro miARN observado en la mayoría de los estudios, entre ellos de obesidad infantil, es el miR-222. Su gen se localiza en una región del locus Xp11.3, expresándose mayormente en adipocitos y liberándose a la sangre.⁶¹ El *hsa-miR-222* se encuentra agrupado a otro miARN (el *hsa-miR-221*) debido a la cercanía entre estos (727 pb de distancia), por lo que la transcripción de ambos es llevada a cabo al mismo tiempo.⁶²

La región promotora del gen *hsa-miR-222* presenta dos cajas TATA canónicas, situadas a 550 y 190 pb corriente arriba de la región del pre-miR-222 (Fig. 3A). La señal de la sección poli A 3' se encuentra corriente abajo de la secuencia de pre-miR-221. La expresión del clúster de miR-222/221 es controlado vía Angiotensina II, mientras que la regulación negativa está dada por el co-represor del receptor nuclear NCOR1 y NCOR2.⁶³

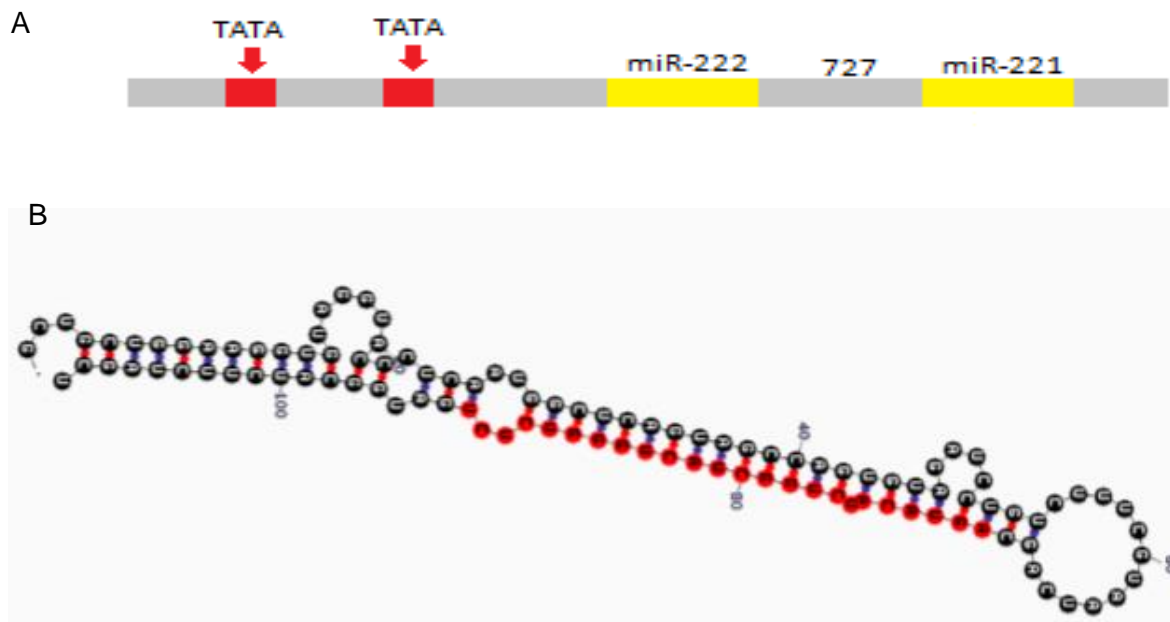


Figura 3. A. Estructura del gen *hsa-miR-222*. Se observa que forma un clúster con el miR-221. El recuadro rojo indica el promotor (Caja TATA). Recuadros amarillos indican los pre-miR-222 y 221. El número indicado entre miR-222 y 221 refiere a la distancia en pb entre las dos secuencias. Imagen adaptada de Abak, *et al.* 2018. **B.** Secuencia y estructura del pre-miR-222 compuesto por 110 pb, cuya secuencia madura corresponde a 21 nt con la siguiente secuencia: 69 – AGCUACAUCUG GCUACUGGGU – 89. Fuente: Imagen de miRNAMap; información de Tabasi 2009.⁶²

El transcrito pre-miR-222 consta de 110 pb con la siguiente secuencia: 5'-GCUGCUGGAAGGUGUAGGUACCCUCA AUGGCUCAGUAGCCAGUGUAGA UCCUGUCUUUCGUAAUCAGCAGCUACAUCUGGCUACUGGGUCUCUGAUGGCAUCUUCUAGCU-3'. La secuencia del miR-222 consta de 21 nt como se puede apreciar en la figura 3b.⁶²

Estudios refieren que en la obesidad, la función del miR-222 involucra la vía de la insulina por los genes blanco con que se ha encontrado asociación: *STAT5A* (transductor de señales y activador transcripcional 5a), *CDKN1B* (cinasa dependiente de ciclina 1B), *c-CBL* (proteína ligasa de ubiquitina), *PI3KR1* (Regulador de fosfatidilinositol 3 cinasa subunidad 1) y *SOCS1* (Supresor de la señal de citocina 1).⁴⁴ El miR-222 es también un regulador negativo de la sensibilidad a la insulina de los adipocitos, a través de la aparente represión de *ERα* y *GLUT4* (transportador de glucosa 4).⁵⁹ Además, se encuentra relacionado positivamente con el IMC, el porcentaje de grasa corporal y la obesidad mórbida.⁵³ Otro estudio señaló que los niveles del miR-222 están disminuidos durante la adipogénesis, pero con expresión elevada en obesidad. Sin embargo, esta expresión se encuentra incrementada en tejido adiposo de ratas obesas y dicho proceso parece estar inducido por *TNF-α*. Se ha reportado también que dicho miARN tiene una función durante la inflamación crónica en la obesidad: inhibe la proliferación de células endoteliales y la angiogénesis, lo que contribuye a desarrollar hipoxia en los tejidos, favoreciendo la producción de adipocinas proinflamatorias lo que conlleva a estimular también otros miARN conduciendo a la resistencia a la insulina.⁶⁴

Por lo anterior, en este estudio se evalúa la expresión de los miR-122 y 222 circulantes en escolares con obesidad y con peso adecuado y se estima el riesgo conferido por cada uno, debido a su potencial como biomarcadores de obesidad y resistencia a la insulina, así como su importancia como dianas terapéuticas mediante la síntesis de anti-miARN o tratamientos alternativos con miARN miméticos. Esto contribuirá a la prevención y tratamiento de la obesidad, a reducir la prevalencia y evitar futuras complicaciones, ya que la población infantil, además de ser un grupo vulnerable, presentar obesidad en esta etapa podría ser un factor de predisposición del padecimiento y las comorbilidades en adultos.

DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

La obesidad infantil es una enfermedad crónica que presenta gran número de complicaciones, afectando múltiples sistemas y tejidos, generando también una mayor

predisposición a padecer cáncer. Lo anterior puede presentarse a corto o a largo plazo, reduciendo la calidad y esperanza de vida de quien la padece. Además, se ha demostrado que este padecimiento es importante para la predicción de la obesidad en adultos, la cual incrementa los gastos en el cuidado de la salud. En México, la obesidad infantil es altamente prevalente, siendo Yucatán uno de los estados con las cifras más preocupantes.

De origen multifactorial, la obesidad puede ser causada por factores internos, externos o la interacción entre ambos, de lo cual, la epigenética se encarga de explicar. En nuestro país existen pocos estudios enfocados en este campo, y son menos aquellos relacionados con los niveles de expresión de los miARN circulantes a pesar de que se han reportado en otros países asociaciones significativas con la obesidad.

El miR-122 se ha relacionado con el metabolismo de grasas, que en personas con obesidad lleva a un aumento de lípidos en sangre, generando un mayor riesgo cardiovascular. El miR-222 se relaciona con la inflamación y la resistencia a insulina, conduciendo al desarrollo de DMT2. Ambos miARN están íntimamente relacionados con el IMC, porcentaje de grasa corporal y se han reportados en niños con obesidad.

Considerando la carencia de estudios en México donde se mida el perfil de expresión y la relación de los miARN circulantes con la obesidad, específicamente el miR-122 y el miR-222, ambos reportados desregulados y asociados a esta condición en múltiples poblaciones, propuestos como potenciales biomarcadores de obesidad, la presente tesis busca responder:

¿Los niveles de expresión de los microARN 122 y 222 circulantes se relacionan con características de la obesidad en escolares de Mérida, Yucatán?

JUSTIFICACIÓN

La obesidad, como trastorno crónico-degenerativo, conlleva a una mayor probabilidad de muerte prematura debido a la presencia de enfermedades no transmisibles, sin embargo, en niños puede ser prevenible y tratable, evitando futuros adultos obesos. Tomando en cuenta la alarmante prevalencia de exceso de peso en Yucatán, la carencia de estudios del índole epigenética-obesidad, y sabiendo que dicha condición patológica es compleja, el estudio del perfil de expresión de los miARN permite ampliar el entendimiento de su etiología y, conocer el comportamiento de estas moléculas en nuestra población nos permitirían implementar los tratamientos propuestos en otros países con el mismo patrón de expresión.

Es por lo que, en primera instancia, se propone determinar si existen diferencias significativas entre la expresión relativa de los miARN circulantes entre escolares con obesidad y peso adecuado de nuestra población. Posteriormente, se identifica la asociación de dicha expresión con características de la obesidad para evaluarlos como biomarcadores. Esto permitiría el desarrollo de dianas terapéuticas y su aplicación como tratamientos alternativos, por ejemplo, anti-miARN o miARN miméticos para compensar la sobre o sub-expresión, respectivamente.

HIPÓTESIS

La expresión relativa media de los miARNs miR-122 y miR-222 circulantes son significativamente diferentes en escolares con obesidad que en escolares con peso adecuado. Los niveles de expresión de estos miARN confieren riesgo a la obesidad en escolares de Mérida, Yucatán, México.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el riesgo conferido por los microARN 122 y 222 circulantes a la obesidad en escolares de Mérida, Yucatán, México.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Estimar la expresión relativa media de miR-122 y miR-222 circulantes en escolares obesos y normopeso de Mérida.
2. Determinar la asociación de la expresión relativa de los miARN miR-122 y miR-222 con indicadores antropométricos de escolares de Mérida.
3. Identificar la asociación de la expresión relativa de los miARN miR-122 y miR-222 con parámetros bioquímicos sanguíneos de escolares de Mérida.
4. Evaluar el efecto de la dieta y la actividad física sobre los niveles de expresión de los miARN miR-122 y miR-222 en escolares de Mérida.
5. Determinar la asociación de los niveles de expresión de los miARN miR-122 y miR-222 con la obesidad en escolares estratificando por sexo.
6. Establecer un modelo de riesgo a partir de las variables epigenéticas y ambientales para la obesidad en escolares de Mérida.

MATERIALES Y MÉTODOS.

TIPO Y DISEÑO DEL ESTUDIO

Se realizó un estudio de tipo casos y controles comparativo, analítico, transversal y prospectivo, en el que se midieron la expresión relativa de dos miARNs extraídos de sangre total. Además, se realizaron comparaciones de las mediciones antropométricas, de parámetros bioquímicos, análisis dietético y de actividad física en dos grupos de niños: con peso adecuado y con obesidad. Finalmente, se determinó la asociación existente entre la expresión de los miARN, los valores antropométricos, los parámetros bioquímicos y el análisis dietético y deportivo con la condición de padecer obesidad.

UNIVERSO

La población estuvo conformada por niños y niñas estudiantes de escuelas primarias públicas con un rango de edad entre 6 a 12 años, con estado nutricional catalogado según la OMS como peso adecuado y obesidad.

MUESTRA

La muestra comprende niños y niñas pertenecientes a siete escuelas elegidas por conveniencia, ubicadas en el centro-poniente de la ciudad de Mérida, Yucatán.

Las escuelas son Esc. Prim. Rafaela Rodríguez, Esc. 5 de mayo, Prim. Miguel Hidalgo y Costilla, Prim. Francisco I. Madero, Prim. Netzahualcóyotl, Prim. Ramón Navarrete Rosado, Prim. Manuel Sales Cepeda y Prim. Leyes de reforma, cuya ubicación se puede observar en el mapa de la figura 4.

Se obtuvo una muestra total de 104 escolares correspondiendo a 54 niños con obesidad y 50 niños de peso adecuado. Sin embargo, se verificó el cumplimiento de los criterios de exclusión y eliminación para resultar en un total de 100 niños, 49 niños con peso adecuado y 50 con obesidad.

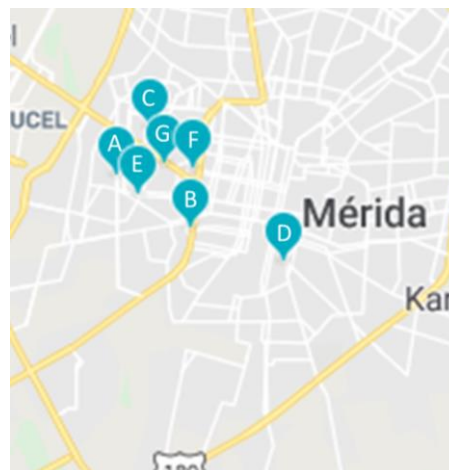


Figura 4. Ubicación geográfica de seis escuelas públicas pertenecientes al PIOY. A) 5 de Mayo B) Rafaela Rodríguez. C) Miguel Hidalgo y Ramón Navarrete Rosado. D) Manuel Sales Cepeda. E) Francisco I. Madero. F) Leyes de Reforma. G) Netzahualcóyotl.

Cuadro 4. Distribución de escolares participantes por escuela. Coordenadas de las escuelas participantes.

Escuelas primarias públicas	Coordenadas
A. 5 de Mayo	20°58'22.1"N, 89°39'36.1"O
B. Rafaela Rodríguez	20°57'37.0"N, 89°38'31.4"O
C. Miguel Hidalgo y Costilla y Ramón Navarrete Rosado	20°59'14.4"N, 89°39'14.4"O
D. Francisco I Madero	20°58'09.1"N 89°39'26.7"O
E. Leyes de Reforma	20°58'34.0"N 89°38'30.7"O
F. Netzahualcoyolt	20°58'38.4"N 89°38'59.5"O

DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES Y ESCALAS DE MEDICIÓN

Las variables dependientes para el presente trabajo serán: Expresión relativa de dos miARN circulantes (miR-122 y miR-222) (variable cuantitativa), niveles de expresión de los miARN circulantes miR-122 y miR-222 (variable cualitativa) y para el desarrollo del modelo de riesgo, se utiliza el estado nutricional del escolar (con dos categorías: peso adecuado y obesidad).

Las variables independientes comprenden al sexo, peso corporal, talla o estatura, circunferencia de cintura, índice de masa corporal, estado nutricional, índice cintura-estatura (ICE), entre otras, las cuales se pueden apreciar en el cuadro 5, con respecto a sus definiciones conceptuales y operacionales, así como en el cuadro 6 el tipo y escala de medición.

Cuadro 5. Definición conceptual y operacional de las variables de estudio. Adaptado de referencia 15.

Variable	Definición conceptual	Definición operacional
Sexo	Condición orgánica la cual distingue entre masculino y femenino.	Mediante observación se le asignará al niño una categoría: a) Femenino: Identifica a las mujeres. b) Masculino: Identifica a los hombres.
Peso corporal	Medida de la masa corporal.	Medición de la masa corporal de una persona en kilogramos con la técnica de Lohman y cols. ⁶⁷ Se utilizará una báscula calibrada marca SECA modelo 760, con una precisión de ± 100 gramos y con capacidad máxima de 150 kg.
Estatura	Medida del eje vertical mayor del cuerpo, que comprende el punto más prominente del cráneo y la planta de los pies.	Medición del eje vertical mayor de una persona en metros, con la técnica de Lohman y cols. ⁶⁷ Se empleará estadímetro móvil de plástico marca SECA modelo 217 con rango de medición 20-205 cm y barra superior móvil en forma circular.
Circunferencia de cintura	Medida de la circunferencia comprendida entre la última costilla (10ª costilla) y el borde anterosuperior de la cresta iliaca derecha e izquierda. (51)	Medición de la circunferencia localizada en el punto medio de la décima costilla y el borde superior de la cresta iliaca en centímetros, según la técnica de Lohman y cols., ⁶⁷ con una cinta métrica flexible marca Lufkin modelo W606PM.
Índice de masa corporal para la edad	Indicador indirecto de la masa grasa corporal.	Es el resultado de la división del peso corporal entre el cuadrado de la estatura en metros; posteriormente, se ubicará la desviación estándar en las curvas de crecimiento de la OMS. Se diagnostica a partir de este indicador: a) peso adecuado $> -1DE$, $< +1DE$ b) sobrepeso $\geq +1DE$, $< +2DE$ c) obesidad $\geq +2DE$ [†]

Índice cintura-estatura.	Indicador indirecto de la masa grasa corporal que se utiliza como recurso alternativo en el diagnóstico de obesidad abdominal.	Resultado de la división de la circunferencia de cintura en centímetros entre la estatura en centímetros.
Obesidad Abdominal	Acumulación excesiva de grasa en la zona abdominal, asociada con el inicio de enfermedades cardiovasculares.	Se diagnostica a partir del indicador cintura-estatura pediátrica ⁶⁸ : Obesidad abdominal: ICE > 0.5
Porcentaje de grasa corporal	Es la medida de la composición corporal que corresponde a la cantidad de grasa corporal que tiene una persona.	Se medirá con bioimpedancia eléctrica por medio de una báscula de marca Tanita® con una capacidad máxima de 150 kg.
Ingesta calórica	Ingreso de energía a través de la dieta de los escolares.	Consumo de energía en kilocalorías, obtenido a través de recordatorio de 24 horas de la historia clínica nutricional.
Actividad Física	La actividad física consiste en juegos, deportes, desplazamientos, actividades recreativas, educación física o ejercicios programados, en el contexto de la familia, la escuela o las actividades comunitarias.	Mediante la encuesta incluida en la historia clínica-nutricional, se obtiene un puntaje dado por las respuestas obtenidas. Los puntajes determinan el grado de actividad física que realice: escasa, leve, moderada o intensa.
Hábitos alimenticios	Comportamientos alimenticios recomendados por las guías de alimentación. Incluyen una dieta equilibrada, 5 alimentos al día, bajo consumo de refrescos, dulces y alimentos altos en grasa. Bajo consumo de comida rápida.	Mediante la encuesta incluida en la historia clínica-nutricional, se obtiene un puntaje dado por las respuestas obtenidas. Los puntajes determinan los hábitos agrupados en dos: saludables y poco saludables. Se mide la frecuencia en el consumo de cada grupo de alimentos, refrescos, comida chatarra y número de comidas al día, así como frecuencia de consumo de alimentos fuera de casa.
Glucemia en ayuno	Niveles de glucosa en suero sanguíneo.	Concentración de glucosa en suero sanguíneo en mg/100ml en condiciones de ayuno. 70 a 100 referencia normal.
Trigliceridemia en ayunas	Niveles de triglicéridos en suero sanguíneo.	Concentración de triglicéridos en suero sanguíneo en mg/100ml en condiciones de ayuno. <150 adecuado 150-199 límite alto 200 a 499 elevado >500 muy elevado

HDL en ayunas	Niveles de lipoproteína de alta densidad en suero sanguíneo.	Concentración de colesterol HDL en suero sanguíneo en mg/100ml en condiciones de ayuno. <40 Bajo >60 óptimo
LDL en ayunas	Niveles de lipoproteína de baja densidad en suero sanguíneo.	Concentración de colesterol LDL en suero sanguíneo en mg/100ml en condiciones de ayuno. <100 óptimo, adecuado 100 a 129 Adecuado casi óptimo 130 a 159 Límite alto 160 a 189 Elevado >190 Muy elevado
VLDL en ayunas	Niveles de lipoproteína de muy baja densidad en suero sanguíneo.	Concentración de colesterol VLDL en suero sanguíneo en mg/100ml en condiciones de ayuno. <100 óptimo, adecuado 100 a 129 Adecuado casi óptimo 130 a 159 Límite alto 160 a 189 Elevado >190 Muy elevado
Índice metabólico (IM)	Indicador indirecto de resistencia a la insulina.	Se calcula con los valores de glucosa, triglicéridos y HDL en ayuno. La fórmula propuesta por Roitberg ⁶⁹ y cols. es: $IM = \frac{\text{Glucosa} \times \text{Triglicéridos}}{\text{HDL}^2}$
Expresión relativa de los miR-122 y miR-222 circulantes	Expresión cuantitativa representada mediante una comparación de los valores de Ct del miARN objetivo en relación con un gen de referencia dentro de una misma muestra. Mediante normalización global se representa la expresión del grupo control (peso adecuado) como valor de referencia. La normalización se realiza con el promedio de los valores del grupo control.	Por medio de la técnica de PCR tiempo real-cuantificación relativa se realiza del método doble delta Ct obtenido con el Software Data Assist (<i>Applied Biosystem</i> ®), se calcula un valor numérico que indica cuántas veces se encuentra expresado en relación con el gen de referencia base. Los variables son cuantitativas continuas: Valor 1: Expresión no diferencial entre el miARN objetivo y el gen de referencia. Valores <1: Expresión disminuida. Valores >1: Expresión elevada.
Niveles de expresión de los miR-122 y miR-222 circulantes (cualitativa).	Dicotomización de la expresión de los miR 122 y 222 en dos categorías: Niveles incrementados y niveles no-incrementados.	Para la categorización de los niveles de expresión se estableció como punto de corte la mediana de

		<p>la expresión relativa de los miARN del grupo control.</p> <p>Mediana de la expresión del miR-122: 0.81.</p> <p>Mediana de la expresión del miR-122:1.629.</p>
Nivel de expresión conjunto de los miR-122 y miR-222 circulantes (cualitativa).	Niveles de expresión circulantes de ambos miARN.	<p>Se consideran 4 categorías de acuerdo con los niveles de expresión circulante de miR-122 + miR-222:</p> <p>Nivel incrementado conjunto (ambos).</p> <p>Nivel incrementado sólo miR-122. El miR-222 no se encuentra elevado.</p> <p>Nivel incrementado sólo miR-222). El miR-122 no se encuentra elevado.</p> <p>Nivel no-incrementado conjunto (ambos).</p>

↓ DE: Desviación estándar

*Ct: Cycle threshold o valor umbral de ciclo: punto donde la fluorescencia rebasa el umbral establecido

Cuadro 6. Variables utilizadas en el análisis de datos.

Variable	Tipo	Escala	Unidad de medida
Sexo	Cualitativa	Nominal dicotómica	0= Mujer 1=Hombre
Peso corporal	Cuantitativa	De razón continua	Kilogramos (Kg)
Estatura	Cuantitativa	De razón continua	Metros (m)
IMC	Cuantitativa	De razón continua	Kg/m ²
Diagnóstico de IMC por percentiles	Cuantitativa	De razón continua	Normopeso: P15-P85 Obesidad: >P97
Diagnóstico de IMC por puntaje Z ⁻	Cuantitativa	De razón continua	Normopeso: $Z \geq -1DE^+$ y $\leq +1DE$ Obesidad: $Z \geq +2 DE$
Circunferencia de cintura	Cuantitativa	De razón continua	Centímetros (cm)
Índice cintura estatura	Cuantitativa	De razón continua	Sin unidad
Obesidad abdominal	Cualitativa	Nominal dicotómica	0= Sin obesidad abdominal (ICE <0.5) 1= Con obesidad abdominal (ICE>0.5).
Porcentaje de grasa corporal	Cuantitativa	De razón continua	Porcentaje
Consumo de energía	Cuantitativa	De razón continua	Calorías totales y por nutriente
Actividad Física	Cualitativa	Ordinal	0=inactividad o actividad escasa 1=Actividad leve 2=Actividad moderada 3=Actividad intensa
Hábitos alimenticios	Cualitativa	Nominal dicotómica	0=Saludables 1=Poco saludables
Glucosa	Cuantitativa	De razón continua	Mg/dL
Triglicéridos	Cuantitativa	De razón continua	Mg/dL
HDL	Cuantitativa	De razón continua	Mg/dL
LDL	Cuantitativa	De razón continua	Mg/dL
VLDL	Cuantitativa	De razón continua	Mg/dL
IM	Cuantitativa	De razón continua	Sin unidad. IM < 7 = Sin riesgo a resistencia a la insulina. IM > 7 = Con riesgo a resistencia a la insulina.
Expresión relativa de los miR-122 y 222 circulantes	Cuantitativa	De razón continua	Número de veces expresado en relación con una referencia base.
Niveles de expresión de miR-122 y 222 circulantes	Cualitativa	Nominal dicotómica	0= Niveles no incrementados. 1= Niveles incrementados

<p>Nivel de expresión conjunta de miR-122 y miR-222 circulantes</p>	<p>Cualitativa</p>	<p>Nominal politómica</p>	<p>NIC: Nivel incrementado conjunto (ambos).</p> <p>NI-122: Sólo miR-122 con nivel incrementado. El miR-222 no se encuentra elevado.</p> <p>NI-222: Sólo miR-222 con nivel incrementado. El miR-122 no se encuentra elevado.</p> <p>NNC: Nivel no-incrementado conjunto (ambos).</p>
<p>↓ DE: Desviación estándar *Ct: Cycle threshold o valor umbral de ciclo: punto donde la fluorescencia rebasa el umbral establecido ~El puntaje Z se calcula restando el valor antropométrico real menos la mediana de los datos, todo esto, dividido entre la desviación estándar.</p>			

CRITERIOS

Cuadro 7. Criterios para la selección de la muestra.

Criterios	Caso	Control
Inclusión	<p>Escolares no consanguíneos con obesidad de acuerdo con criterios de la OMS para niños de 5 a 12 años, determinado por IMC para la edad, como obesidad:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Percentil: > 97.7 • Puntaje Z: mayor a dos desviaciones estándar 	<p>Escolares no consanguíneos con peso adecuado, de acuerdo con criterios de la OMS para niños de 5 a 12 años, determinado por IMC para la edad, como peso adecuado:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Percentil: >15 y <85 • Puntaje Z: Entre -1 y 1 desviaciones estándar.
	<ul style="list-style-type: none"> • Escolares que cursen la educación primaria en las escuelas públicas de la Secretaría de Educación del Estado de Yucatán. • Escolares con autorización (firma de consentimiento informado) por parte del padre de familia o tutor, para la participación en el proyecto. • Escolares que firmen la carta de asentimiento, otorgando su participación. 	
Exclusión	<ul style="list-style-type: none"> • Escolares con diagnóstico clínico evidente de síndromes genéticos asociados con obesidad. • Escolares con peso bajo de acuerdo con criterios de la OMS, que muestren un IMC para la edad menor a 15 percentil o con sobrepeso con IMC para la edad mayor a 85 pero menor de 97 percentil. • Escolares con tratamiento farmacológico que altere el metabolismo o que consumen habitualmente medicamentos esteroides, antipsicóticos (Clozapina, Olanzapina, Quetiapina y Fenotiazinas), antidepresivos (heterocíclicos, mirtazapina, inhibidores selectivos de recaptura de serotonina), antiepilépticos y otros (valproatos y litio).¹⁷ 	

	<ul style="list-style-type: none"> • Escolares con diagnóstico médico de enfermedades crónicas: endócrinas como diabetes tipo 1 o 2, hiper o hipotiroidismo, síndrome de Cushing, déficit de la hormona del crecimiento, insulinoma, síndrome de ovario poliquístico, Síndrome de Stein-Leventhal, lesiones hipotalámicas e hiper o hipocortisolismo; renales entre las que abarca la insuficiencia renal crónica, infección crónica de vías urinarias, litiasis urinaria, tubulopatías (acidosis tubular renal), enfermedades hepáticas; psiquiátricas como trastornos del sueño, depresión mayor o esquizofrenia; inmunitarias como la enfermedad inflamatoria intestinal o lupus eritematoso sistémico, y cualquier tipo de cáncer.^{5,17} • Los padres que no firmaron la carta de consentimiento informado.
Eliminación	<ul style="list-style-type: none"> • Los niños que no dieron asentimiento para la toma de muestras de sangre y la realización de la antropometría, a pesar de la firma del consentimiento informado por los padres o tutores. • La ausencia de algún dato en niños participantes. • El retiro voluntario de los niños o por decisión del padre o tutor, a pesar de haber firmado la carta de consentimiento. • De quienes se obtenga material biológico o ARN degradado o baja calidad que no permita ensayo de laboratorio.

Definición de la exposición

La exposición es definida como la expresión relativa y los niveles de expresión de los miR-122 y miR-222 comparada con el grupo control como valor de referencia en la normalización.

FUENTES Y RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN

Para la recolecta de información se visitaron escuelas primarias públicas de la Secretaría de Educación Pública (SEP) del Estado de Yucatán, las cuales se ubican en el interior de la ciudad de Mérida en Yucatán, México.

Se solicitó el permiso a la SEP y a los directores de cada plantel para autorizar la participación de los padres y escolares inscritos, así como permitir el uso de sus instalaciones.

Días previos a la reunión programada para otorgar información, se entregaron invitaciones de asistencia y se colocó un cartel dónde se exponía el día y hora de la junta. Durante la junta informativa dirigida a los padres de familia, se entregaron folletos y se presentó el proyecto por medio de material audiovisual (presentación en diapositivas dirigida) o rotafolios.

Taller para padres

La junta informativa, con duración de 1 hora (de 7:00 am a 8:00 am), se llevó a cabo en las escuelas en espacios otorgados por el directivo a cargo. Se presentó el proyecto exponiendo el objetivo, propósito y se explicó detalladamente el método a seguir, en qué consistía la participación de cada uno y qué requerían para formar parte. También, se mencionaron los riesgos y beneficios del estudio y se aclararon las dudas. Concluida la junta, se les invitó a registrarse y agendar cita, firmaron la carta de consentimiento informado y se entregó la carta de asentimiento para el menor, misma que devolvieron el día de la toma de datos.

Se establecieron fechas para la toma de datos, las cuales consistía en una hora (de 7 am a 8 am) para la toma de sangre y medidas antropométricas y a partir de las 8 am, se programaron entre 3 y 4 citas de 30 min cada una, donde la asistencia del padre o tutor era requerida.

El espacio otorgado para la toma de muestra se distribuyó en dos estaciones: una destinada a la toma de sangre y la otra para mediciones antropométricas. En primera instancia se realizaba la antropometría y en seguida, la recolecta de sangre periférica. Para concluir la participación de cada escolar y su respectivo tutor, durante la cita agendada después de la toma de muestra y mediciones, se realizó la historia clínica nutricional.

Toma de datos antropométricos

A cargo de cuatro nutriólogos se realizaron mediciones de peso, talla, circunferencia de cintura, porcentaje de grasa corporal, con ayuda de básculas, estadiómetro y cinta métrica, cuya técnica se describe más adelante.

Toma de muestra sanguínea

Se colectaron 6 ml de sangre en dos tubos, cada uno con 3 ml: el tubo morado con anticoagulante EDTA se destinó para la medición de miARN y el tubo rojo para parámetros químicos. Todos los tubos se etiquetan con un folio y se almacenan en gradillas colocadas en neveras con hielo para el posterior transporte al laboratorio.

Historia clínica-nutricional y validación

La historia clínica-nutricional se elaboró a manera de encuesta con 27 ítems cada uno con 4 opciones de respuesta correspondiente a una escala, según corresponda. En ella se buscó obtener información de hábitos alimenticios y deportivos, así como frecuencia de consumo de alimentos. Además, se incluyó el formato para la elaboración del recordatorio de 24 horas.

El contenido de la encuesta se validó por el método de agregados individuales y posteriormente se sometió a pilotaje. Finalmente, se evaluó la consistencia interna del instrumento obteniendo un alfa de Cronbach de 0.739. Dicha validación se realizó a mamás y/o papás de niños entre 6 y 12 años que estudien en escuelas primarias.

Todas las historias clínicas nutriólogicas se resguardaron en un locker bajo llave a disposición solamente de los investigadores a cargo. Las bases de datos creadas para el estudio se almacenaron en la computadora del investigador responsable protegidos con contraseña de seguridad.

Posterior a la toma de sangre y datos antropométricos se le otorgó al niño un pequeño refrigerio, calcomanías y un lápiz. A los padres de familia se les ofreció asesoría nutricional del menor, de acuerdo con los datos antropométricos y dietéticos obtenidos. También se les entregó los resultados de los análisis químicos sanguíneos de su hijo.

Ensayos de laboratorio

Los ensayos de laboratorio para la determinación de los perfiles de expresión de miARN circulantes consistieron en extraer los ácidos nucleicos, sintetizar el ADN complementario y cuantificar por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real.

Lo anterior se llevó a cabo en el laboratorio de genética del Centro de Investigaciones Regionales “Dr. Hideyo Noguchi” unidad biomédica, localizado en la calle 43 s/n, Inalámbrica, con código postal 97225 en la ciudad de Mérida, Yucatán.

MÉTODOS Y TÉCNICAS

TÉCNICAS DE ANTROPOMETRÍA.

Se tomaron medidas antropométricas de peso, talla y circunferencia de cintura, para posteriormente calcular el IMC, el IMC para la edad por puntaje Z y percentiles de acuerdo con la OMS y el índice de cintura-estatura.

Peso corporal: Se utilizó como instrumento una báscula calibrada marca SECA© modelo 760. Previamente, se le solicitó al niño que vaya con ropa ligera, se retire zapatos y calcetines, además de que esté en ayunas, habiendo orinado y defecado antes de la medición. El niño se colocó sobre la báscula, con los pies ligeramente separados sobre las plantillas, totalmente erguido, brazos descansando a los costados. Se anotó el valor registrado.⁶⁷

Talla: El instrumento utilizado fue un estadiómetro de uso móvil, marca SECA© modelo 217. Se le pidió al niño que se retire los zapatos y adornos en el pelo, así como peinados en caso de que se interfieran con la medición. Se verificó que las puntas de pies estén ligeramente abiertas (45°), los talones, cadera y superficie posterior de la cabeza estén en contacto con la pared del estadiómetro. Se verificó que las rodillas no estuvieran flexionadas y los hombros estuvieran relajados. Se registró el dato.⁶⁷

Circunferencia de cintura: Se utilizó la cinta Lufkin© modelo W606PM. Se midió por arriba de la prenda de uniforme por respecto al niño/a. El niño estuvo erguido, con el peso distribuido en ambos pies, levemente separados y el abdomen relajado. Por detrás del menor se identificó la parte más estrecha del torso. Se le solicitó levantar los brazos, para rodear la cintura con la cinta. La cinta se tensó. Finalmente, se registró el dato.⁶⁷

Porcentaje de grasa: En la báscula marca Tanita® se introdujeron los parámetros: estatura, edad y sexo. Posteriormente, se colocó al menor con ambos pies separados ligeramente quedado en posición con los electrodos de la base. Los talones se posicionan

en la parte inferior de los electrodos inferiores de la base y los dedos del pie en los electrodos superiores de la base. Se registró el dato.

TÉCNICAS DE LABORATORIO.

Toma de muestra sanguínea.

Técnica: Venopunción

Instrumentos: Agujas, camisetas para agujas, torniquete (liga plana de látex), alcohol etílico o isopropílico al 70%, algodón, dispensador de agujas, tubos *Vacutainer*® morado y rojo, guantes.

La metodología para la técnica de venopunción de acuerdo con el protocolo de Ruiz⁷⁰, se puede revisar en anexos (Anexo IV).

Extracción de ARN.

Técnica: Extracción y purificación de ARN pequeños (miARN).

Instrumento: *microRNA purification por Norgen*™ (Biotek Corp, Canadá).

Para la extracción de ARN, se utilizó el kit comercial de *microRNA Purification* de la marca Norgen™ (Biotek Corp, Canadá), número de catálogo 21300. Los pasos por seguir dados por el fabricante se pueden apreciar en los anexos (Anexo V).

Determinación de los niveles de expresión circulantes de MicroRNAs

Síntesis de ADNc.

Técnica: Transcripción Inversa de ARN a ADNc.

Instrumento: *TaqMan*® *MicroRNA Reverse Transcription Kit*.

En tres tubos para microcentrífuga se preparó Máster Mix Reverse Transcription (RT), con los reactivos y volúmenes observados en el cuadro 8. Cada uno de los tubos corresponde a cada objetivo (miR-122, miR-222 y U6 como endógeno).

Cuadro 8. Componentes y los volúmenes correspondientes para la RT-PCR.

Reactivos	Volumen para 1 reacción
dNTPs mix (100mM)	0.15 µL
MultiScribe™ Enzima RT (50U/µL)	1 µL
10x RT Buffer	1.5 µL
Inhibidor de RNasa (20U/µL)	0.19 µL
Agua libre de nucleasas	4.16 µL

5x RT primer	3 μ L
Muestra de miARN	5 μ L
Total	15 μL

Los parámetros de tiempo/temperatura que se establecieron en el termociclador *Step One PCR*, se pueden observar en la figura 5. Si terminado el proceso, no se amplificaba inmediatamente, se almacenaban las muestras a una temperatura de 4°C.

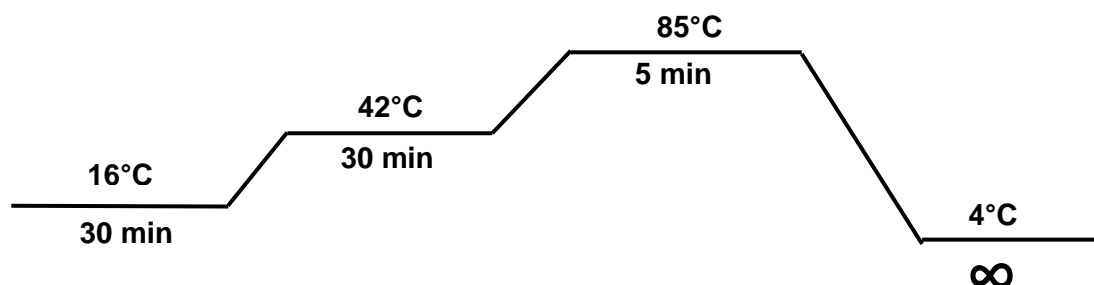


Figura 5. Parámetros para la reacción de transcripción inversa para los miARN

Amplificación de los miARN

Técnica: PCR tiempo real cuantitativa (qPCR).

Instrumento: *Step One PCR* en tiempo real Applied Biosystems©

En cada tubo de 1.5 mL para microcentrífuga se depositaron los volúmenes de los reactivos que se muestran en el cuadro 9. Se obtuvieron 3 tubos independientes, uno por cada sonda, ya que los tres presentaban sondas marcadas con el dye FAM.

Cuadro 9. Componentes y los volúmenes correspondientes para la qPCR.

Reactivos	Volumen
TaqMan Master Mix	5 μ L
TaqMan MicroRNA Assay 20x miR-122* y miR-222 (Primers + sonda-FAM)	0.25 μ L
TaqMan microRNA Assay snU6 endógeno (FAM) [†]	0.25 μ L
Agua libre de nucleasas	2.5 μ L
Cdna	2 μ L
Total	10 μL

*El Assay ID de miR-122 es Hs 04231489_s1, con número de catálogo #4426961. (Applied Biosystems). El Assay ID del miR-222 es 002276, con número de catálogo #4427975 (Applied Biosystems).

[†] Tanto el miR-122, miR-222 y U6 se utilizarán por separado debido a que todos se encuentran marcados con el dye FAM.

Se prepararon 9 reacciones por individuo: reacción por triplicado de miR-122, de miR-222 y del gen endógeno U6.

En el termociclador para PCR tiempo real, se determinan los parámetros en modo estándar, para muestras con volumen de 10 µL, con los ciclos y temperaturas de la figura 6.

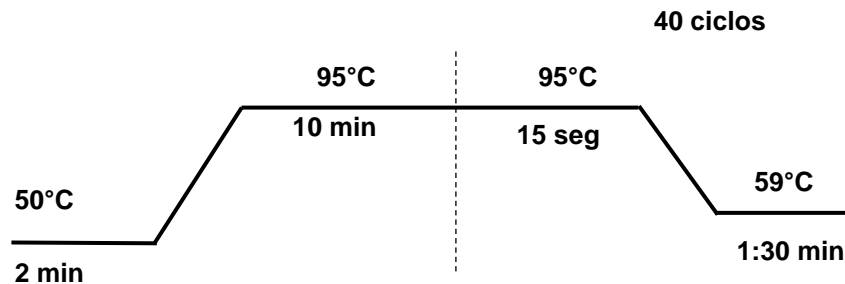


Figura 6. Parámetros para la reacción de amplificación de la cADN.

Cuantificación y expresión de miARN con el método de doble delta CT

La expresión relativa de los miARN se calculó por cuantificación relativa en términos de Ct, mediante el método doble delta Ct ($2^{-\Delta\Delta CT}$), el cual expresa la proporción obtenida de la relación entre los valores Ct de la muestra y los valores Ct del control, como se puede observar en la siguiente ecuación:⁷¹

$$ratio = 2^{-[\Delta CT \text{ muestra} - \Delta CT \text{ control}]}$$

$$ratio = 2^{-[\Delta\Delta CP]}$$

La expresión relativa de cada miARN por muestra se midió con ayuda del software DataAssist™ (Applied Biosystems).

Muestra de referencia: Normalización

Para interpretar la expresión relativa y los niveles de expresión (incrementados o no-incrementados) de los miARN circulantes, se toma como referencia la media obtenida del grupo control (escolares con peso adecuado), mediante la técnica de normalización global, el cual realiza el software Data Assist. Dicho programa obtiene las medias de los miARN

122 y 222 del grupo control y posteriormente lo compara con el grupo caso y consigo mismo. Se obtiene un valor numérico continuo que indica el número de veces que presenta la expresión en comparación con el grupo de referencia.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Descripción de los datos

Se determinaron medidas de tendencia central y de dispersión para las variables a asociar y para la expresión relativa de los miARN circulantes, ordenando la información en tablas, por medio del paquete estadístico SPSS versión 23.0 (SPSS 23.0 para Windows; SPSS, Inc., Chicago, IL) y Microsoft Excel.

Diferencia en los parámetros antropométricos, bioquímicos y de ingesta calórica en escolares con obesidad y normopeso.

Se verificó el cumplimiento de los supuestos, entre estos, la normalidad con la prueba Kolmogorov-Smirnov, la independencia y la igualdad de varianzas mediante gráficos de dispersión de los residuos.

Se evaluó las diferencias de medias de los parámetros antropométricos, bioquímicos y la ingesta calórica total, de proteínas, grasas y carbohidratos de los niños con obesidad y peso adecuado mediante la prueba estadística *t* de Student con un nivel de significancia al 0.05%, mediante el programa estadístico SPSS.

Diferencia en la expresión de los miARN circulante en escolares con peso adecuado y con obesidad.

Primeramente, se verificó el cumplimiento de los supuestos, entre estos, la normalidad con la prueba Kolmogorov-Smirnov, la independencia y la igualdad de varianzas mediante gráficos de dispersión de los residuos. Los niveles de los miARN se normalizaron transformando las variables a logaritmo natural.

Se evaluó las diferencias entre la expresión relativa de los miARN circulantes de niños con peso adecuado y con obesidad mediante una comparación de medias independientes, tomando los valores cuantitativos en términos de Ct. El estadístico utilizado fue *t* de Student con un nivel de significancia al 0.05%, mediante el programa estadístico SPSS.

La diferencia de proporción entre los niveles de expresión de los miARN circulantes (definidos categóricamente como niveles incrementados y niveles no incrementados) de los niños con peso adecuado y con obesidad, se estableció mediante una prueba no

paramétrica para variables nominales, la Chi cuadrada, con un nivel de significancia de 0.05.

Evaluación de la asociación entre los parámetros antropométricos, bioquímicos e ingesta calórica con la expresión de los miARN miR-122 y miR-222.

Las variables cuantitativas (parámetros antropométricos, bioquímicos e ingesta calórica total y por nutriente) se correlacionaron con la expresión relativa de los miARN miR-122 y miR-222, mediante la r de Pearson. Los valores fueron significativos si el valor de p era menor de 0.05. Todas las variables que resultaron significativas en la correlación, se utilizaron para crear modelos de regresión lineal múltiple para evaluar la asociación con los niveles de expresión de los miARN.

Para determinar diferencia entre proporciones y la asociación entre todas las variables cualitativas de hábitos alimenticios y de actividad física con los niveles de expresión de los miARN se realizó una prueba Chi cuadrada. Valor de p menor a 0.05 se consideró significativo.

Modelo de riesgo a partir de variables epigenéticas y ambientales.

Se propuso un modelo de regresión logística, donde el estado nutricio se consideró variable dependiente y los niveles de expresión de los miARN, indicadores antropométricos, ingesta calórica y actividad física fueron variables independientes o predictoras. El modelo obtenido, mediante la razón de momios (Odds ratio por sus siglas en inglés, OR) evaluó el riesgo conferido que cada variable aporta para el desarrollo de la obesidad.

CONSIDERACIONES ÉTICAS.

El estudio se realizó conforme a lo dispuesto en el Reglamento de la Ley general de Salud en Materia de Investigación⁷², NOM 313 de ahora en adelante “REGLAMENTO” (Secretaría de Salud 1987, modificado en 2014), donde en todos los apartados del artículo 14 se exige los lineamientos éticos mínimos, incluyendo, el consentimiento informado y por escrito de los participantes y cuidando del bienestar de los animales utilizados para investigación.

De igual manera como marca el artículo 16 del REGLAMENTO, que habla sobre la confidencialidad, se protegió la privacidad de cada uno de los participantes y de los datos proporcionados por ellos, no se vinculó la identidad de alguno de ellos y los resultados no fueron ni serán utilizados para perjuicio alguno.

Además, como establece el Artículo 120 del REGLAMENTO, se aclaró a los participantes que los resultados se publicarán en revistas científicas, congresos o cualquier evento académico, única y exclusivamente con fines educativos y científicos. Cuidando que se respete siempre la confidencialidad a que tiene derechos los sujetos de investigación.

Asimismo, se cumplen los principios éticos de la Asamblea Médica Mundial de Helsinki (modificado en Brasil octubre 2013) y del Código Internacional de Ética Médica (modificado en Sudáfrica, octubre 2006), así como lo establecido en las disposiciones y lineamientos de la Comisión Nacional de Bioética (CONBIOÉTICA) 2016, con los principios de Beneficencia, no Maleficencia, Justicia y Autonomía.

RESULTADOS

Descripción de la muestra

Se determinaron variables antropométricas a 99 niños quienes cumplieron con los criterios de inclusión, esto es 50 escolares con obesidad y 49 peso adecuado para la edad y sexo, con el fin de realizar posteriormente el análisis de asociación. La distribución de los escolares por sexo, edad y escuela, así como la categorización de estos por estado nutricional, se visualiza en el cuadro 10. Las características generales y antropométricas de la población, categorizadas por el estado nutricional se puede visualizar en el cuadro 11.

Cuadro 10. Distribución de la población de escolares por escuela, prevalencia de obesidad^a y peso adecuado por sexo y edad.

VARIABLE	Total Frecuencia (%)	Escolares con Obesidad (n=50) (%)	Escolares con Peso adecuado (n=49) (%)
Escuela primaria			
Rafaela Rodríguez	7 (7.07)	4 (8)	3 (6.12)
5 de mayo	17 (17.17)	10 (20)	7 (14.28)
Miguel Hidalgo	21 (21.21)	11 (22)	10 (20.4)
Ramón Navarrete Rosado	3 (3.03)	1 (2)	2 (4.08)
Manuel Sales Cepeda	4 (4.04)	2 (4)	2 (4.08)
Francisco I. Madero	25 (25.25)	14 (28)	11 (22.44)
Leyes de Reforma	9 (9.09)	3 (6)	6 (12.24)
Nezahualcóyotl	8 (8.08)	5 (10)	3 (6.12)
Otras	5 (.05)	0	5 (10.2)
Total (n=100)	99 (100)	50 (100)	49 (100)
Sexo			
Femenino	50 (50.51)	22 (44)	28 (57.14)
Masculino	49 (49.49)	28 (56)	21 (42.86)
Total	99 (100)	50 (100)	49 (100)
Edad*			
6 a 9 años	60 (60.61)	31 (62)	29 (59.18)
10 a 12 años	39 (39.39)	19 (38)	20 (40.82)
Total	99 (100)	50 (100)	49 (100)

Fuente: Cuestionarios sobre datos generales aplicados a los tutores y antropometría realizada en las poblaciones de casos y controles entre los años 2018-2019. a) La obesidad, a partir de los criterios de la OMS. Obesidad $\geq +2$ DE. *La edad fue designada con los años cumplidos, no se contemplaron los meses de edad.

Cuadro 11. Características generales y antropométricas de la población de estudio según el diagnóstico nutricional y categorizado por sexo.

VARIABLE	Total (n=100)	Obesidad (n=50)	Peso adecuado (n=49)	<i>p^b</i>
	Media (DE)	Media (DE)	Media (DE)	
Edad (años)	9.02 (±1.65)	9.18 (±1.52)	8.86 (±1.78)	0.332
Sexo F/M (%)	50/49 (51/49)	22/28(44/56)	28/21(58/42)	0.161 ^c
Peso (kg)	38.03 (±13.29)	47.69 (±11.25)	28.18 (±5.94)	<0.001
Talla (m)	1.33 (±0.11)	1.36 (±0.10)	1.29 (±0.11)	0.003
IMC (puntaje Z) ^a	1.48 (± 1.52)	2.86 (±0.61)	0.07 (±0.60)	<0.001
Circunferencia cintura (cm)	68.75 (±12.66)	79.45 (±7.39)	57.83 (±5.49)	<0.001
ICE	0.51 (± 0.08)	0.58 (±0.049)	0.44 (±0.04)	<0.001
Porcentaje de grasa (%)	28.76 (± 9.13)	36.75 (±4.61)	20.61 (±3.76)	<0.001
Niñas				
VARIABLE	Total (n=50)	Obesidad (n=22)	Peso adecuado (n=28)	<i>p^b</i>
	Media (DE)	Media (DE)	Media (DE)	
Edad (años)	8.93 (±1.78)	9.34 (±1.71)	8.61 (±1.81)	0.154
Peso (kg)	37.54 (±15.55)	50.46 (±14.18)	27.38 (± 6.26)	<0.001
Talla (m)	1.32 (±0.13)	1.38 (±0.12)	1.28 (±0.12)	0.011
IMC (puntaje Z) ^a	1.16 (±1.46)	2.69 (±0.43)	-0.04 (±0.58)	<0.001
Circunferencia cintura (cm)	66.35 (±13.70)	79.85 (±8.48)	55.75 (±4.42)	<0.001
ICE	0.49 (±0.08)	0.57 (±0.04)	0.43 (±0.04)	<0.001
Porcentaje de grasa (%)	28.77(±8.67)	37.80 (±3.42)	21.67 (±2.94)	<0.001
Niños				
VARIABLE	Total (n=49)	Obesidad (n=28)	Peso adecuado (n=21)	<i>p^b</i>
	Media (DE)	Media (DE)	Media (DE)	
Edad (años)	9.12 (±1.52)	9.06 (±1.38)	9.19 (±1.72)	0.771
Peso (kg)	38.53 (±10.65)	45.5 (±7.89)	29.24 (±5.46)	<0.001
Talla (m)	1.33 (±0.1)	1.35 (±0.9)	1.31 (±0.10)	0.124
IMC (puntaje Z) ^a	1.81 (±1.52)	2.99 (±0.7)	0.24 (±0.61)	<0.001
Circunferencia cintura (cm)	71.2 (±11.10)	79.14 (±6.55)	60.60 (±5.65)	<0.001
ICE	0.53 (±0.75)	0.58 (±0.05)	0.46 (±0.02)	<0.001
Porcentaje de grasa (%)	28.76 (±9.66)	35.92 (±5.28)	19.2 (±4.31)	<0.001

IMC: Índice de Masa Corporal. ICE: índice cintura estatura. DE: Desviación estándar. a) El puntaje Z se consideró por criterios de la OMS: obesidad ≥ 2 DE y peso adecuado > -1 DE y $< +1$ DE. b) valores significativos de p (< 0.05) en negritas. c) Prueba Chi cuadrada para variables nominales.

La media de la edad de los escolares (n=99) fue de 9.02 años, con una desviación estándar de ± 1.65 ; los valores observados para los niños de peso adecuado y con obesidad

no fue significativamente diferente ($p=0.332$). Con el análisis de otras características antropométricas, se demostró que la media de estatura, peso, IMC, circunferencia de cintura, ICE y porcentaje de grasa corporal en los escolares con obesidad fue significativamente mayor comparado con los escolares con peso adecuado. La prevalencia de obesidad abdominal en el total de la muestra corresponde a un 51.51%, de los cuales 2 escolares tienen peso adecuado y 49 padecen obesidad. La distribución de la obesidad abdominal por sexo y por diagnóstico nutricional se visualiza en la figura 7. No existe diferencias significativas en la prevalencia de obesidad abdominal entre hombres y mujeres ($p=0.26$), sin embargo, la distribución de menores con obesidad abdominal y peso adecuado vs. obesidad, si presenta diferencias significativas (figura 7a. $p<0.001$).

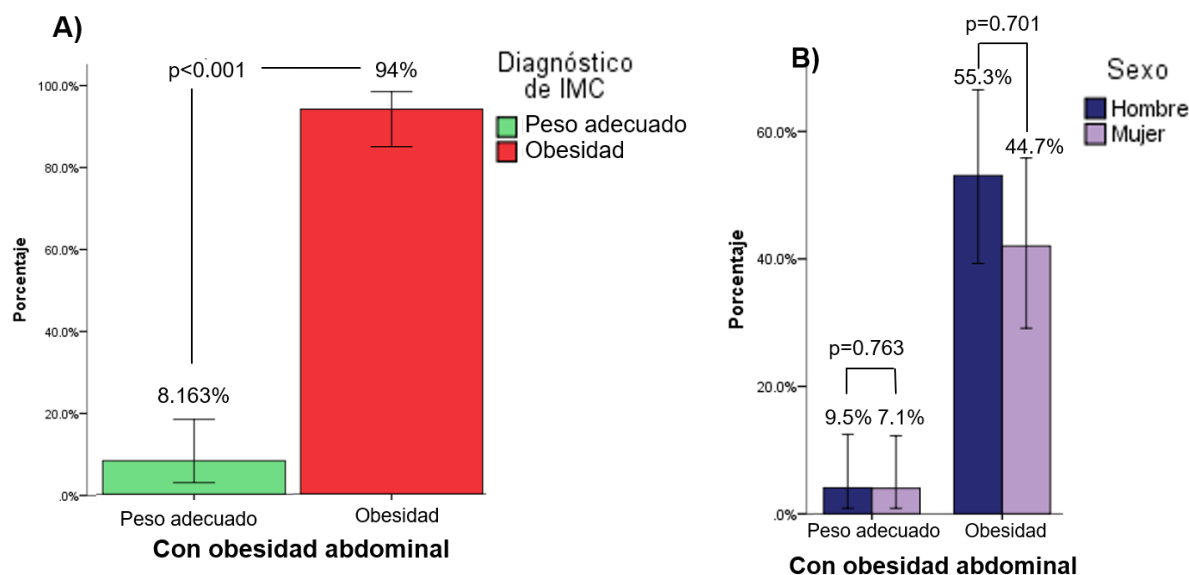


Figura 7. Prevalencia de obesidad abdominal. **A.** Obesidad abdominal distribuido por estadio nutricional ($p<0.001$). **B.** Obesidad abdominal distribuido por sexo y estado nutricional: hombres vs. mujeres con peso adecuado, $p=0.763$; hombres vs. mujeres con obesidad, $p=0.701$.

Al realizar la categorización por sexo se encontraron diferencias significativas entre niñas y niños de peso adecuado. Los varones presentan significativamente mayor índice de cintura ($p=0.001$) y por consiguiente significativamente mayor ICE ($p=0.023$), pero las niñas presentan significativamente mayor porcentaje de grasa ($p=0.018$). No existen diferencias significativas en el porcentaje de grasa entre niñas y niños que padecen obesidad.

Descripción de los parámetros bioquímicos de la población de estudio.

Se determinaron parámetros bioquímicos de los 50 escolares con obesidad y 49 con peso adecuado. En forma global, las concentraciones medias de glucosa, lípidos y ácido úrico estuvieron dentro del rango normal, según los criterios para edad pediátrica de la Federación Internacional de la Diabetes (por sus siglas en inglés IDF) y la Asociación Americana del Corazón (por sus siglas en inglés AHA)^{73,74}. Al comparar estas variables entre los niños con IMC adecuado y obesidad existió diferencia significativa en los valores séricos de triglicéridos, HDL, VLDL, la relación de colesterol total/HDL (CT/HDL), ácido úrico e índice metabólico (IM) (Cuadro 12). Se midió la frecuencia de niños de acuerdo con el punto de corte del IM establecido por Roitberg et al.⁶⁹ (Figura 9).

Al realizar la estratificación por sexo, se vio diferencia significativa en triglicéridos, HDL, VLDL, en la relación CT/HD, ácido úrico e IM en niñas y en niños los mismos parámetros a excepción de la relación CT/HDL donde no se hallaron diferencias.

La prevalencia de dislipidemias (al menos un parámetro fuera de los valores de referencia) en los dos grupos poblacionales, se puede visualizar en la figura 8.

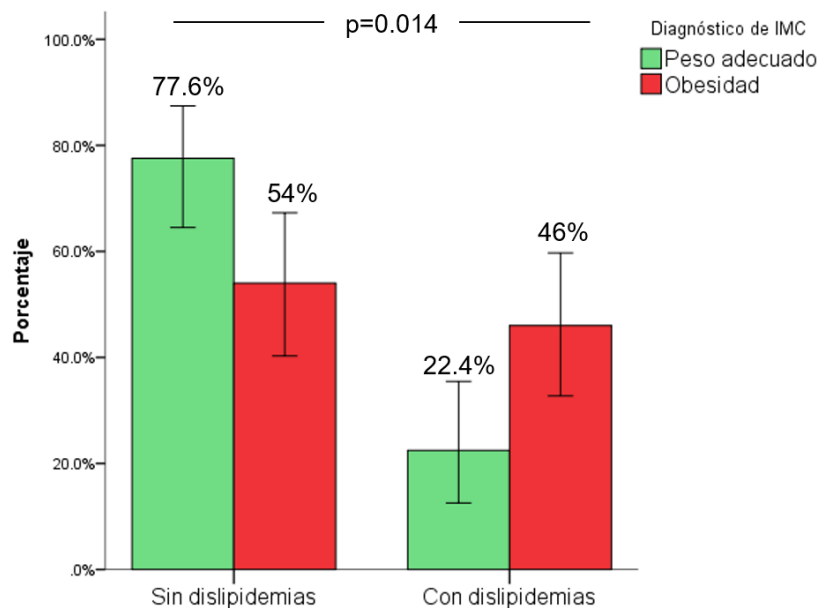


Figura 8. Prevalencia de dislipidemias en niños con peso adecuado y obesidad. Se consideró a un menor con dislipidemias con al menos un parámetro alterado ($p=0.014$).

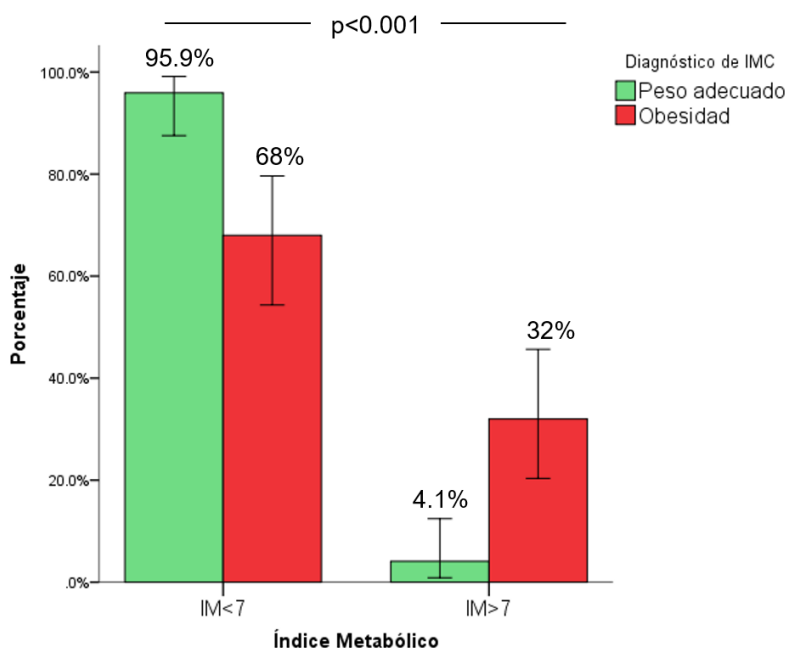


Figura 9. Prevalencia de los niños con peso adecuado y obesidad de tener un IM menor o mayor a 7 ($p < 0.001$). El valor como indicador indirecto de RI.

Cuadro 12. Descripción de variables bioquímicas de la población de estudio según el diagnóstico de obesidad categorizado por sexo^a.

VARIABLE	Total (n=99)	Obesidad (n=50)	Peso adecuado (n=49)	p^b
	Media (DE)	Media (DE)	Media (DE)	
Glucosa (mg/dL)	78.02 (± 11.21)	79.02 (± 12.10)	77.00 (± 10.25)	0.372
TG (mg/dL)	101.31 (± 68.05)	127.54 (± 84.06)	74.54 (± 28.19)	<0.001
CT (mg/dL)	154.71 (± 31.36)	156.62 (± 36.08)	152.76 (± 25.91)	0.544
LDL (mg/dL)	97.12 (± 26.21)	97.87 (± 25.73)	96.35 (± 26.93)	0.775
HDL (mg/dL)	43.37 (± 9.77)	39.01 (± 7.68)	47.83 (± 9.73)	<0.001
VLDL (mg/dL)	20.26 (± 13.61)	25.51 (± 16.81)	14.90 (± 5.63)	<0.001
Relación CT/HDL	3.75 (± 1.28)	4.18 (± 1.48)	3.31 (± 0.84)	0.001
Ácido úrico (mg/dL)	3.95 (± 1.27)	4.60 (± 1.19)	3.28 (± 0.97)	<0.001
Creatinina (mg/dL)	0.7 (± 0.12)	0.69 (± 0.12)	0.70 (± 0.12)	0.682
IM	5.09 (± 4.53)	7.08 (± 5.07)	3.07 (± 2.72)	<0.001
Niñas				
VARIABLE	Total (n=50)	Obesidad (n=22)	Peso adecuado (n=29)	p^b
	Media (DE)	Media (DE)	Media (DE)	
Glucosa (mg/dL)	76.9 (± 10.72)	78.29 (± 11.66)	75.81 (± 10.00)	0.421

TG (mg/dL)	108.95 (±84.72)	151.52 (±111.83)	75.50 (±25.74)	0.005
CT (mg/dL)	158.64 (±32.51)	160.79 (±41.96)	156.95 (±23.28)	0.683
LDL (mg/dL)	97.17 (±25.51)	96.18 (±26.33)	97.95 (±25.31)	0.81
HDL (mg/dL)	44.35 (±10.37)	38.31 (±7.08)	49.09 (±10.16)	<0.001
VLDL (mg/dL)	21.79 (±16.94)	30.30 (±22.36)	15.10 (±5.14)	0.005
Relación CT/HDL	3.73 (±1.04)	4.25 (±1.08)	3.32 (±0.82)	0.001
Ácido úrico (mg/dL)	3.89 (±1.26)	4.78 (±1.11)	3.19 (±0.88)	<0.001
Creatinina (mg/dL)	0.69 (±0.13)	0.68 (±0.13)	0.70 (±0.131)	0.545
IM	5.15 (±4.93)	8.29 (±5.97)	2.68 (±1.42)	<0.001
Niños				
VARIABLE	Total (n=49) Media (DE)	Obesidad (n=28) Media (DE)	Peso adecuado (n=21) Media (DE)	p^b
Glucosa (mg/dL)	79.15 (±11.69)	79.59 (±12.61)	78.58 (±10.60)	0.769
TG (mg/dL)	93.52 (±44.79)	108.71 (±47.53)	73.27 (±31.78)	0.005
CT (mg/dL)	150.7 (±29.95)	153.34 (±31.12)	147.18 (±28.68)	0.482
LDL (mg/dL)	97.07 (±27.16)	99.20 (±25.65)	94.22 (±29.46)	0.531
HDL (mg/dL)	42.38 (±9.12)	39.55 (±8.20)	46.15 (±9.10)	0.011
VLDL (mg/dL)	18.70 (±8.95)	21.74 (±9.5)	14.65 (±6.35)	0.005
Relación CT/HDL	3.77 (±1.49)	4.12 (±1.75)	3.30 (±0.89)	0.057
Ácido úrico (mg/dL)	4.01 (±1.29)	4.46 (±1.25)	3.40 (±1.09)	0.003
Creatinina (mg/dL)	0.70 (±0.11)	0.7 (±0.12)	0.71 (±0.11)	0.954
IM	5.04 (±4.14)	6.13 (±4.09)	3.58 (±3.82)	0.031

a) La obesidad fue diagnosticada a partir de los criterios de la OMS: obesidad $\geq +2$ DE; adecuado se consideró > -2 DE y $< +1$ DE. TG: triglicéridos, CT: colesterol total, HDL: lipoproteína de alta densidad, LDL: lipoproteína de baja densidad, VLDL: IM: Índice metabólico, DE: desviación estándar. b) valores significativos de p (< 0.05) en negritas.

Consumo energético y de nutrimentos en la población de estudio

Se evaluó las diferencias en el consumo de energía en kilocalorías totales y por macronutriente (proteínas, lípidos e hidratos de carbono), en 78 escolares, debido a que sólo este número de encuestas se consideraron confiables con base en las respuestas dadas, los demás se descartaron debido a datos incompletos y respuestas no claras. No se hallaron diferencias significativas entre ambos grupos de niños (Cuadro 13).

Al estratificar por sexo se evidenció que las niñas con obesidad consumen significativamente menos carbohidratos que las de peso adecuado ($p=0.044$).

Cuadro 13. Características de la dieta consumida por los escolares, clasificados según el diagnóstico peso^a.

VARIABLE	Total (n=78) Media (DE)	Obesidad (n=42) Media (DE)	Peso adecuado (n=36) Media (DE)	p^b
Ingesta total (Kcal)	1883.03 (±567.53)	1811.05 (±462.10)	1964.72 (±664.64)	0.232
Macronutrientes				
Hidratos de Carbono (Kcal)	1052.46 (±384.44)	1021.07 (±331.36)	1088.1 (±439.01)	0.443
Lípidos (Kcal)	559.87 (±239.54)	521.77 (±228.71)	603.13 (±247.26)	0.133
Proteínas (Kcal)	270.68 (±92.04)	268.21 (±94.16)	273.48 (±90.79)	0.801
Niñas				
VARIABLE	Total (n=41) Media (DE)	Obesidad (n=19) Media (DE)	Peso adecuado (n=22) Media (DE)	p^b
Ingesta total (Kcal)	1856.45 (±626.29)	1667.47 (±432.33)	2012.56 (±722.32)	0.075
Macronutrientes				
Hidratos de Carbono (Kcal)	1008.95 (±416.18)	874.15 (±236.18)	1120.30 (±498.5)	0.044
Lípidos (Kcal)	576.28 (±242.03)	539.21 (±228.76)	606.91 (±253.35)	0.373
Proteínas (Kcal)	271.21 (±83.87)	254.10 (±70.30)	285.34 (±92.75)	0.234
Niños				
VARIABLE	Total (n=37) Media (DE)	Obesidad (n=23) Media (DE)	Peso adecuado (n=14) Media (DE)	p^b
Ingesta total (Kcal)	1913.2 (±499.37)	1929.67 (±461.00)	1886.14 (±574.15)	0.801
Macronutrientes				
Hidratos de Carbono (Kcal)	1101.86 (±343.88)	1142.43 (±353.48)	1035.21 (±329.12)	0.365
Lípidos (Kcal)	541.25 (±238.62)	507.36 (±232.78)	596.92 (±246.20)	0.274
Proteínas (Kcal)	270.08 (±101.70)	279.86 (±110.30)	254.00 (±87.22)	0.461

a) El estadio nutricional fue diagnosticado a partir de los criterios de la OMS: obesidad $\geq +2$ DE; adecuado se consideró >-2 DE y $<+1$ DE. b) valores significativos de p (<0.05) en negritas.

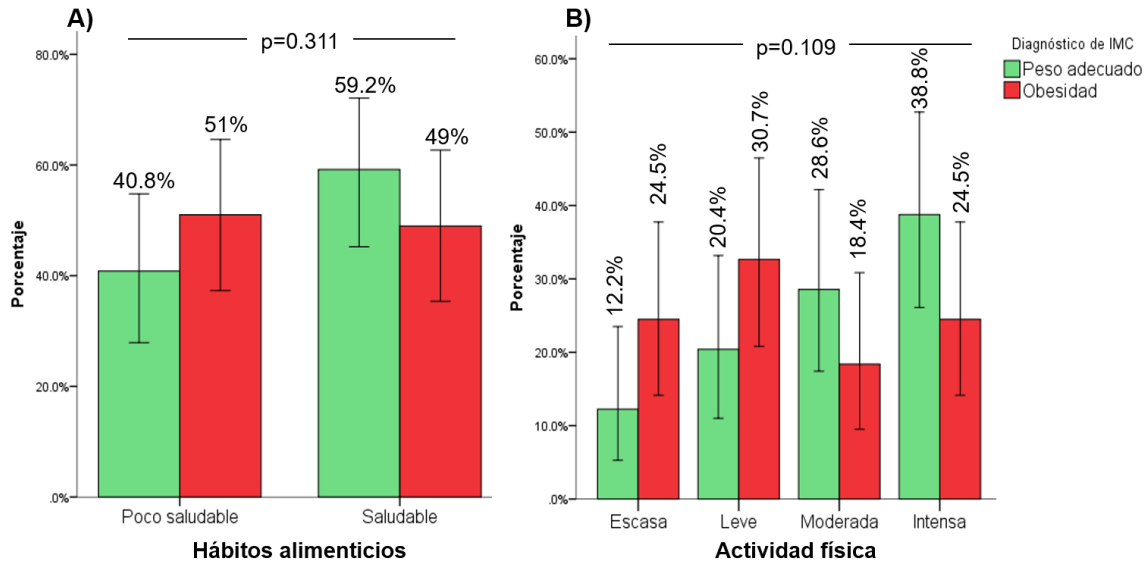


Figura 10. Resultados obtenidos en la encuesta aplicada a padres de familia en referencia a los hábitos alimenticios y actividad física de los escolares participantes. A. Los ítems de la sección de alimentación se agruparon en dos variables: saludable y poco saludable ($p=0.311$). B. Los ítems agrupados de actividad física se distribuyeron en 4 categorías de mayor a menor actividad: actividad intensa, moderada, leve y escasa ($p=0.109$).

Por medio de la encuesta aplicada a los padres se agruparon variables y se midieron frecuencias. Las respuestas de la variable “Hábitos alimenticios” se dicotomiza en “saludable”, cuya mayor frecuencia se observa en niños con peso adecuado, y “poco saludable”, siendo más frecuente en niños con obesidad (Figura 10a). No se observó diferencia significativa en las proporciones ($p=0.311$).

Por otro lado, se midió la frecuencia de actividad física realizada por semana, siendo cuatro categorías: escasa, leve, moderada e intensa, como puede apreciarse en la figura 10b. No se observaron diferencias significativas en la frecuencia de actividad física entre niños con peso adecuado y con obesidad ($p=0.109$).

Expresión relativa de los miARN miR-122 y miR-222.

Los valores de Ct obtenidos de la PCR tiempo real (cuadro 14) se relativizaron a la expresión del control endógeno snRNU6 utilizado de acuerdo con la literatura y el proveedor de la marca de reactivos utilizada. La cuantificación de la expresión por medio del método $2^{-\Delta\Delta Ct}$ y posterior a la normalización, se observó que el miR-122 se expresó significativamente diferente en la población estudiada. Con una media de expresión de 0.33 en obesidad y de 0.22 en escolares con peso adecuado, se expresa 1.47 más veces en

obesidad en comparación con los que se encuentran en su peso adecuado ($p=0.001$). Por otro lado, los niveles medios de expresión del miR-222 en niños con obesidad fue 5.65 y en niños con peso adecuado de 3.16, esto es 1.78 veces más que en niños eutróficos con un nivel de significancia de 0.025. Ambos métodos se realizaron por separado y con la técnica de normalización global (Cuadro 14, Figura 11).

Cuadro 14. Valores de Ct para miR-122, 222, obtenidos por PCR tiempo real.

VARIABLE	Total	Obesidad	Peso adecuado	p^a
	(n=99) Media (DE)	(n=50) Media (DE)	(n=49) Media (DE)	
Ct				
miR-122	32.48 (± 2.47)	32.67 (± 2.27)	32.30 (± 2.67)	0.471
miR-222	24.63 (± 3.40)	25.26 (± 3.86)	24.00 (± 2.77)	0.065
Expresión relativa (Fold Change)				
miR-122	0.27 (± 34)	0.33 (± 0.33)	0.22 (± 0.34)	0.001
miR-222	4.42 (± 6.00)	5.65 (± 4.6)	3.16 (± 5.33)	0.025

DE: desviación estándar. A) Prueba t de *Student*, valores significativos < 0.05 en negritas.

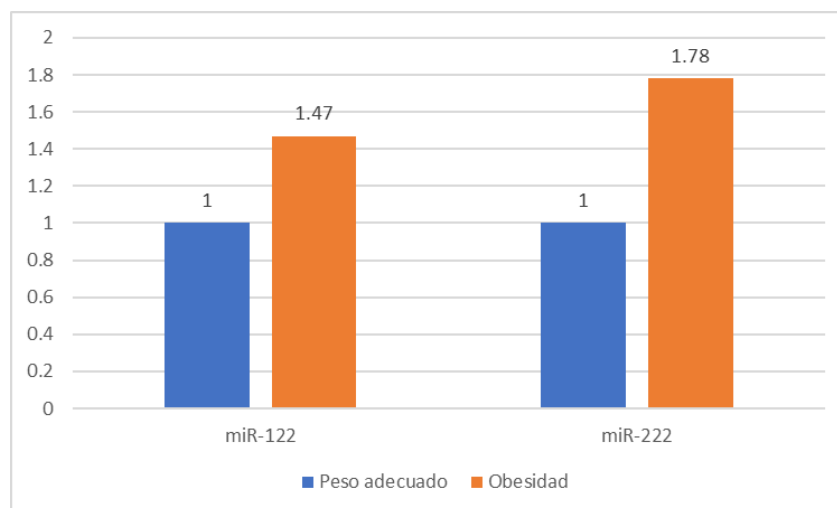


Figura 11. Expresión relativa de los miARN 122 y 222 en niños con obesidad y peso adecuado. La referencia de expresión está dada por el promedio de expresión que obtuvo el grupo con peso adecuado. A) Nivel de significancia del miR-122, $p=0.001$. B) Nivel de significancia del miR-222 $p=0.025$.

Para algunas pruebas posteriores, la expresión relativa se dicotomizó de acuerdo con los niveles de expresión circulante (Con niveles incrementados o no incrementados, ver en

Métodos), tomando como punto de corte la mediana del nivel de expresión de los miARN obtenida de los controles, siendo este valor 0.81 para miR-122 y 1.629 para miR-222. La prevalencia de los niveles de expresión de cada miARN circulante, se puede observar en la figura 12a y b.

Por otro lado, se agruparon los dos miARN en una sola variable, tomando en cuenta los niveles de expresión conjunta, es decir, se obtuvieron cuatro categorías que representaban si ambos miARN presentaban niveles incrementados o no incrementados (NIC= niveles incrementados de ambos miARN; NNC= Ninguno de los dos miARN estuvo incrementado), así como si un miARN se encontró con niveles incrementados y el otro no (NI-122= Incrementado solo el miR-122; NI-222= Incrementado sólo el miR-222, ver figura 12C).

Se encontró una proporción significativamente mayor de escolares con obesidad que presentaron niveles de expresión incrementado del miR-122 en comparación con la proporción de escolares con peso adecuado (Figura 12A). Los niveles de expresión incrementados del miR-222, se hallaron en un 49% de los niños con peso adecuado y en un 58% en escolares con obesidad, sin diferencias significativas (Figura 12B). Cuando se dividió en 4 categorías, las proporciones en cada una variaron siendo significativamente diferentes entre sí ($p=0.016$): Los niveles de expresión no incrementados de ambos miARN se hallaron en mayor medida en niños con peso adecuado. Por otro lado, se observó mayor prevalencia de niveles incrementados en conjunto en niños con obesidad, como se aprecia en la figura 12c.

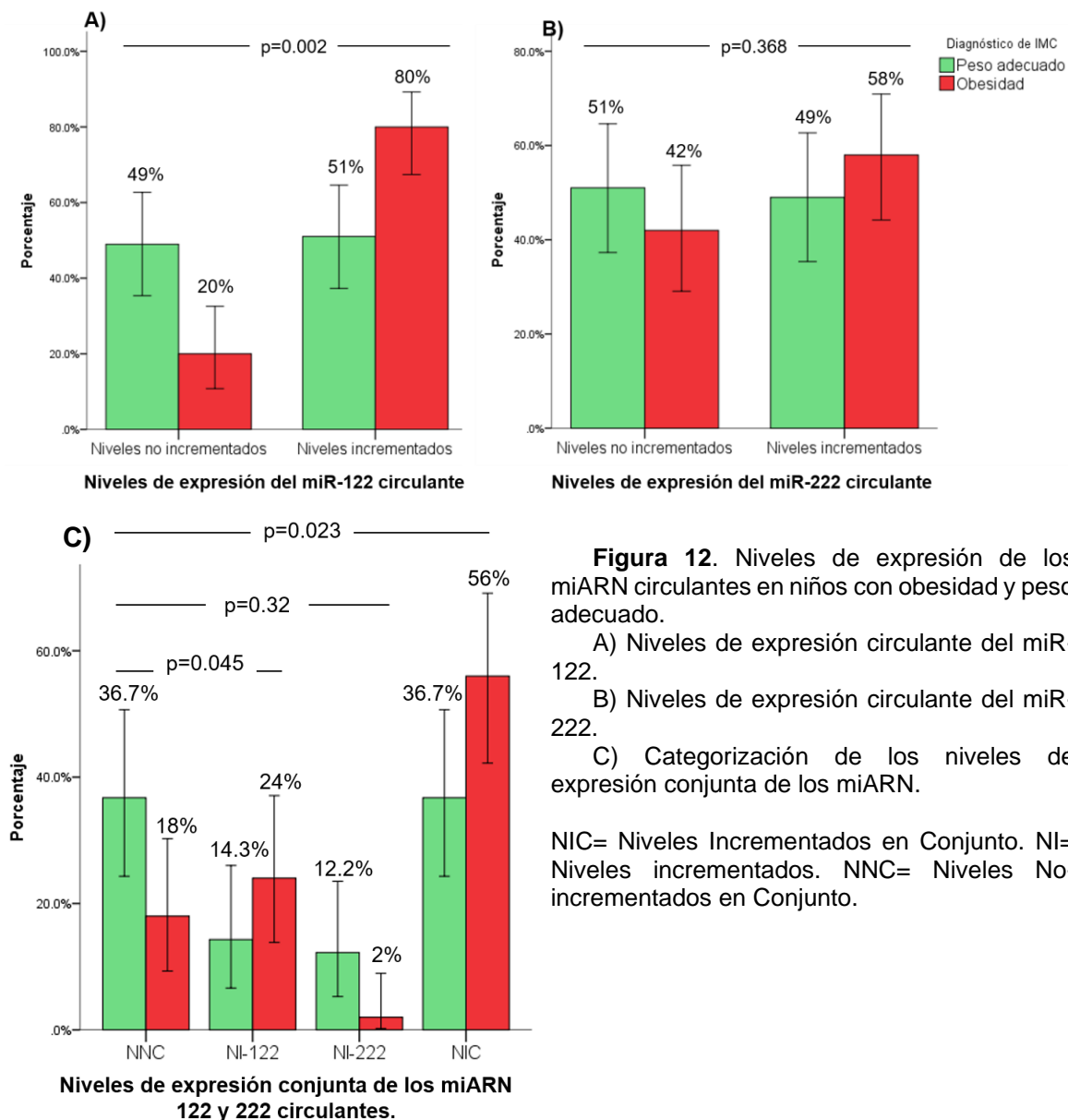


Figura 12. Niveles de expresión de los miARN circulantes en niños con obesidad y peso adecuado.

A) Niveles de expresión circulante del miR-122.

B) Niveles de expresión circulante del miR-222.

C) Categorización de los niveles de expresión conjunta de los miARN.

NIC= Niveles Incrementados en Conjunto. NI= Niveles incrementados. NNC= Niveles No-incrementados en Conjunto.

Asociación entre la expresión relativa de los miR-122 y miR-222 con variables antropométricas.

Se realizaron correlaciones entre la expresión relativa del miR-122 con las variables antropométricas para identificar las posibles relaciones existentes. Se halló relación del miARN con el peso, el IMC, la circunferencia de cintura, el índice cintura-estatura y el porcentaje de grasa (cuadro 15).

Cuadro 15. Correlación de Pearson entre la expresión relativa del miR-122 y las variables antropométricas.

VARIABLE (n=99)	<i>r de Pearson</i>	<i>p^b</i>
Edad (años)	0.103	0.311
Peso (kg)	0.224	0.026
Talla (m)	0.117	0.248
IMC (puntaje Z) ^a	0.284	0.004
Circunferencia cintura (cm)	0.321	0.001
ICE	0.322	0.001
Porcentaje de grasa (%)	0.272	0.006

a) El puntaje Z se consideró por criterios de la OMS: obesidad $\geq +2$ DE y peso adecuado >-1 DE y $<+1$ DE. b) Valores significativos menores a 0.05 en negritas. IMC: índice de masa corporal. ICE: índice cintura- estatura.

El modelo de regresión lineal múltiple obtenido con todas las variables significativas de la correlación arrojó un nivel de significancia de 0.033 con una R^2 de 0.121; sin embargo, se detectó colinealidad entre variables por lo que se ajustó el modelo.

El segundo modelo, el cual estuvo constituido por las variables peso ($\beta = -0.029$, $p = 0.187$), circunferencia de cintura ($\beta = 0.066$, $p = 0.032$) y porcentaje de grasa ($\beta = -0.007$, $p = 0.798$), resultó con una $p = 0.007$ y una R^2 de 0.120, previa comprobación del cumplimiento de los supuestos.

Se realizó un tercer modelo considerando a la única variable con significancia estadística individual del modelo anterior, circunferencia de cintura, para lo cual se obtuvo una $p = 0.001$, $R^2 = 0.103$ y un coeficiente β de 0.035.

Se halló relación del miR-222 con el porcentaje de grasa ($r = 0.213$; $p = 0.034$).

La regresión lineal múltiple se realizó con la variable mencionada anteriormente, para lo cual se obtuvo una $\beta=0.032$, $p=0.034$ y una R^2 de 0.045, previa comprobación del cumplimiento de los supuestos.

Asociación entre la expresión relativa de los miR-122 y miR-222 con parámetros bioquímicos.

Se halló relación de la expresión relativa del miR-122 con los niveles séricos de triglicéridos, HDL, VLDL y con el índice metabólico (cuadro 16).

Cuadro 16. Correlación de Pearson entre la expresión relativa del miR-122 y los parámetros bioquímicos.

VARIABLE (n=99)	<i>r de Pearson</i>	<i>p^a</i>	VARIABLE (n=99)	<i>r de Pearson</i>	<i>p^a</i>
Glucosa (mg/dL)	-0.154	0.127	VLDL (mg/dL)	0.266	0.008
TG (mg/dL)	0.266	0.008	Relación CT/HDL	0.189	0.06
CT (mg/dL)	-0.022	0.827	Ácido úrico (mg/dL)	0.114	0.262
LDL (mg/dL)	0.069	0.496	Creatinina (mg/dL)	0.111	0.297
HDL (mg/dL)	-0.373	0.0001	Índice metabólico	0.271	0.007

TG: triglicéridos, CT: colesterol total, HDL: lipoproteína de alta densidad, LDL: lipoproteína de baja densidad, VLDL: Lipoproteína de muy baja densidad. a) Valores significativos menores a 0.05 en negritas.

La regresión lineal múltiple se realizó con las variables cuya significancia fue menor a 0.05: niveles séricos de triglicéridos, HDL, VLDL y con el índice metabólico. El modelo obtenido logró una significancia menor al 0.0001 con una R^2 de 0.201; sin embargo, por razones de colinealidad, se excluyó a la variable VLDL.

El modelo resultante afín a los supuestos contaba con tres variables predictoras: triglicéridos ($\beta=0.008$, $p=0.01$), HDL ($\beta= -0.068$, $p=0.002$) e índice metabólico ($\beta= -0.097$, $p=0.096$).

Un tercer modelo se desarrolló en el cual se incluyeron las dos variables que obtuvieron significancia estadística individual, a saber, triglicéridos y HDL. Para este, se obtuvieron coeficientes β de 0.004 ($p=0.036$) y -0.047 ($p=0.001$) respectivamente, generando un modelo con significancia <0.0001 y una R^2 de 0.178.

Se halló relación del miR-222 con los niveles séricos de triglicéridos, ácido úrico, HDL, VLDL e índice metabólico (cuadro 17).

Cuadro 17. Correlación de Pearson entre la expresión relativa del miR-222 y los parámetros bioquímicos.

VARIABLE (n=99)	<i>r de Pearson</i>	<i>p^a</i>	VARIABLE (n=99)	<i>r de Pearson</i>	<i>p^a</i>
Glucosa (mg/dL)	-0.058	0.57	VLDL (mg/dL)	0.215	0.033
TG (mg/dL)	0.215	0.033	Relación CT/HDL	0.182	0.071
CT (mg/dL)	0.039	0.702	Ácido úrico (mg/dL)	0.219	0.03
LDL (mg/dL)	0.097	0.341	Creatinina (mg/dL)	0.206	0.05
HDL (mg/dL)	-0.283	0.005	Índice metabólico	0.271	0.007

TG: triglicéridos, CT: colesterol total, HDL: lipoproteína de alta densidad, LDL: lipoproteína de baja densidad, VLDL: Lipoproteína de muy baja densidad. a) Valores significativos menores a 0.05 en negritas.

Al realizar la regresión lineal múltiple con las cinco variables significativas en la correlación, el modelo obtenido no era significativo ($p=0.8$).

Se desarrolló otro modelo formado por las variables triglicéridos ($\beta=0.003$, $p=0.316$), HDL ($\beta= -0.035$, $p=0.067$) e índice metabólico ($\beta=9.9E-5$, $p=0.999$), obtuvo una significancia de 0.013 y una R^2 de 0.106, excluyendo nuevamente a VLDL por colinealidad.

Se realizó un tercer modelo el cual incluía solamente a triglicéridos ($\beta=0.002$, $p=0.097$) y HDL ($\beta= -0.035$, $p=0.013$) con una $p=0.005$ y una R^2 de 0.106.

Para comprobar si HDL estaba asociado con la expresión relativa del miR-222 sin la interacción de alguna otra variable, se corrió un modelo donde solamente se incluía a este parámetro, el cual resultó con una $\beta= -0.039$, significancia de 0.005 y R^2 de 0.080.

Asociación entre la expresión relativa de los miR-122 y miR-222 con la ingesta calórica y los niveles de expresión de los miARN con la actividad física.

Se correlacionó la expresión relativa del miR-122 con las calorías totales ingeridas y aquellas proporcionadas por cada macronutriente, lípido, proteína y carbohidrato (cuadro 18). No se encontró relación con ninguna variable.

Cuadro 18. Correlación de Pearson entre la expresión relativa del miR-122 y la ingesta calórica.

VARIABLE (n=79)	<i>r de Pearson</i>	<i>p^a</i>
Ingesta total (Kcal)	0.018	0.873
Hidratos de Carbono (Kcal)	0.015	0.893

Lípidos (Kcal)	-0.022	0.846
Proteínas (Kcal)	0.107	0.351

a) Valores significativos menores a 0.05 en negritas.

El modelo de regresión lineal múltiple con las cuatro variables anteriores: ingesta total, de carbohidratos, lípidos y proteínas (medidas en calorías), no halló asociaciones significativas ($R^2=0.019$ $p=0.702$).

Por medio de la prueba estadística Chi cuadrada y los niveles de expresión del miR-122 circulante, no se halló asociación alguna con los hábitos alimenticios y actividad física ($p>0.304$).

Por medio de correlación r de Pearson, se identificó la relación existente entre la expresión relativa del miR-222 con las calorías totales ingeridas y aquellas proporcionadas por cada macronutriente, lípido, proteína y carbohidrato (cuadro 19). La ingesta de proteínas se relacionó de manera directa con los niveles de expresión del miR-222 ($r=0.243$, $p=0.032$).

Cuadro 19. Correlación de Pearson entre la expresión relativa del miR-222 y la ingesta calórica.

VARIABLE (n=78)	<i>r de Pearson</i>	<i>p^a</i>
Ingesta total (Kcal)	0.077	0.501
Hidratos de Carbono (Kcal)	0.106	0.356
Lípidos (Kcal)	-0.080	0.486
Proteínas (Kcal)	0.243	0.032

a) Valores significativos menores a 0.05 en negritas.

Para establecer la asociación, se realizó regresión lineal múltiple con la variable que resultó significativa. El modelo obtenido confirmó la asociación positiva entre la ingesta de proteínas y los niveles de expresión del miR-222, arrojando una $\beta=0.004$, con valor de p de 0.032 y R^2 de 0.059.

Se identificó la asociación por medio de la prueba estadística Chi cuadrada entre los niveles de expresión del miR-222 con los hábitos alimenticios y los diferentes niveles de actividad física obtenidas en la encuesta. No se halló asociación significativa alguna (hábitos alimenticios: $p=0.57$; actividad física: $p<0.34$).

Asociación entre los niveles de expresión de los miR-122 y miR-222 circulantes con el género.

La prueba de comparación de medias *t* de Student evidenció las diferencias en la expresión relativa del miR-122 y del miR-222 de acuerdo con el sexo del menor (cuadro 20). No se observaron diferencias significativas ($p=0.809$ y 0.966 , respetivamente).

A continuación, por medio de una prueba Chi cuadrada se evaluó la asociación entre los niveles de expresión de cada miARN y en conjunto con el sexo, de acuerdo con el diagnóstico nutricional. Se halló significancia entre los niveles de expresión del miR-122 y la obesidad, independiente del sexo ($p=0.002$) y en niñas ($p=0.02$). No se halló asociación en varones. Por otro lado, los niveles de expresión del miR-222 y la obesidad no se asoció con el género ($p>0.25$) (cuadro 20).

Se analizó la asociación con la obesidad tomando en cuenta los niveles de expresión conjunta de ambos miARN y el sexo donde no se halló significancia estadística por género ($p>0.05$). Por el contrario, se observó que presentar niveles de expresión incrementados en conjunto aporta 3.11 veces más probabilidad de desarrollar obesidad independientemente del sexo ($p=0.023$). Por otro lado, los niveles incrementados del miR-122 (cuando el miR-222 no lo está), aporta 3.42 veces más probabilidad de desarrollar la condición, independiente del género del escolar ($p=0.045$) (cuadro 21).

Cuadro 20. Promedio de los niveles de expresión de los miARN 122 y 222 estratificado por sexo y estado nutricional

Todos (n=99)			
Objetivo	Niñas (N=50)	Niños (N=49)	<i>p</i> ^a
miR-122	0.27 (±0.38)	0.287 (±0.29)	0.809
miR-222	4.39 (± 5.66)	4.44 (± 3.39)	0.966
Niñas (n=50)			
Objetivo	Obesidad (N=22)	Peso adecuado (N=28)	<i>p</i> ^a
miR-122	0.34 (± 0.38)	0.21 (± 0.37)	0.067
miR-222	6.22 (± 6.27)	2.96 (± 4.76)	0.012
Niños (n=49)			

Objetivo	Obesidad (N=28)	Peso adecuado (N=21)	<i>p</i>^a
miR-122	0.32 (± 0.29)	0.24 (± 0.29)	0.071
miR-222	5.20 (± 6.59)	3.44 (± 6.13)	0.068

a) Prueba t de Student. Valor significativo <0.05 en negritas.

Cuadro 21. Asociación entre los niveles de expresión individual y en conjunto de los miR-122 y miR-222 y el sexo, de acuerdo con el diagnóstico nutricional.

microARN 122							
Nivel de expresión	n	Peso adecuado	Obesidad	χ^2	OR	IC95%	p^a
Niñas							
No incrementado	18	14	4		Referencia		
Incrementado	32	14	18	5.414	4.5	1.21-16.71	0.02
Total	50	28	22				
Niños							
No incrementado	16	10	6		Referencia		
Incrementado	33	11	22	3.743	3.333	0.96-11.56	0.053
Total	49	21	28				
Niñas + Niños							
No incrementado	34	24	10		Referencia		
Incrementado	65	25	40	9.21	3.84	1.57-9.36	0.002
Total	99	49	50				
microARN 222							
	n	Peso adecuado	Obesidad	χ^2	OR	IC95%	p^a
Niñas							
No incrementado	25	16	9		Referencia		
Incrementado	25	12	13	1.299	1.926	0.621-5.977	0.254
Total	50	28	22				
Niños							
No incrementado	21	9	12		Referencia		
Incrementado	28	12	16	0	1	0.319-3.127	1
Total	49	21	28				
Niñas + Niños							
No incrementado	46	25	21		Referencia		
Incrementado	53	24	29	0.8	1.438	0.65-3.17	0.368
Total	99	49	50				
microARN 122 + microARN 222							
	n	Peso adecuado	Obesidad	χ^2	OR	IC95%	p^a
Niñas							
NNC	16	12	4		Referencia		
NI-122	9	4	5	2.33	3.75	0.66-21.25	0.12
NI-222	2	2	0	0.64	0.00	Indefinido	0.42
NIC	23	10	13	3.81	3.9	0.96-15.81	0.05
Total	50	28	22				
Niños							
NNC	11	6	5		Referencia		
NI-122	10	3	7	1.28	2.8	0.46-16.92	0.25
NI-222	5	4	1	0.95	0.3	0.02-3.62	0.32
NIC	23	8	15	1.19	2.25	0.52-9.73	0.27
Total	34	14	20				

Niñas + Niños							
NNC	27	18	9		Referencia		
NI-122	19	7	12	3.99	3.42	1.00-11.71	0.045
NI-222	7	6	1	0.97	0.33	0.03-3.2	0.32
NIC	46	18	28	5.16	3.11	1.14-8.41	0.023
Total	99	49	50				

n= tamaño de muestra. OR=Odds ratio. IC95%=Intervalo de confianza al 95%. NNC=Niveles no-Incrementados en Conjunto. NI-122= Niveles del miR-122 incrementados. NI-222= Niveles del miR-222 incrementados. NIC=Niveles incrementados en conjunto. A) Valor p de la prueba estadística Chi cuadrada, cuya alfa es 0.05.

Modelo de riesgo a partir de las variables epigenéticas y ambientales para la obesidad en escolares.

El análisis de regresión logística se realizó tomando como variable dependiente la clasificación del estatus nutricional de los niños, como peso adecuado y obesidad. Las variables independientes fueron elegidas por jerarquización de acuerdo con la significancia en análisis previos, es por lo que se tomó en consideración como variables epigenéticas las cuatro categorías de sobreexpresión de ambos miARN, como parámetros bioquímicos al LDL e índice metabólico y como variables ambientales: ingesta de proteínas y actividad física escasa.

El análisis clasificó el 84.6% como correcto, con una R² de 50.5. Los parámetros de las variables del modelo resultante se pueden observar en el cuadro 22.

Cuadro 22. Parámetros de la regresión logística binaria del primer modelo resultante.

Variables independientes	Porcentaje global	B	p	OR	IC95%	
					Inferior	Superior
LDL	84.6	-0.044	0.022	0.957	0.922	0.994
Índice metabólico		1.286	<0.0001	3.617	1.918	6.820
NIC		1.627	0.047	5.088	1.023	25.293
Ingesta de proteínas (kcal)		-0.015	0.016	0.985	0.973	0.997
Actividad Física Escasa		1.425	0.214	4.157	0.439	39.352
Constante		2.412	0.232	11.157		

LDL= Lipoproteínas de baja densidad. B= Beta. P= Valor de significancia, menores a 0.05 en negritas indican significancia estadística. OR= Odds ratio. IC95%= Intervalo de confianza al 95%. NIC=Niveles incrementados en conjunto.

Sin embargo, se evaluaron más modelos, encontrando uno que explica mayor varianza en comparación con el anterior, ya que cuenta con una R² de 0.513 y clasificó un 88.5% como correcto. Las variables que constituyen al modelo final, sus odds ratio y su significancia se aprecian en el cuadro 23.

Cuadro 23. Parámetros de la regresión logística binaria del segundo modelo resultante.

	B	p	OR	IC95%
--	---	---	----	-------

Variables independientes	Porcentaje global					
				Inferior	Superior	
NNC	88.5%	0.146				
NI-122		1.701	0.121	5.480	0.637	47.137
NI-222		-0.415	0.797	0.661	0.028	15.597
NIC		1.977	0.041	7.218	1.081	48.190
Colesterol		0.013	0.620	1.013	0.963	1.065
LDL		-0.053	0.104	0.948	0.889	1.011
Índice metabólico		1.354	<0.001	3.872	1.971	7.609
Ingesta de proteínas		-0.014	0.025	0.986	0.974	0.998
Constante		0.716	0.772	2.045		

LDL= Lipoproteínas de baja densidad. NNC=Niveles no-Incrementados en Conjunto. NI-122= Niveles del miR-122 incrementados. NI-222= Niveles del miR-222 incrementados. NIC=Niveles incrementados en conjunto. B= Beta. P= Valor de significancia, menores a 0.05 en negritas indican significancia estadística. OR= Odds ratio. IC95%= Intervalo de confianza al 95%.

El último modelo propuesto (cuadro 23), sugiere que los niños con niveles de expresión incrementada de ambos miARN tienen 7.2 veces más probabilidad de desarrollar obesidad ($p=0.041$). El índice metabólico indicó que confiere riesgo al desarrollo de obesidad ($p<0.001$). La ingesta de proteínas medida en kcal, por el contrario, tuvo una relación inversa, siendo factor protector ($p=0.025$). Las demás variables en conjunto no aportan riesgo ni protección para el desarrollo de obesidad manera significativa.

DISCUSIÓN

La Organización Mundial de la Salud refiere a la obesidad como una enfermedad que ha incrementado progresivamente en las últimas décadas, representando un desafío para la salud pública del siglo actual. Esta tendencia se mantiene para los menores de 18 años, y es preocupante por las consecuencias en la salud en las siguientes etapas de la vida.⁷⁵ Yucatán no está exento de esta problemática, la prevalencia de obesidad infantil reportada en el estado resulta mayor que la media a nivel nacional.

Los miARN circulantes, debido a que tienen la capacidad de regular células diferentes a las de su origen (similar a hormonas), poseen un potencial poder predictor o reflector del desarrollo o estado de ciertas patologías, como lo es la obesidad, por lo que podrían ser utilizados como biomarcadores.⁷⁶

El presente estudio determinó que los niños con obesidad presentan 1.47 veces más expresión del miR-122 ($p=0.001$) que los niños eutróficos. Con respecto al miR-222, se encontró 1.78 veces más expresado en niños con obesidad ($p=0.025$).

En segundo lugar, se observó que solamente el miR-122 se asoció con la obesidad. A pesar de que los niveles de expresión del miR-222 fueron mayores en niños con obesidad en comparación con el miR-122, no se asoció con obesidad, puesto que se observó un porcentaje similar de sobreexpresión entre niños con peso adecuado y niños con obesidad. En cambio, el miR-122 que se expresó 1.47 veces más en niños con obesidad, se observó una distribución menos homogénea, ya que el 80% de estos presentaba sobreexpresión, en comparación con un 51% de niños normopeso con sobreexpresión.

De acuerdo con el trabajo de Prats y cols. (2013)⁵⁵ se halló similitud en cuanto a los valores Ct de ambos miARN. El estudio menciona que el miR-122 mostraba valores entre 30 y 35, siendo la media de Ct en el presente estudio de 32.67. Para el miR-222 se esperaban valores entre 20 y 25, obteniéndose una media de 24.63 en este estudio.

Los resultados anteriores muestran similitudes con lo obtenido en otros estudios. En el estudio realizado en Estados Unidos por Thompson y cols.⁵⁴ (2017), compararon los niveles de expresión de 20 miARN circulantes (en términos de fold change) en niños sanos respecto niños con obesidad y la enfermedad de hígado graso no alcohólico, hallando que el miR-122 se encontraba 12.5 veces más ($p<0.0001$) y el miR-222, 2.14 veces más ($p<0.0001$)

en niños con obesidad. En el estudio de Prats y cols⁵⁵. en 2013 se realizó una comparación entre niños delgados y niños con obesidad, resultando los niveles de los miR-122 y 222 mayores en el grupo de obesidad ($p < 0.05$); al complementar el estudio con una validación longitudinal, resultó que ambos miARN incrementan sus niveles conforme aumenta el IMC. Además, las relaciones reportadas con el IMC, la circunferencia de cintura y el porcentaje de grasa son similares a lo obtenido en el presente estudio, donde el miR-122 se encontró relacionado con el ICE y el peso ($p < 0.026$); en cambio, el miR-222 solamente con porcentaje de grasa ($p = 0.034$). Las mediciones de la expresión de los miARN, se llevaron a cabo en términos de cuantificación relativa, siendo comparables con el presente estudio.⁵⁵ Otro estudio en 2013 reportó que, entre varios miARN, los niveles de los miR-122 y miR-222, medidos en términos de cuantificación relativa, se encontraban significativamente incrementados en hombres con obesidad en contraste con hombres normopeso.⁵² Nuevamente se confirma la asociación ($p = < 0.001$) con características de la obesidad como masa grasa, circunferencia de cintura e IMC,⁵² similar a lo obtenido en el presente trabajo. La expresión del miR-122 tiene efectos pro-adipogénicos, lo que explicaría la relación con el porcentaje de grasa. La sobreexpresión del miR-122 se asocia con obesidad infantil y perfil lipídico anormal. Además, el 122 y el 222 participan en común en la vía del PI3k/Akt como un regulador positivo de diferenciación de adipocitos.⁷⁷

En cuanto a los resultados del perfil lipídico, a pesar de que las medias globales de ambos grupos no rebasaban los valores de referencia, el 18.36% de los niños con normopeso y el 32% de los niños con obesidad presentaron al menos un valor anormal. En el estudio de Castro-Sansores y cols. del 2016²², quienes midieron triglicéridos, colesterol y glucosa en escolares yucatecos, encontraron que los valores superiores de triglicéridos se hallaban en niños con sobrepeso y obesidad, por el contrario, el colesterol no presentó diferencia alguna, similar a lo obtenido en el presente estudio. Bibiloni y cols. (2015)⁷⁸ midieron los niveles séricos de lípidos en niños del norte de México y obtuvieron que un 54.3% de los niños independientemente de su IMC, presentaba al menos un parámetro alterado, encontrando nuevamente diferencias entre los niveles de triglicéridos y HDL en niños con peso normal y niños con obesidad, pero no en colesterol total.⁷⁸ El por qué en niños mexicanos no es tan común encontrar alteraciones en los niveles de colesterol cuando se comparan grupos con base en su IMC, sabiendo que los altos niveles de colesterol se asocian con este parámetro antropométrico, aun es incierto. No obstante, una hipótesis para explicar dicho fenómeno podría ser considerar otras variantes como la dieta o la inclusión de nuevos polimorfismos. De acuerdo con esto último, la presencia del alelo

APOE*2, Kamboh y cols. (1991), refieren que explicaría los niveles de colesterol por debajo de la media.⁷⁹ Sin embargo, esto no explica que en Yucatán los adultos presentan niveles medios de colesterol por encima de otros estados, puesto que al llegar a la etapa adulta los niveles se incrementen hasta 33%.⁸⁰ Otra posible hipótesis sería considerar la existencia de niños con obesidad metabólicamente sanos, para lo cual habría que realizar más estudios. Se debe considerar también que el metabolismo de los niños no funciona de la misma manera que un adulto, debido a la plasticidad tanto estructural como funcional en sus tejidos, confiriéndole características diferenciales que evolucionan conforme progresa el crecimiento y desarrollo puberal, con la influencia del sexo del niño.⁸¹

Se obtuvo también, que los niveles de expresión del miR-122 y del miR-222 estaban correlacionados positivamente con los niveles plasmáticos de triglicéridos, VLDL e índice metabólico, y de manera negativa, con el HDL. Además, el miR-222 se relacionó también con el ácido úrico. Similarmente, en el estudio de Gao y cols. del 2012 se registra que los niveles de expresión del miR-122 se encuentran incrementados en pacientes con hiperlipidemia y hallan asociaciones positivas con colesterol total, triglicéridos y niveles de colesterol LDL.⁸² El estudio de Kandhro y cols. (2017) comparte similitud en la asociación del miR-122 con triglicéridos⁸³, aunque en ninguno de los dos estudios se encontró correlación significativa con HDL como en la presente tesis. En contraste con Willeit y cols. (2017), analizando los niveles circulantes de miR-122 hallaron correlación con los niveles plasmáticos de HDL y triglicéridos, pero no con colesterol total ni con LDL.⁸⁴ De acuerdo con el trabajo de Al-Rawaf (2018), el miR-222 se relaciona con el IMC, ICE, niveles séricos de triglicéridos, HDL y LDL.⁸⁵

La asociación del miR-122 con los niveles de colesterol y triglicéridos está bien fundamentada, tanto por estudios animales como humanos. Dichos estudios demuestran que la expresión del miR-122 modifica los niveles de colesterol y triglicéridos séricos por modular la síntesis del colesterol y la secreción de las VLDL. También se ha reportado que la inhibición del miR-122 disminuye los niveles de LDL e incrementa los del HDL. Dado que el miR-122 circulante se ha detectado transportado por medio de partículas de LDL y HDL, contribuye a la asociación con estas moléculas.⁸⁶

Se mencionó previamente, la existencia de una correlación positiva del miR-222 con los niveles de ácido úrico; Sin embargo, son carentes los estudios de miARN que mencionan la relación con este parámetro. Un estudio llevado a cabo por Yu y cols. (2015), obtuvo

resultados discrepantes a los obtenidos en esta tesis: a mayor concentración de ácido úrico sérico, menor expresión de miR-222. Dicho estudio se realizó en población adulta masculina japonesa, lo que sugiere que nuestra población responde diferente, tal vez por la cuestión étnica, sin embargo, se esperan más estudios que puedan avalar esta relación.⁸⁷ Por otro lado, otros estudios descritos en el artículo de Szabo y Csak en 2016,⁸⁸ sugieren que los niveles de ácido úrico podrían activar el proceso pro-inflamatorio, debido a que activa factores inflamatorios hepáticos mediante la activación de la vía de señalización proinflamatoria NF- κ B,^{88,89} similar al relacionado con la función del miR-222, de esta manera es posible relacionarlos, pero no se encuentran asociados directamente. Otra posible explicación que relaciona lo antes mencionado, puesto que se ha descrito que corriente arriba del promotor del miR-222, existe un sitio de unión para NF- κ B quien funciona como factor de transcripción de este miARN, regulando su expresión.^{90,91}

La resistencia a la insulina (RI) es la anormalidad metabólica principal más común en el desarrollo del síndrome metabólico en niños y adultos.⁹² Se utilizó el índice metabólico (IM) como un indicador indirecto de IR. El IM resulta mucho más fácil, barato, y, de acuerdo con Roitberg et al.⁶⁹ (quienes lo propusieron en 2016), este indicador fue más eficiente en comparación con el HOMA (área bajo la curva del IM=0.881 vs. HOMA-IR= 0.861). El IM ha sido utilizado y evaluado en población maya demostrando tener un buen valor pronóstico indirecto de RI,⁹³ y en el presente estudio arrojó una asociación significativa con ambos miARN. Esta tesis corresponde al primer estudio en relacionar el IM en población pediátrica con niveles de miARN.

En diversos estudios como el de Shah y cols. (2017) se ha demostrado que el miR-122 está asociado con la RI independiente del perfil metabólico, edad, sexo e IMC, sugiriéndolo como marcador metabólico.⁹⁴ Jones, et al. (2017) mencionan que los niveles altos de miR-122 están asociados con la obesidad y la resistencia a la insulina incrementando el riesgo de desarrollarla de hasta 3.1 veces ($p=7.5 \times 10^{-5}$).⁹⁵

En cuanto al miR-222, Ma y cols. (2018) en un estudio realizado en Estados Unidos donde se incluyó a personas de diferentes grupos étnicos encontró asociación con la RI ($p=0.0001$).⁹⁶ En el estudio de Shi y cols. (2014) al usar un oligonucleotido anti-sentido de miR-222 se observó que la expresión del *ER α* y *GLUT4* incrementaron dramáticamente.⁹⁷

Existen dos vías principales de transducción que son activadas por la insulina para la captación de glucosa: La vía del fosfatidilinositol 3-cinasa (*PI3K*) y la vía de las *MAPK* (la

proteína cinasa activada por mitógeno). Aunque ambas vías regulan la mayoría de las acciones de la insulina asociadas a la regulación del metabolismo energético, de la expresión de los genes y de efectos mitogénicos, la principal es la *PI3K*. La cascada de señalización inicia cuando la insulina se une a su receptor. El proceso involucra múltiples proteínas, por ejemplo, el sustrato receptor de insulina (*IRS*), *PPI3K*, proteína fosfatasa de tirosina (*PTP1B*), proteína cinasa B (*Akt*) y proteína quinasa activada por AMP (*AMPK*), terminando con la translocación a la membrana plasmática de *GLUT4*, que permite la entrada de la glucosa a la célula. Por otro lado, cuando el *ERα* es fosforilado, activa la vía *MAPK*. Además, *ERα* funciona como factor de transcripción de genes del metabolismo energético, como *GLUT4*.⁹⁸

Entre los genes blanco del miR-122 descritos por Shah y cols. (2017) se encuentra *PRKB1*, miembro de la vía *MAPK* antes mencionada, así como *PTP1B*, proteína activada por mitógeno (*MAP*) y *AMPK*.⁹⁴ Todos los mecanismos fisiopatológicos anteriormente descritos con relación a la RI permiten explicar a qué nivel del proceso se dan las relaciones encontradas en el presente estudio.

En otra instancia, en una dieta entre 1500 y 2000 kcal recomendada para niños entre 6 y 12 años (con poca actividad física), se deberá consumir entre 825 y 1100 kcal de carbohidratos, entre 450 - 600 kcal de grasas y 225 – 300 kcal de proteínas.⁹⁹ Los niños con normopeso estudiados consumen en promedio de 1088 kcal de carbohidratos, 603 kcal de grasas y 273 kcal de proteínas (1964 kcal/día); en tanto que los niños con obesidad, en promedio consumen 1021 kcal de carbohidratos, 521 kcal de grasas y 268 kcal de proteínas (1810 kcal/día). Un estudio realizado en 2007 donde se midió la ingesta calórica total a escolares españoles, se encontró que niños con obesidad consumen menos calorías con respecto a los normopeso, similar a lo que reflejaron los resultados.¹⁰⁰ En otro estudio español del 2013 realizado en niños en edad escolar, se obtuvo la cantidad de calorías totales ingeridas: los niños con obesidad consumieron 2,847.82 kcal mientras que los niños que no eran obesos (IMC percentil < 97), consumieron 3,215.15 kcal ($p < 0.01$), nuevamente observando el patrón donde el niño de peso adecuado consume más calorías.¹⁰¹

La explicación a lo anterior suele ser debido a que padecer obesidad se deba más al estilo de vida, tal como una escasa actividad física que conduce a un menor gasto calórico, no realizar el número de comidas recomendadas, o un mal reparto de calorías ingeridas durante el día, por ejemplo, saltándose el desayuno y comiendo más en la cena. En

referencia a lo mencionado anteriormente, el gasto energético en reposo (GER), influido por el peso, la masa magra, la edad, el sexo, variaciones genéticas, grupo étnico, actividad simpática, situación clínica y nutricional del niño, así como factores ambientales como la temperatura, interviene en el efecto termogénico de los alimentos. En niños con obesidad el gasto energético global es mayor proporcional a su peso. Sin embargo, los niños con obesidad presentan menor cantidad de tejido metabólicamente activo por kilogramo de peso corporal, por lo que estos pueden tener un GER menor en comparación con niños eutróficos.¹⁰² Además, es importante considerar la existencia de polimorfismos genéticos que generen variaciones en la termogénesis, en la acumulación de grasa, en el estímulo de la saciedad, etc. entre los cuales, para la población escolar maya se han reportado varios polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) que incrementan la ingesta energética total, de grasas o de proteínas, aumentan el apetito y reducen la saciedad, generan preferencia por hábitos alimenticios pobres o pérdida de control en la ingesta alimenticia.¹⁰³ De acuerdo con el estudio de González y cols. (2018) se reportó que el SNP *rs1421085* del gen *FTO* se asociaba a la obesidad en niñas escolares yucatecas, a diferencia de lo reportado en otros estudios en el norte de México.¹⁰³ Este polimorfismo, mediante una cascada de interacciones entre genes, conduce a la activación del gen *IRX3* y *IRX5* (en inglés, *Iroquois homeobox protein*, 3 y 5) durante la diferenciación temprana de adipocitos produciendo una represión de la respiración mitocondrial basal asociada a un decremento de la termogénesis y a un incremento en el tamaño de los adipocitos.¹⁰⁴

Respecto a la relación de ambos miARN con la alimentación e ingesta calórica de los macronutrientes, se observó que la alta ingesta de proteínas estaba relacionada con los elevados niveles de miR-222. Estudios demuestran evidencia donde la nutrición tiene efectos en la expresión de varios miARN. Por ejemplo, se ha reportado que las dietas bajas de folato se asocian con la sobreexpresión del miR-222 en humanos.¹⁰⁵ De acuerdo con Tarallo y cols. (2014), al realizar un estudio donde voluntarios con diferentes regímenes alimenticios se les midieron los niveles de expresión de siete miARN en plasma y en heces fecales, no se halló diferencia en la expresión del miR-222 entre veganos, vegetarianos y omnívoros, independientemente del nivel de proteína (e incluso la procedencia de esta) contenida en las dietas.¹⁰⁶ No obstante, debido a que es el primer reporte que se tiene de la relación del miR-222 y las proteínas, se recomienda el desarrollo de proyectos donde se evalúe el efecto de la ingesta proteica con la expresión de los miARN, entre ellos, el miR-222, para confirmar lo observado. Un parámetro que podría aportar información con

respecto a la dieta sería incluir, en futuros estudios, el análisis de proteínas séricas para complementar lo reportado con la ingesta calórica.

Los ejercicios de alta y moderada intensidad se practicaron más frecuentemente en niños con peso normal, mientras que la actividad leve y escasa fue más frecuente en niños con obesidad sin diferencia significativa ni asociación con algún miARN ($p>0.34$). En contraparte, Baggish y cols. (2011), al cuantificar los niveles de expresión relativa de miARN circulantes como respuesta al ejercicio físico exhaustivo en bicicleta estática, se identificó un aumento en la concentración circulante del miR-222.¹⁰⁷ La evidencia recabada por modelos animales y estudios *in vitro* sugiere que el miR-222 es indispensable para el crecimiento y la proliferación cardíaca inducida por el ejercicio. También desempeña un papel vital en la protección del corazón contra la remodelación adversa después de una lesión isquémica.¹⁰⁸ Por otro lado, los resultados del estudio de Wu y cols. (2019) demostraron que el aumento de los niveles de miR-122, el incremento del metabolismo endotelial de ácidos grasos libres y el ejercicio, inducen efectos pro-angiogénicos.¹⁰⁹ Sin embargo, los niños con obesidad, que practican menos actividad física, presentan mayores niveles de miARN. Esta diferencia en resultados puede atribuirse a características de la población diferente a la observada en otros estudios, así como los diferentes tipos de entrenamiento. Es importante mencionar que todos los estudios mencionados previamente, midieron los niveles de expresión de los miARN, con el mismo método empleado en la presente tesis.

Los elevados niveles de expresión del miR-122 circulante confirió 4.5 veces más probabilidad de que las niñas desarrollaran obesidad. Una posible explicación es a través del receptor de peroxisoma-proliferador-activado gamma (PPAR γ), puesto que este, como activador de la transcripción del miR-122, se presenta en mayor concentración en mujeres siendo regulado por el estrógeno.¹¹⁰ Por otro lado, el miR-222 no mostró asociación con respecto al género, a pesar de que el gen del *miR-222* se localiza en el cromosoma X, varios genes en el cromosoma X se inactivan para equilibrar la expresión, como en el caso de las mujeres con dos cromosomas X.¹¹¹

Los niveles de expresión conjunta de los miR-122 y miR-222 circulante aumentó la significancia en la probabilidad de desarrollar obesidad 3.11 y $p=0.023$, en relación con los niveles incrementados del miR-122 circulante con ausencia del miR-222, de 3.42, pero el valor de significancia es limítrofe al 0.05. Dado que los altos niveles de expresión del miR-

122 circulante se hallaron predominantemente en escolares con obesidad, este miARN podría representar un potencial biomarcador de obesidad en población escolar de Yucatán.

Finalmente, el modelo de regresión logística propuesto mostró que los niños que presenten elevados niveles de expresión de ambos miARN, miR-122 y miR-222, tienen 7.2 veces más probabilidad de desarrollar obesidad. El valor del IM incrementa 3.87 veces la probabilidad, así como la ingesta elevada de proteína resulta un factor protector. Este modelo logra explicar que para la población escolar de la ciudad de Mérida existe asociación positiva entre los niveles de expresión circulantes elevados conjuntamente y el IM, parámetro novedoso para identificar de manera indirecta la RI. Por otro lado, se observó asociación negativa con la ingesta de proteínas, confirmando lo observado en varios estudios.¹¹²⁻¹¹⁵

La importancia clínica de este trabajo radica en que los niveles de expresión de los dos miARN reportados en esta tesis, resultan similares a lo previamente descrito en otras poblaciones. De tal manera, al evaluarlos como potenciales biomarcadores de obesidad podría extrapolarse a la población escolar yucateca. Los resultados obtenidos en esta tesis contribuyen con conocimiento científico para el desarrollo de nuevos estudios en los cuales se definan nuevas variables no incluidas en el actual trabajo, con la finalidad de detallar el modelo propuesto para predecir el desarrollo de obesidad a la población en general.

Por último, es de vital importancia considerar que la existencia de variaciones en la población estudiada podría deberse a muchos factores que no se están tomando en cuenta, por ejemplo, la etnicidad, la ancestría maya existente en nuestra región presenta un componente genético amerindio que podría observarse en polimorfismos genéticos no estudiados que generan estas variaciones. De igual modo, la epigenética, debido al tipo de dieta de nuestra población, puede influir en la susceptibilidad o generar cambios en la expresión de enzimas y/o miARN que podrían interactuar con lo estudiado en la presente tesis.

CONCLUSIONES

La expresión relativa de los miARN miR-122 y miR-222 es diferente en escolares con obesidad en comparación con escolares de peso normal. El miR-122 se expresa 1.47 veces más en escolares con obesidad estudiados; el miR-222 se expresa 1.78 veces más en los escolares con obesidad en comparación con los niños de peso adecuado estudiados. Sin embargo, solo los niveles de expresión incrementados del miR-122 circulante se asoció al desarrollo de obesidad en esta población.

Los niveles de expresión incrementados del miR-122 circulante confieren 3.84 más riesgo de desarrollar dicho padecimiento. El riesgo aumenta a 4.5 veces si el escolar es de sexo femenino. Los niveles incrementados del miR-222 circulante no se asocia a obesidad en esta población.

El 80% de los niños con obesidad y el 51% de los niños con peso adecuado estudiados presentaron niveles de expresión incrementados del miR-122 circulante; mientras que el 58% de los niños con obesidad y el 49% de los niños con peso adecuado estudiados tenían incrementados los niveles de expresión del miR-222.

Los niveles séricos de triglicéridos e índice metabólico se asociaron directamente con la expresión relativa de los miR-122 y miR-222 circulantes. Los niveles séricos de HDL se asociaron de manera inversa con ambos miARN.

La baja ingesta de proteínas se asoció con una elevada expresión relativa del miR-222. No se halló asociación entre los hábitos alimenticios y la actividad física con los niveles de expresión de los miR-122 y miR-222 circulantes.

La condición en la que existe un nivel de expresión alto del miR-122 circulante pero no se hallan incrementados los niveles de expresión del miR-222, confiere 3.42 veces más riesgo de desarrollar obesidad en esta población.

Los niveles de expresión incrementados conjuntamente de los miR-122 y miR-222 circulantes confieren 3.11 veces más probabilidad de desarrollar la patología en cuestión. Cuando ambos miARN interactúan directamente con factores como el índice metabólico, colesterol, e inversamente con el LDL y la ingesta de proteínas, el riesgo aumenta a 7.21.

Los niveles de expresión incrementados conjuntamente de los miR-122 y miR-222 circulantes, alto índice metabólico y una baja ingesta de proteínas, podría predecir en un 88.5% de las veces, el desarrollo a obesidad en escolares de Mérida, Yucatán.

RECOMENDACIONES

- La evaluación simultánea de riesgo de ambos miARN, permitirá un mayor entendimiento de la contribución de estas moléculas en la ganancia de peso corporal y alteraciones en los parámetros bioquímicos.
- Se recomienda evaluar al miR-122 como potencial biomarcador de obesidad en población escolar mexicana.
- Con el fin de obtener un mayor poder en las pruebas de análisis estadístico, se sugiere aumentar el tamaño de muestra de escolares, así como completar la determinación de los parámetros dietéticos con la N total. Se sugiere incluir micronutrientes entre los parámetros dietéticos.
- Para comprender el efecto de la variabilidad genética y la expresión de los miARN, se recomienda realizar un estudio que evalúe la asociación entre polimorfismos genéticos de la etnia maya con los niveles de expresión de miARN.
- Se propone identificar los niveles de expresión de estos miARN en otros fluidos, tales como orina o saliva, dado que, si se evalúan como biomarcadores, las muestras se puedan obtener mediante un método menos invasivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Peralta J. Identificación de marcadores genéticos asociados a la obesidad infantil en México. [Tesis] México: Politécnico Nacional; 2010.
2. Olza Meneses J. Análisis de polimorfismos de genes asociados al síndrome metabólico en niños obesos. [Tesis doctoral]. Granada: Universidad de Granada; 2011.
3. Barrera A, Ávila L, Cano E, Molina M, Parrilla J, Ramos R, et al. Guía de práctica clínica: Prevención, diagnóstico y tratamiento del sobrepeso y la obesidad exógena. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2013;51(3):344-357.7.
4. Altamirano C. Epigenética de obesidad en adolescentes. [Tesis]. México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2017.
5. Calva A, González I, Madrigal E, Espinosa E. Revisión de los principales genes involucrados en el desarrollo de la obesidad. Rev Mex Cienc Farm. 2011;42(4):26-38
6. WHO Multicentre Growth Reference Study Group. WHO Child Growth Standards: Length/height-for-age, weight-for-age, weight-for-length, weight-for-height and body mass index-for-age: Methods and development. Geneva: World Health Organization, 2006; 312.
7. Kovesdy C, Furth S, Zoccali C. Obesidad y enfermedad renal: consecuencias ocultas de la epidemia. Nefrología. En prensa.
8. Quesada F. Polimorfismos genéticos implicados en la predisposición a obesidad infantil. [Tesis doctoral]. Salamanca: Universidad de Salamanca; 2013
9. The GBD 2015 Obesity collaborators. Health Effects of Overweight. N Engl J Med. 2017;377(1):13-27
10. Almeida C. Sobrepeso y obesidad escolar, impacto del sistema alimentario. El caso de la zona metropolitana Guadalupe-Zacatecas 2000-2015. [Tesis Doctoral]. Zacatecas: Universidad Autónoma de Zacatecas; 2016.
11. Instituto Nacional de Salud Pública. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016 Informe Final de Resultados. [Consultado 25 Sept 2017]. Disponible en URL: http://oment.uanl.mx/wp-content/uploads/2016/12/ensanut_mc_2016-310oct.pdf
12. Gutiérrez J, Rivera J, Shamah T, Villalpando S, Franco A, Cuevas L, et al. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública; 2012.

13. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012: ENSANUT 2012. Resultados por entidad federativa, Yucatán. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública. 2013. [Consultado 25 Sept 2017] Disponible en URL: encuestas.insp.mx
14. Barbosa E, Fajardo I, Sosa F, Cetina F, Puc I, Vargas R, et al. Estudio poblacional sobre el estado de salud y nutrición de habitantes de la ciudad de Mérida, México. *Rev Esp Nutr Hum Diet.* 2016;20(3):208-215.
15. Ayala C. Variación en el número de copias del gen Asociado a Obesidad y Masa Grasa (FTO) como factor de riesgo para sobrepeso y obesidad en escolares de Mérida, Yucatán. [Tesis] Yucatán: Universidad Autónoma de Yucatán; 2016
16. Liria R. Consecuencias de la obesidad en el niño y el adolescente: un problema que requiere atención. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2012;29(3):357-60.
17. Lizardo A, Díaz A. Sobrepeso y obesidad infantil. *Rev Med Hondur.* 2011;79(4):208-213.
18. Castro C, Hernández V, Cabrera Z, Marin A, Cárdenas S. Hipertrigliceridemia, acantosis nigricans y obesidad en escolares de Yucatán, México. *Ciencia Humanismo Salud.* May-Ago 2016;3(2):49-55.
19. Burrows R. Prevention and treatment of obesity since childhood.: A strategy to decrease the prevalence of non transmissible chronic diseases in the adult. *Rev. méd. Chile* [online]. 2000, 128(1) [cited 2018-05-30], pp.105-110. Available from: <https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872000000100015&lng=en&nrm=iso>.
20. Hernández R, Mathiew A, Díaz O, Reyes N, Álvarez C, Villanueva D, et al. Prevalencia de sobrepeso y obesidad en niños de Monterrey, Nuevo León. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2013;(Supl 1):542-547.
21. Milagro FI, Martínez JA. Epigenética en obesidad y diabetes tipo 2: Papel de la nutrición, limitaciones y futuras aplicaciones. *Rev Chil Endocrinol Diabetes.* Jun 2013; 6 (3):108-114.
22. Ortega R. Costos económicos de la obesidad infantil y sus consecuencias. *Rev Med Inst Mex Seguro Soci.* 2014.; 52(Supl 1):S8-S11.
23. Méndez N. Aspectos del ambiente familiar y escolar relativos a los hábitos de alimentación y actividad física que se asocian al exceso de peso entre escolares de Mérida Yucatán. [Tesis doctoral]. Yucatán: Universidad Autónoma de Yucatán; 2013.
24. González E. Genes y obesidad: Una relación de causa-consecuencia. *Endocrinol nutr.* 2011;58(9):492-496.

25. Lacomino G, Siani A. Role of microRNA in obesity and obesity-related diseases. *Genes Nutr.* 2017;12(23): 1-16.
26. Martínez Romero S *Genética y obesidad*. Universidad Nacional Autónoma de México. Gaceta urbana N3. 2015.
27. Wang T, Jia W, Hu C. Advancement in genetic variants conferring obesity susceptibility from genome-wide association studies. *Frontiers of Medicine*, 2015, 9(2):146
28. Martos Moreno G, Serra Juhè C, Perez Jurado L, Argente J. Aspectos genéticos de la obesidad. *Rev Esp Endocrinol Pediatr* 2017; 8 (Suppl): 21-32 pp.
29. Casanello P, Krause BJ, Castillo JA, Uauy R. Epigenética y obesidad. *Rev Chil Pediatr*. De próxima aparición 2016.
30. Escamilla M. Modificaciones en la cromatina y la herencia epigenética. In: Botanda A, Guevara A, Guevara J, Matuz D, Lara R, Torres PV. *Mensaje bioquímico*, Vol. XLI, Facultad de medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México, DF. 2014. 188-253
31. Cordero P, Milagro FI, Campión J, Martínez, JA. Epigenética nutricional: Una pieza clave en el rompecabezas de la obesidad. *Revista Española de Obesidad*. Feb 2010; 8: 10-20.
32. Xu W, Wang F, Yu Z, Xin F. Epigenetics and cellular metabolism. *Genetics & Epigenetics*. 2016; 8: 43-51.
33. VanDijk SJ, Molloy PL, Varinli H, Morrison JL, Muhlhausler BS. Epigenetics and human obesity. *Int J obes (Lond)*. Mar 2014; 39: 85-97.
34. Lopomo A, Burgio E, Migliore L. Epigenetics of obesity. In: Tao YX. *Progress in molecular biology and translational science*. 1st ed. Auburn: Elsevier; 2016; 151-184
35. Lovrečić L, Maver A, Zadel M, Peterlin B. The Role of Epigenetics in Neurodegenerative Diseases. In: Kishore U. *Neurodegenerative Diseases*. London. InTech; 2013; 345-350.
36. Sharma S, Kriebel J, Grallert H. Epigenetics regulation of glucose metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. Abr 2017. 20 (00): 1-6
37. Sanguinetti J. Estudio y caracterización de pequeños ARNs no codificantes co-inmunoprecipitados con la proteína TcPIWI-Tyr Trypanosoma cruzi. [Tesis] Mntevideo: Facultad de Ciencias, 2011.
38. Perri R, Nres S, Zhang S, Barros A, Offenbacher S. MicroRNA modulation in obesity and periodontitis. *J Den Res*. 2012;91(1)33-38.
39. Pabón V. MicroARNs: Una vision molecular. *Salud UIS*. 2011;43(3):289-297.
40. Griffins S, Grocock R, Dongen S, Bateman A, Enright A. miBase: MicroRNA sequences, targets and gene nomenclature. *Nucleic Acid Res*. 2006;23:D140-D144.

41. Griffins S. The microRNA registry. *Nucleic Acid Res.* 2004;32:D109-D111.
42. Pritchard C, Cheng H, Muneesh T. MicroRNA profiling: approaches and considerations. *Nat Rev Genet*; 2012;13(5):358-369
43. Fischer P, Roos J, Kotrik P, Battelino T, Inzaghi E, Nobil V, et al. Functional significance and predictive value of microRNA in Pediatric Obesity: Tiny Molecules with huge impact? *Horm Res Paediatr.* 2016;86:3-10.
44. López c, Fonseca M, Astudillo H, Ruiz E, Guaderrama J, Sánchez E, et al. Los microRNA: nuevos biomarcadores en cáncer de mama. *Rev Mex Mastol* 2014; 4 (3): 100-107.
45. Heredia L, Castañón C, Marchat L. Los microRNA: nuevos actores de la obesidad. *Evid Med Invest Salud.* 2015;8(4):172-179.
46. Turchinovich A, Samatov T, Tonevitsky A, Burwinkel B. Circulating miRNAs: cell-cell communication function? *Frontiers in Genetics.* 2013;4(119):1-10
47. Gonzalo D, Iglesias E, Llorente V. Biomarcadores epigenéticos y enfermedad cardiovascular: los microARN circulantes. *Rev Esp Cardiol.* De próxima aparición. 2017.
48. Rico M, Vega G, Oliva D. Importancia de los microARN en el diagnóstico y desarrollo de enfermedades. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2014;52(3):308-307.
49. Cui X, You L, Zhu L, Wang X, Zhou Y, Li Y, et al. Change in the circulating microRNA profile of obese children indicates future risk of adult diabetes. *Metabolism.* Forthcoming 2017.
50. Zhao H, Shen J, Mac-Dougall D, Wu X, Chow W. Plasma microRNA signature predicting weight gain among Mexican-American women. *Obesity.* 2017;25(5):958-964.
51. Wang R, Hong J, Cao Y, Shi J, Gu W, Ning G, et al. Elevated circulating microRNA-122 is associated with obesity and insulin resistance in young adults. *Eur J Endocrinol.* 2015;172(3):291-300
52. Ortega F, Mercader J, Catalán V, Moreno J, Pueyo N, Sabater M, et al. Targeting the circulating microRNA signature of obesity. *Clinical Chemistry.* 2013;59(5):781-792
53. Ortega F, Ricart W, Frühbeck G, Fernández J, Mercader J, inventores; CIBEROB, Universidad de Navarra, Centro Nacional de Supercomputaciones Barcelona, IDIBGI, beneficiarios. Método para el diagnóstico y/o pronóstico de obesidad mórbida. España Patente SP 2,461,016. 2014 Mayo 16.
54. Thompson M, Cismowski M, Serpico M, Pusateri A, Brigstock D. Elevation of circulating microRNA levels in obese children compared to healthy controls. *Clin Obes.* 2017;7:216-221.

55. Prats A, Ortega F, Mercader J, Moreno J, Moreno M, Bonet N, et al. Changes in circulating microRNAs are associated with childhood obesity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(10):E1655-E1660.
56. Zhai X, Cheng F, Ji L, Zhu X, Cao Q, Zhang Y et al. Leptin reduces microRNA-122 level in hepatic stellate cells *in vitro* and *in vivo*. *Molecular immunology.* 2017;92:68-75.
57. Zhen L, Yang X, Wen Z, Chao Z, Zhu Z, Zhi G, et al. Positive regulation of hepatic miR-122 expression by HNF4 α . 2011; 55:602-611.
58. Jopling C. Liver-specific microRNA-122: Biogenesis and function. *RNA Biology* 2012; 9:2, 137-142.
59. Gailius, J; Pinel, D ; Wilson, J ; Thibault, P. MIR122 (microRNA 122). *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol.* 2014;18(7):470-479.
60. D. Steward y M. Zuker. Plt122gif. 2007. Washington University. Available in: http://mirnamap.mbc.nctu.edu.tw/php/mirna_entry.php?acc=MI0000442
61. Dell'Oca N, Stoll M. Metabolismo lipídico, micro RNAs y enfermedad cardiovascular. Nuevas terapias génicas basadas en interferencia del ARN. *Tendencias en medicina.* 2014; XXII(44):84-90.
62. Tabasi SA, Erson AE. MIR222 (microRNA 222). *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol.* 2009; 13(8):566-569.
63. Abak A, Amini S, Sakhinia E, Abhari A. MicroRNA-221: biogenesis, function and signatures in human cancers. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2018; 22: 3094-3117.
64. Cruz K, Oliveira A, Morais J, Severo J, Marreiro D. The Role of MicroRNAs on Adipogenesis, Chronic Low Grade Inflammation and Insulin Resistance in Obesity, Nutrition. De pronta aparición 2016.
65. Ávila F, Urrea F, Ortiz B. MicroRNAs en el diagnóstico y prognosis del cáncer pulmonar. *Rev Invest Clin.* 2011;63(5):56-535.
66. Gauderman W, Morrison J. QUANTO 1.1: A computer program for power and sample size calculations for genetic-epidemiology studies. 2006.
67. Lohman T, Roche A, Martorell R. etidors. *Anthropometric Standardization Reference Manual.* Human Kinetics Book. 1988.
68. Perea A, López G, Padrón M, Lara A, Santamaría C, Ynga M, et al. Evaluación, diagnóstico, tratamiento y oportunidades de prevención de la obesidad. *Acta pediatr. Méx,* 2014; 35 (4): 316-337.

69. Roitberg et al 2015 Roitberg GE, Dorosh Z, Sharkhun O. A new method for screening diagnosis of insulin resistance. *Bull Exp Biol Med.* 2015;158(3):397-400.
70. Ruiz M. Protocolo para recolectar muestras sanguíneas por punción venosa en niños. *Enfermería en Costa Rica.* Mayo 2005. 26(1):28-30.
71. Luna C. Determinación de genes regulados por microRNAs involucrados en la leucemia linfocítica aguda tipo B (LLA-B). [Tesis doctoral]. Nuevo León: Facultad de Medicina. 2013.
72. Reglamento de la ley general de salud en materia de investigación para la salud. *Diario Oficial de la Federación* el 6 de enero de 1987, (02-04-2014).
73. Alberti G, Zimmet P, Kaufman F, Tajima N, Silink M, Arslanian S, et al. The IDF consensus definition of the metabolic syndrome in children and adolescents. Belgium: IDF; 2007.
74. Kavey R, Daniels S, Lauer R, Atkins L, Hayman L, Taubert K. American Heart Association Guidelines for Primary Prevention of Atherosclerotic Cardiovascular Disease Beginning in Childhood. *Circulation.* 2003;107:1562-1566.
75. Organización Mundial de la Salud. Introducción. 2012 [citado 23 de mayo 2019]. En: Population-based approaches to childhood obesity prevention [Internet]. Switzerland, [citado 23 de mayo 2019]. ISBN 978 92 4 150478 2
76. Karolina DS, Tavintharan S, Armugam A, Sepramaniam S, Li Ting Pek S, Wong M. *et al.* Circulating miRNA Profiles in Patients with Metabolic Syndrome. *Int J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(12):E2271–E2276
77. Ortiz Dosal A, Rodil García P, Salazar Olivo L. Circulating microRNAs in human obesity: A systematic review. *Biomarkers.* 2019.
78. Bibiloni M, Salas R, Novelo H, Villareal J, Sureda A, Tur JA. Serum lipid levels and dyslipidaemia prevalence among 2-10 year-old Northern Mexican children. *PLoS ONE.* 2015;10(3):14 pp.
79. Kamboh MI, Weiss KM, Ferrell RE. Genetic studies of human apolipoproteins.XVI. APOE polymorphism and cholesterol levels in the Mayans of Yucatan Peninsula, Mexico. *Clinical genetics.* 1991;39:26-32.
80. Posadas Romero C, Sepúlveda J, Tapia Conyer R, Magos C, Cardoso Saldaña G, Zamora J, et al. Values of serum cholesterol in the Mexican population. *Salud Publica de Mexico.* 1992;34(2):157-167.
81. Martos-Moreno GA, Kopchick JJ, Argente J. Adipoquinas en el niño sano y con obesidad. *An Pediatr (Barc).* 2013;78(3):189.e1-189.e15

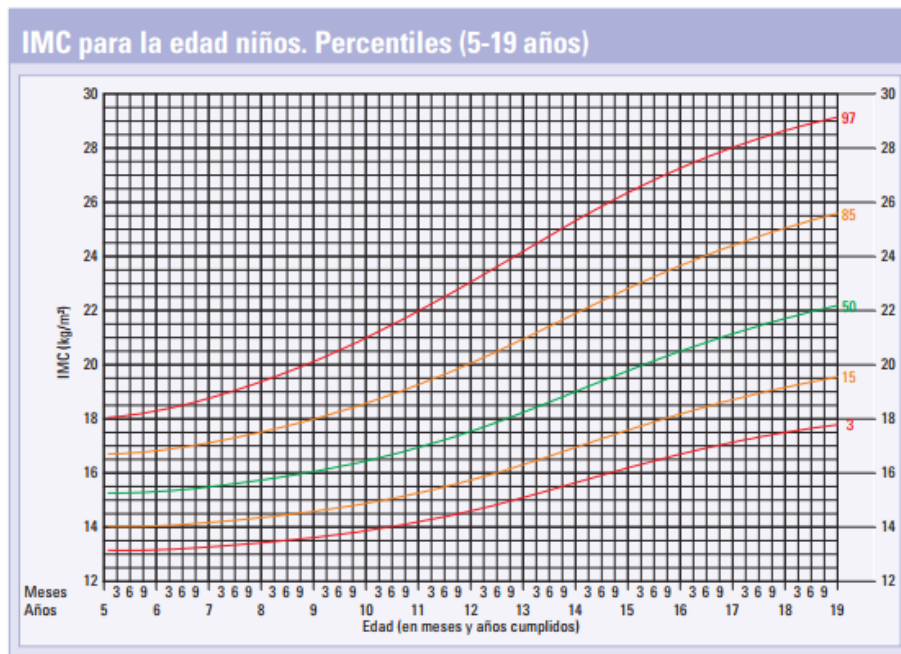
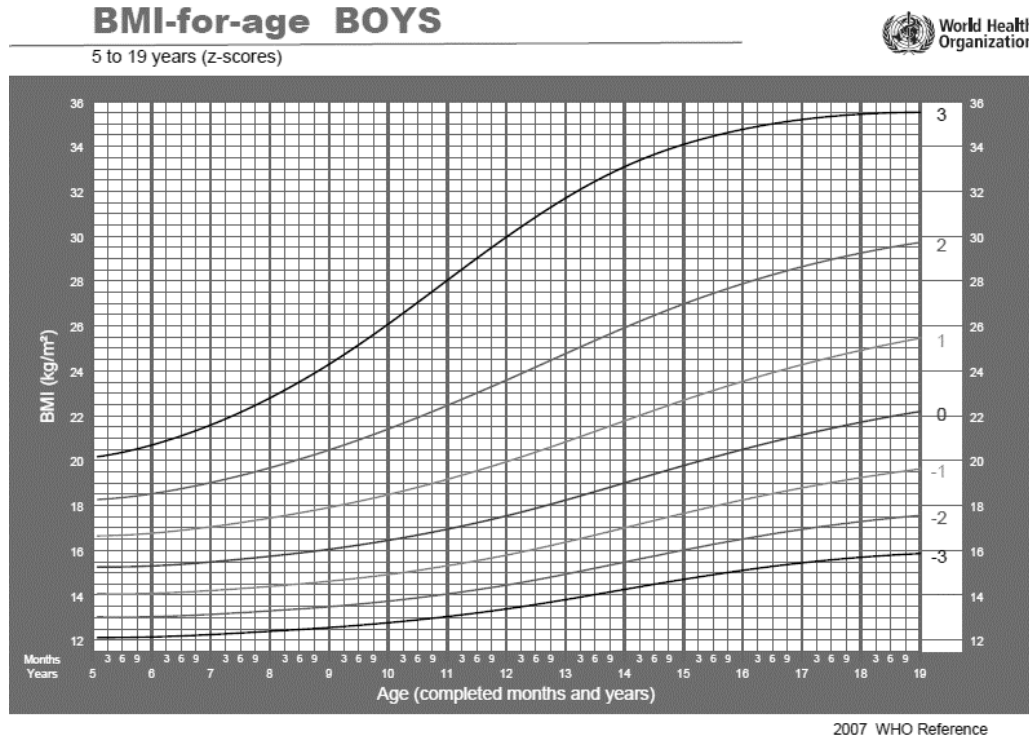
82. Gao W, He Z, Zhao H, Lian X, Wang Y, Zhu J, et al. Plasma levels of lipometabolism-related miR-122 and miR-370 are increased in patient with hyperlipidemia and associated with coronary artery disease. *Lipids Health Dis.* 2012;11:55
83. Kandhro A, Shoombuatong W, Nantasenamat C, Prachayasittikul V, Nuchnoi P. The microRNA interaction network of lipid diseases. *Front. Genet.* 2017; 8:116. doi: 10.3389/fgene.2017.00116
84. Willeit P, Skoroblin P, Moschen A, Yin X, Kaedewits D, Zampetaki A, et al. Circulating microRNA-122 is associated with the risk of new-onset metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes* 2017;66:347-357.
85. Al rawaf H. Circulating microRNA and adipokines as markers of metabolic syndrome in adolescents with obesity. *Clinical nutrition.* 2018; <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2018.09.024>
86. Raitoharju E, Seppälä I, Lyytikäinen L, Viikari J, Korpela M, Soininen P, et al. Blood has-miR-122-5p and hsa-miR-885-5p levels associate with fatty liver and related lipoprotein metabolism- The young Finns study. *Sci. Rep.* 2016;6: 38262; doi: 10.1038/srep38262
87. Yu S, Hong Q, Wang Y, Hou K, Wang L, Zhang Y, et al. High concentrations of uric acid inhibit angiogenesis via regulation of the krüppel-like factor 2-vascular endothelial growth factor -A axis by miR-92. *Circ J.* 2015; doi: 10.1253/circj.CJ-15-0283
88. Szabo G, Csak T. Role of microRNA in NAFLD/NASH. *Dig Dis Sci.* 2016;61:1314-1324.
89. Huang Y, Yan Y, Xu W, Qian G, Li C, Zou H, et al. A New Insight into the Roles of MiRNAs in Metabolic Syndrome. *Biomed Res Int.* 2018; 15 pp. <https://doi.org/10.1155/2018/7372636>
90. Wu J, Ding J, Yang J, Guo X, Zheng Y. MicroRNA roles in the Nuclear factor kappa B signaling pathway in cancer. *Front. Immunol.* 2018; 9:546. doi: 10.3389/fimmu.2018.00546
91. Markipoulos G, Roupakia E, Tokamani M, Alabasi G, Sandaltzopoulos R, Marcu K, et al. Roles of NF-κB Signaling in the Regulation of miRNAs Impacting on Inflammation in Cancer. *Biomedicines* 2018, 6, 40; doi:10.3390/biomedicines6020040
92. Ávila A, Galindo C, Juárez L, Osorio M. Síndrome metabólico en niños de 6 a 12 años con obesidad, en escuelas públicas de siete municipios del Estado de México. *Salud Publica Mex.* 2018;60:395-403. <https://doi.org/10.21149/8470>
93. Lara-Riegos J, Ramírez-Camacho M, Torres-Romero J, Arana-Argaez V, Cercera-Cetina A. Índice metabólico en mayas: asociación con hipercolesterolemia en pacientes con diabetes tipo 2. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2018; 52 (2): 195-203
94. Shah R, Murhy V, Pacold M, Danielson K, Tanriverdi K, Larson M, et al. Extracellular RNAs are associated with insulin resistance and metabolic phenotypes. *Diabetes care,* 2017;40:546-553.

95. Jones A, Danielson K, Benton M, Zielgler O, Shah R, Stubbs R, et al. miRNA signatures of insulin resistance in obesity. *Obesity*. 2017;25(10):1734-1744
96. Ma E, Fu Y, Garvery T. Relationship of circulating miRNAs with insulin sensitivity and associated metabolic risk factors in humans. *Metab Syndr Relat Disord*. 2018;16(2):82-89
97. Shi Z, Zhao C, Guo X, Ding H, Cui Y, Shen R, et al. Differential expression of microRNAs in omental adipose tissue from gestational diabetes mellitus subjects reveals miR-222 as a regulator of ER α expression in estrogen-induced insulin resistance. *Endocrinology*, May 2014, 155(5):1982–1990
98. Cahua JA, Flores E, Cruz M. Receptor de estrógenos alfa en obesidad y diabetes. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 2016;54(4):521-30
99. Peña L, Ros L, Gonzalez D, Rial R. Alimentación del preescolar y escolar. En: Asociación Española de Pediatría. *Protocolos diagnóstico-terapéuticos de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición pediátrica SEGHNPAEP*. Madrid: ERGON. 2010.p. 297-305
100. Ruiz Daniel, Cañete R, Gil Mercedes. Cambios en el perfil lipídico de niños obesos prepuberales. *Vox Paediatrica*. 2007;15(1):12-13
101. Martín N, Ochoa M, Martí A, Martínez MA. Asociación entre los macronutrientes de la dieta y la obesidad en la infancia y adolescencia; un estudio de casos y controles. *Nutr Hosp*. 2013;28(5):1515-152
102. Sancho-Martinez A, Martinez-Romillo P, Ruza-Tarrío F. Valoración del gasto energético en niños. Implicaciones fisiológicas y clínicas Métodos de medición. *An Pediatr (Barc)*. 2008;68(2): 165-180
103. González-Herrera L, Zavala-Castro J, Ayala-Cáceres C, Pérez-Mendoza G, López-González MJ, Pinto-Escalante D, et al. Genetic variation of *FTO*: *rs1421085 T>C*, *rs8057044 G>A*, *rs9939609 T>A*, and copy number (CNV) in Mexican Mayan school-aged children with obesity/overweight and with normal weight. *Am J Hum Biol*. 2018;e23192
104. Claussnitzer M, Dankel S, Kim K, Quon G, Meuleman W, Haugen C, et al. *FTO* obesity variant circuintry and adipocyte browning in humans. *N engl j med*; 2015(373)10:895-907
105. Mathers J, Strathdee G, Relton C. Induction of epigenetic alterations by dietary and other environmental factors.2010. *Advances in genetics* 71:3-39
106. Tarallo S, Pardini B, Mancuso G, Rosa F, Di Gaetano C, Rosina F, et al. MicroRNA expresión in relation to different dietary habits: a comparacion in stool and plasma samples. *Mutagenesis* 2014;29(5):385-391.

107. Baggish AL, Hale A, Weiner RB, Lewis GD, System D, Wang F, et al. Dynamic regulation of circulating microRNA during acute exhaustive exercise and sustained aerobic exercise training. *J Physiol* 2011; 589 (Pt 16): 3983-94.
108. Horak M, Zlamal F, Iliev R, Kucera J, Cacek J, Svobodova L, et al. Exercise-induced circulating microRNA changes in athletes in various training scenarios. *PLoS ONE* 2018; 13(1): e0191060 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191060>
109. Wu J, Hou Z, Li G, Hang X, Gao F. Circulating miR-122-5p: A novel exerkine in exercise-induced angiogenesis. *The FASEB Journal*. 2019.33(1):supl
110. Park H, Choi J. Sex-specific regulation of immune responses by PPARs. *Experimental & Molecular Medicine* 2017; 49, e364; doi:10.1038/emm.2017.102
111. Sharma S, Eghbali M. Influence of sex differences on microRNA gene regulation in disease. *Biology of Sex Differences* 2014, 5:3
112. Brown RE, Sharma AM, Ardern C, Mirdamadi P, Mirdamadi P, Kuk J. Secular differences in the association between caloric intake, macronutrient intake, and physical activity with obesity. *Obes Res Clin Pract*. De próxima aparición. 2015.
113. Santesso N, Akl EA, Bianchi M, Mente A, Mustafa R, Heels-Ansell D, Schunemann HJ. Effects of higher- versus lower-protein diets on health outcomes: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Nutr*. 2012;66:780–8.
114. Azadbakht L, Izadi V, Surkan P, Esmailzadeh A. Effect of a High Protein Weight Loss Diet on Weight, High-Sensitivity C-Reactive Protein, and Cardiovascular Risk among Overweight and Obese Women: A Parallel Clinical Trial. *International Journal of Endocrinology*. 2013; 8 pp.
115. Nabuco, H. C. G., Tomeleri, C. M., Sugihara Junior, P., dos Reis Fernandes, R., Cavalcante, E. F., Antunes, M., Cyrino, E. S. Lower protein and higher carbohydrate intake are related with altering metabolic syndrome components in elderly women: A cross-sectional study. *Experimental Gerontology*, 2018; 103, 132–137.

ANEXOS.

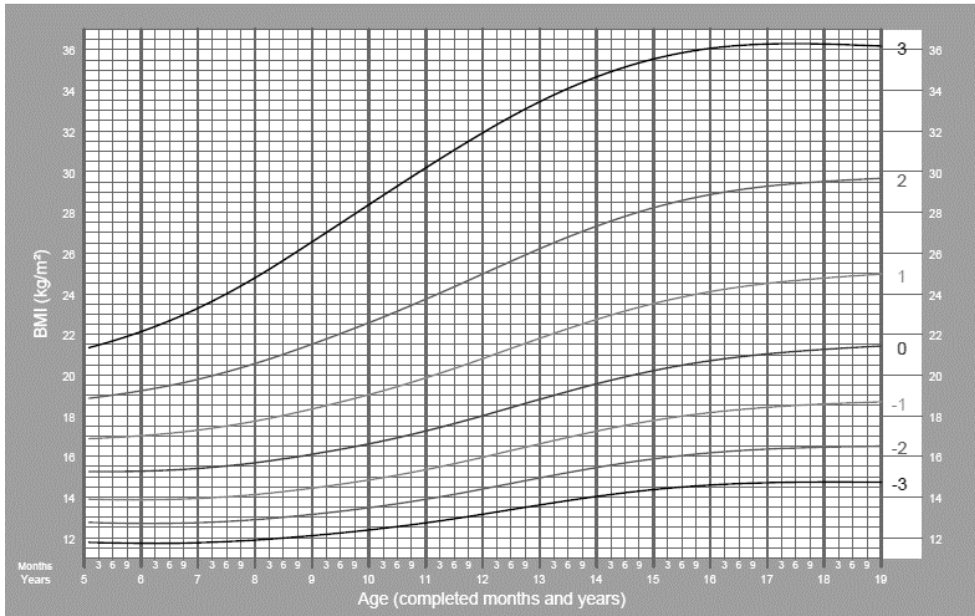
ANEXO I. TABLA DE IMC PARA LA EDAD PARA NIÑOS DE 5 A 19 AÑOS, OMS.



ANEXO II. TABLA DE IMC PARA LA EDAD PARA NIÑAS DE 5 A 19 AÑOS, OMS.

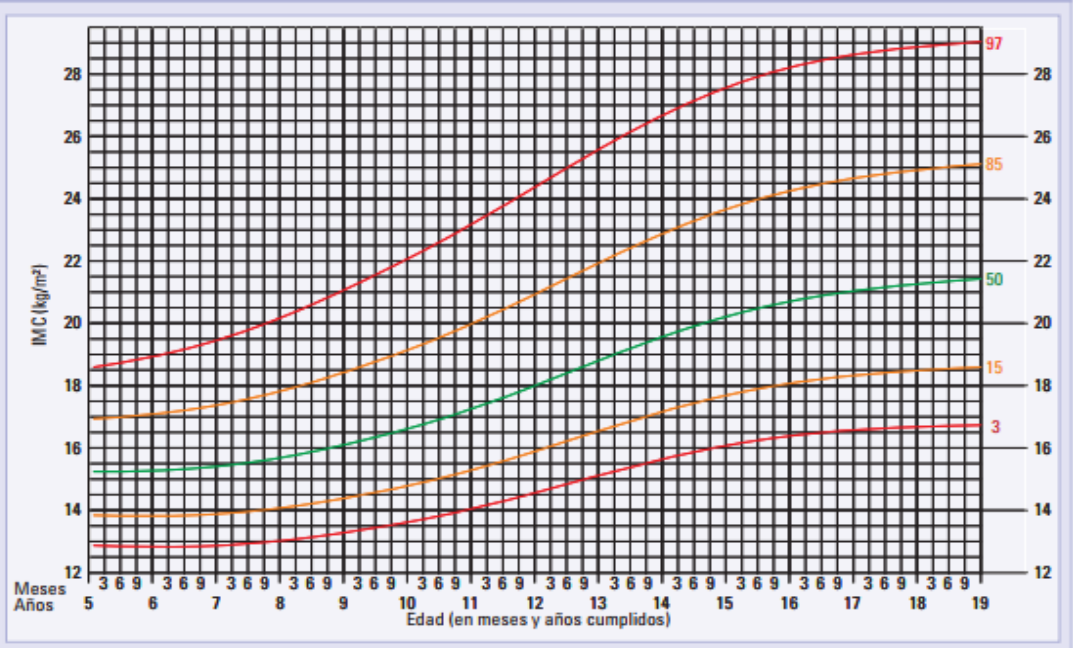
BMI-for-age GIRLS

5 to 19 years (z-scores)



2007 WHO Reference

IMC para la edad niñas. Percentiles (5-19 años)



Patrones de crecimiento infantil de la OMS.

ANEXO III. Historia clínica-nutricional

EVALUACIÓN DEL RIESGO CONFERIDO POR MICRO ARN 122 Y 222 EN ESCOLARES A LA OBESIDAD EN MÉRIDA, YUCATAN.



HISTORIA CLÍNICO-NUTRICIONAL

Fecha: _____

Expediente: _____

Nutriólogo(a) a cargo: _____

DATOS PERSONALES DEL PADRE O TUTOR:

Nombre: _____

Parentesco con el menor: _____ Edad: _____ Sexo: _____ Estado Civil: _____

_____ Lugar de origen: _____ Dirección: _____

_____ Celular: _____ E-mail: _____ Teléfono: _____

DATOS PERSONALES DEL ESCOLAR:

Nombre: _____

Escuela de procedencia: _____ Edad: _____ años _____ meses.

Sexo: _____ Lugar de origen: _____

Fecha de nacimiento: ____/____/____

PREGUNTA	0	1	2	3
ANTECEDENTES FAMILIARES				
Entre familiares directos (mamá, papá o hermanos del niño) o no directos (Abuelos, tíos, primos) ¿hay personas que padezcan o hayan padecido alguna de las siguientes condiciones?:				
1. Obesidad	No hay	1 o más familiares no directos y ninguno directo	Al menos 1 familiar directo	Más de 1 familiar directo
2. Hipertensión Arterial	No hay	1 o más familiares no directos y ninguno directo	Al menos 1 familiar directo	Más de 1 familiar directo
3. Diabetes Mellitus tipo 2	No hay	1 o más familiares no directos y ninguno directo	Al menos 1 familiar directo	Más de 1 familiar directo
4. Niveles altos de colesterol y/o triglicéridos	No hay	1 o más familiares no directos y ninguno directo	Al menos 1 familiar directo	Más de 1 familiar directo
5. Cáncer	No hay	1 o más familiares no directos y ninguno directo	Al menos 1 familiar directo	Más de 1 familiar directo
ALIMENTACIÓN				
Indique la frecuencia semanal con la que el niño consume los siguientes grupos de alimentos	6 o más días por semana	Entre 4 y 5 días por semana	Entre 2 y 3 días por semana	Menos de 2 días por semana o no lo consume nunca
6. Frutas	Muy frecuente	Frecuente	Ocasionalmente	Casi nunca
7. Verduras	Muy frecuente	Frecuente	Ocasionalmente	Casi nunca
8. Leguminosas (frijol, lenteja, chícharo, garbanzo, soya, habas, etc.)	Muy frecuente	Frecuente	Ocasionalmente	Casi nunca

9. Alimentos de Origen Animal Bajos en Grasa (Queso cottage/de cabra, carne de pollo sin piel, mariscos y pescado, jamón de pavo, pierna de cerdo)	Muy frecuente	Frecuente	Ocasionalmente	Casi nunca
10. Leche y lácteos (Leche entera o yogurt no light)	Muy frecuente	Frecuente	Ocasionalmente	Casi nunca
11. Alimentos de Origen Animal Altos en Grasa (Carne de puerco, queso manchego/americano/Oaxaca, salchichas y embutidos)	Muy frecuente	Frecuente	Ocasionalmente	Casi nunca
12. Cereales (Trigo, panes, tortillas, maíz, galletas, pastas, panes, etc.)	Muy frecuente	Frecuente	Ocasionalmente	Casi nunca
13. Comida chatarra (Golosinas, dulces, Sabritas y similares)	Muy frecuente	Frecuente	Ocasionalmente	Casi nunca
14. Refrescos embotellados de cualquier sabor (incluyendo jugos/néctares comerciales)	Muy frecuente	Frecuente	Ocasionalmente	Casi nunca
15. Licuados a base de leche o jugos de frutas preparados en casa sin azúcar adicionada	Muy frecuente	Frecuente	Ocasionalmente	Casi nunca
16. Ofrece dulces (golosinas, helado, pays, galletas) a su hija/hijo como premio por buena conducta.	Muy frecuente	Frecuente	Ocasionalmente	Casi nunca
17. ¿Con qué frecuencia el niño come fuera de casa?	Menos de 2 días por semana o no lo hace nunca	2 o 3 días por semana	4 o 5 días por semana	6 o más días por semana
18. Generalmente ¿Cuántas comidas realiza el niño al día?	Desayuno, almuerzo, cena y 2 colaciones	Desayuno, almuerzo, cena y 1 colación	Solo desayuno, almuerzo y cena	Tiene 2 comidas fuertes o menos.
19. ¿Cuánto tiempo el niño fue alimentado con lactancia materna?	Al menos 6 meses de lactancia materna exclusiva	Al menos 6 meses de lactancia, no necesariamente exclusiva (complemento con fórmulas antes de los 6 meses)	Lactancia materna menos de 6 meses (sustitución completa con fórmulas antes de los 6 meses)	No recibió lactancia materna
20. El niño o niña estuvo bajo algún plan de alimentación especial por enfermedad, visita al nutriólogo, hospitalización, tratamiento médico o alguna situación similar.	Actualmente se encuentra bajo una	Hace menos de un mes	Hace menos de 6 meses	Hace más de 6 meses

ACTIVIDAD FÍSICA				
21. ¿Con qué frecuencia el niño practica algún deporte durante más de 30 minutos (fútbol, basquetbol, beisbol, natación, gimnasia/jazz, artes marciales, o similares)	5 o más días por semana	3 o 4 días por semana	1 o 2 días por semana	No practica ningún deporte
22. El niño realiza actividad física cotidiana como caminar, pasear al perro, subir escaleras, ir al parque, usar bicicleta, etc.	Muy frecuente	Frecuente	Ocasionalmente	Casi nunca
23. Anima a su hija/hijo a usar las instalaciones de su alrededor para hacer ejercicio (por ejemplo, espacios y canchas deportivas en parques y la escuela).	Muy frecuente	Frecuente	Ocasionalmente	Casi nunca
HÁBITOS				
Indique, de manera general, cuántas horas dedica al día el niño para realizar las siguientes actividades:				
24. Estar frente al televisor, sea para ver programas, películas o series	2 horas o menos al día	Entre 2 y 3 horas al día	Entre 4 y 5 horas al día	6 horas o más al día
25. Utilizar la computadora o dispositivos electrónicos (celular, tablets o consolas) para actividades ajenas a la escuela (videojuegos, redes sociales y similares)	2 horas o menos al día	Entre 2 y 3 horas al día	Entre 4 y 5 horas al día	6 horas o más al día
26. ¿Cuántas horas duerme el niño al día, exclusivamente DURANTE LA NOCHE?	Al menos 8 horas completas	Entre 6 y 7 horas completas	Entre 4 y 5 horas completas	Menos de 4 horas completas
27. ¿Cuánto tiempo al día el niño realiza una siesta?	De 0 a menos de 30 min, 3 veces por semana	Menos de 30 min diario	Entre 30 min y menos de 2hr diario	Más de 2 hr diariamente

RECORDATORIO DE ALIMENTOS 24H POR PASOS.

D: desayuno; A: almuerzo; C: Cena. *: Colación

Hora	Ocasión	Cantidad	Alimento/Bebida	Ingrediente	Cantidad	Preparación/tipo/marca

Alimentos olvidados

Alimento olvidado		Cantidad
Café, té, leche, atole, pozol		
Jugo, agua de sabor, agua natural, refresco		
Dulce, caramelo, chicloso, chicle, gomitas		
Galletas, pasteles, chocolates, brownies, globitos, dulce papaya, mazapán	--	
Gelatina, nieve, helado, flan, crema de coco	--	
Cacahuates, nueces, pepita, palanquetas		
Papas, totopos, palomitas, Sabritas, chicharrón	--	
Frutas frescas o deshidratadas		
Jícamas, zanahorias, pepinos, mango		
Cereal, pan, tortilla, francés, donas		
Aceite, mantequilla, crema		
Aderezo, salsa, aguacate		
Queso, yogurt		
Tocinos, crutones		

¿Cuántos vasos de agua consumió al día? _____

¿Esta dieta se parece a su dieta habitual? SI. NO. Es más de lo habitual. Es menos de lo habitual. Es diferente. ¿Por qué?

¿Qué tan frecuente desayuna? Diario. A veces. Casi nunca. No desayuna. ¿A qué hora desayuna? _____

¿Normalmente qué desayuna? _____

INDICADORES ANTROPOMÉTRICOS Y QUÍMICOS:

Nombre del niño: _____ Folio: _____ Fecha: _____

Peso al nacer: _____ longitud al nacer: _____

Medición	Resultado	Medición	Resultado	Unidad	Referencia
Peso (kg)		Glucosa		Mg/dL	70-110
Talla (m)		Ácido úrico		Mg/dL	2.4-7
IMC (kg/m ²)		Colesterol		Mg/dL	0-200
IMC percentiles		HDL		Mg/dL	35-
IMC pz		LDL		Mg/dL	0-130
Circunferencia cintura (cm)		Triglicéridos		Mg/dL	0-150
Circunferencia cadera (cm)		VLDL		Mg/dL	5-30
Índice Cintura-Estatura		Índice aterogénico			0.23-
Índice Cintura-Cadera		Índice c/HDL			0-5
% Grasa corporal		Índice LDL/HDL			0-3

ANEXO IV. TÉCNICA DE VENOPUNCIÓN DE ACUERDO CON RUIZ. ⁵⁸

Se tomarán muestras de 5 mL de sangre a los niños participantes:

1. Acomodar los materiales en una bandeja o en una mesa disponible.
2. Explicar al niño y/o tutor o padre de familia el procedimiento y recordarle el objetivo del mismo.
3. Sentar al niño y solicitar la compañía y ayuda de un adulto para mantenerlo inmóvil y garantizar la correcta técnica.
4. Seleccionar el sitio de la punción, y desinfectarla con ayuda de una torunda de algodón con alcohol. Esperar a que seque. Pedir al niño que cierre y abra el puño varias veces para elegir una vena accesible.
5. Colocar el torniquete en la parte superior del brazo (aproximadamente 3 cm del área aséptica).
6. Desinfectar las manos y colocar guantes desechables.
7. Al realizar la punción, el puño deberá estar cerrado.
8. Colocar la punta de la aguja con el bisel hacia arriba en un ángulo de 30° sobre la superficie de la vena escogida y atravesarse la piel con un movimiento firme y seguro, hasta la luz del vaso sanguíneo. Estire la piel para fijar el vaso. Se usará una aguja estéril cada que toque la piel del niño.
9. Una vez la aguja de la jeringa dentro del lumen de la vena, se deberá jalar el émbolo suavemente hasta obtener el volumen de sangre requerido.
10. Solicitar que el niño abra el puño y aflojar el torniquete mientras se retira la aguja suavemente y se presiona ligeramente con ayuda de un algodón con alcohol el área de la punción. Se deberá mantener la presión del algodón en el área hasta que deje de sangrar.
11. Depositar las muestras en los Vacuntainer con ETDA sódico con su etiqueta correspondiente que deberá contar con el nombre del paciente, un número de referencia, la fecha de recolección y el nombre de la persona que realizó dicho procedimiento.
12. Desechar las agujas y/o jeringas en un contenedor de RPBI.

Los tubos con las muestras recolectadas se almacenarán temporalmente en neveras con hielo y gradillas de tubos donde estos se colocarán, hasta que se almacenen en congeladores del laboratorio a -20°C.

ANEXO V. PROTOCOLO PARA LA EXTRACCIÓN Y PURIFICACIÓN DE ARN CON EL KIT COMERCIAL DE NORGEN®.

Extracción de miARN.

1. Preparación del lisado de la sangre.
 - a. Transferir hasta 100 μ L de la sangre no coagulada tratada con EDTA hacia un tubo de microcentrífuga libre de RNAsa.
 - b. Añadir 250 μ L de Buffer RL a la sangre. Para lisar las células, la muestra se agitará con ayuda del vórtex por 15 segundos, asegurándonos que la mezcla se vuelva transparente antes de continuar.
 - c. Agregar 150 μ L de etanol al 96 o 100% al lisado. Mezclar con el vórtex por 10 segundos.

Purificación de ARN pequeños del lisado.

2. Remover los ARN grandes.
 - a. Ensamble una columna de extracción de ARN grande con uno de los tubos de recolección provistos.
 - b. Aplicar el lisado con el etanol (del paso anterior) en la columna y centrifugar durante 1 minuto a 14,000 x g (~ 14,000 RPM). Conserva el flujo, que contiene las pequeñas especies de ARN. Descartar la columna.
 - c. Transfiera el flujo a un tubo de microcentrífuga sin RNAsa. El flujo obtenido contiene el ARN pequeño, por lo tanto, no hay que desecharlo.
3. Capturar ARN pequeños.
 - a. Agregar 350 μ L de 96-100% de etanol al flujo que se recoge en el paso 2a. Mezcle por agitación en vórtex durante 10 segundos.
 - b. Ensamblar una columna de enriquecimiento de microARN con uno de los tubos de recolección provistos.
 - c. Colocar la mitad de la mezcla de lisado con etanol en la columna y centrifugar durante 1 minuto a $\geq 3,500$ x g (~ 6,000 RPM). Asegurar que el volumen entero del lisado pase a través del tubo de recolección inspeccionando la columna; si el volumen del lisado no pasó, centrifuga por un minuto más a 14,000 x g (~ 14,000 RPM).

- d. Deseche el flujo y vuelva a armar la columna de centrifugado con el tubo de recogida.
 - e. Repita los pasos 3b y 4b para completar la captura del ARN pequeño.
 4. Lavado de columna
 - a. Colocar 400 μ L de "Solución de lavado A" en la columna de enriquecimiento de microARN y centrifugar durante 1 minuto a 14,000 x g (~ 14,000 RPM). Asegurarse de que toda la "Solución de lavado A" haya pasado al tubo de recolección inspeccionando la columna. Si todo el volumen de lavado no ha pasado, centrifugar un minuto adicional.
 - b. Deseche el flujo y ensamble la columna giratoria con el tubo de recolección.
 - c. Repita los pasos 4a y 4b para lavar la columna por segunda vez.
 - d. Lave la columna por tercera vez agregando otros 400 μ L de "Solución de lavado A" y centrifugando por 1 minuto.
 - e. Deseche el flujo que atravesará y reensamble la columna giratoria con su tubo de recolección.
 - f. Centrifugue la columna durante 2 minutos para secar completamente la resina. Descartar el tubo de recolección.
 5. Lavado o elución de ARN pequeños
 - a. Coloque la Columna de enriquecimiento de microARN en un tubo de elución de 1.7 ml nuevo que contiene el kit.
 - b. Agregue 50 μ L de "Solución de Elución A" a la columna. Para concentraciones más altas de ARN, se puede usar un volumen de elución inferior. Se recomienda un volumen mínimo de 20 μ L
 - c. Centrifugar durante 2 minutos a 200 x g (~ 2,000 RPM), seguido de 1 minuto a 14,000 x g (~ 14,000 RPM). Observe el volumen eluido de la columna, ya que, si éste no se ha eluido todo, continúe la centrifugación de la columna a 14,000 x g (~ 14,000 RPM) por 1 minuto adicional. Si se desea recuperar mayor ARN, se recomienda realizar una segunda elución en un tubo de microcentrífuga separado (Repetir los pasos 5b y 5c)
 6. Almacenamiento del ARN.

La muestra obtenida de ARN puede ser almacenada por pocos días a -20°C. Si el periodo de almacén será más largo, se recomienda guardarlo a -70°C.

ANEXO VI. INVITACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

AL PADRE DE FAMILIA O TUTOR

Estimado padre de familia o tutor:

El Centro de Investigaciones Regionales “Dr. Hideyo Noguchi” (CIR) Unidad Biomédica, de la Universidad Autónoma de Yucatán, está realizando el proyecto **“Evaluación del riesgo conferido por los miARN miR-122 y miR-222 a la obesidad en escolares de Mérida, Yucatán”**, bajo la dirección de la Dra. Lizbeth González Herrera del CIR-Biomédicas de la UADY en colaboración con la Secretaría de Salud de Yucatán. La escuela primaria _____ con clave _____ ha sido seleccionada para la participación de los alumnos en el proyecto.

La participación de los alumnos consistirá en:

1. La medición del peso, talla y circunferencia de cintura
2. Toma de muestra de sangre en ayunas
3. Llenado de historia clínica-nutriológica por sus padres o tutor

Las actividades anteriores se llevarán a cabo por profesionales capacitados y con margen de respeto hacia el alumno.

La información obtenida es de carácter confidencial y con fines de investigación.

Le hago llegar una carta de consentimiento, donde se explica la importancia del proyecto, el procedimiento, riesgos y beneficios en caso de que acepte la participación de su hijo (a).

Sin más por el momento, agradecemos de antemano su atención.

Ubicación y contacto.

Centro de Investigaciones Regionales “Dr. Hideyo Noguchi” Unidad Biomédicas

Calle 96 s/n por Av. Jacinto Canek y calle 47 Paseo de Las Fuentes. Edificio Inalámbrica

Teléfono 9245809 y 9245755 ext: 1240 Fax: 9236120.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Mérida, Yucatán, México, a ____ de _____ del año _____

Título de proyecto: Evaluación del riesgo conferido por los microARNs miR-122 y miR-222 a la obesidad en escolares de Mérida, Yucatán.

Dependencia responsable: Centro de Investigaciones Regionales “Dr. Hideyo Noguchi”.

Nombre del investigador principal: Biol: Larissa M. González Arce.

A quien corresponda:

Yo _____, *declaro libre y voluntariamente que acepto mi participación y la de mi hijo(a) en el estudio titulado: Evaluación del riesgo conferido por los microARNs miR-122 y miR-222 a la obesidad en escolares de Mérida, Yucatán, cuyo responsable es la Biol. Larissa M. González Arce, estudiante de maestría en Investigación en Salud y su asesora la Dra. Lizbeth J. González Herrera, ambas pertenecientes al CIR Dr. Hideyo Noguchi.*

Breve descripción del objetivo del estudio: El presente estudio busca evaluar la asociación de los niveles de expresión de los microARN 122 y 222 circulantes, con características de la obesidad de escolares de Mérida, Yucatán. Conocer si las variaciones en los niveles de unas moléculas llamados microARN en la sangre, presentan relación con características de la obesidad en niños, nos daría pistas para entender mejor la obesidad, evaluar si representan algún riesgo de padecer alguna complicación y en un futuro, para el desarrollo de medicamentos alternativos, puesto que, si nos enfocamos en prevenir o tratar la obesidad en etapas tempranas, reduciría el desarrollo de consecuencias en la salud.

Descripción de los procedimientos a realizar La investigación se llevará a cabo de junio del 2018 a julio del 2019 y requerirán datos de:

- Historia clínica-nutricional de su hijo(a) realizada por nutriólogos, en la que usted proporcionará información sobre antecedentes heredofamiliares, de actividad física y de la alimentación de él/ella.
- Toma de sangre realizada por químicos, donde al niño(a) se le sacarán de 6 ml aproximadamente de sangre, 3 ml en un tubo y 3 ml en otro tubo, con un solo piquete (a menos que el químico solicite otra toma por cuestiones técnicas que le serán informadas). La posible consecuencia de la obtención de la muestra es la formación de un moretón y posible dolor en la zona. Sin embargo, se utilizará un anestésico local para reducir el dolor.

- Toma de medidas corporales como peso, estatura, circunferencia de cintura, porcentaje de grasa e IMC, llevado a cabo por nutriólogos.

Todos los datos que usted proporcione, así como los resultados de la muestra de sangre de su hijo(a), serán confidenciales y protegidos. Sus resultados serán publicados en documentos científicos pero su identidad como personas no será relevada. Si tiene alguna duda respecto al estudio, pregúntenos y con mucho gusto le daremos la información que solicita.

Beneficio: La difusión de los resultados a la comunidad científica, sin revelar identidad de las personas, será de utilidad para el personal de salud y la Secretaría de Salud de Yucatán. Si usted decide participar, se le ofrecerá como beneficio los resultados obtenidos sobre su hijo(a) en cuanto a los niveles de los microARN en su sangre, así como análisis de sangre gratuitos, talleres de nutrición saludable y asesoría nutricional para el menor. Se podrá retirar del estudio cuando usted lo decida sin repercusiones ni cobros.

Costo: El estudio no tiene ningún costo para usted ni su hijo(a), así como tampoco recibirán una retribución económica por participar en el estudio.

Comunico que me han informado los objetivos de la investigación, el propósito, los beneficios que se obtendrán de mi participación y la de mi hijo(a), y la descripción de los procedimientos a realizar.

Después de haber comprendido este documento manifiesto que estoy de acuerdo en ingresar y ser parte de este estudio de investigación, tanto yo como mi hijo(a), o retirarnos, sin menoscabo de la atención que recibo. Así como que la información será manejada con estricta ética de confidencialidad y discreción de todos los datos personales.

Finalmente, hago mención de que estoy enterado(a) de que podré solicitar, en cualquier momento, información adicional acerca de los riesgos y beneficios de mi participación en este estudio dirigiéndome al Laboratorio de Genética del CIR Dr. Hideyo Noguchi, con la Biol. Larissa González Arce o la Dra. Lizbeth González Herrera, a los teléfonos: 9245809 y 9245755 ext: 1240 Fax: 9236120, celular 9992-66-67-67, o al correo electrónico A08003039@alumnos.uady.mx, disponible de lunes, miércoles, jueves y viernes de 9:00 am a 4:00 pm; para obtener la información o una cita para que esta sea ampliada.

Nombre _____

Firma _____

Nombre testigo1: _____ Firma: _____

Nombre testigo 2: _____ Firma: _____

ANEXO VII. CARTA DE ASENTIMIENTO.

Mérida, Yucatán, México, a ____ de _____ del año _____

Título de proyecto: Evaluación del riesgo conferido por los microARNs miR-122 y miR-222 a la obesidad en escolares de Mérida, Yucatán.

Dependencia responsable: Centro de Investigaciones Regionales “Dr. Hideyo Noguchi”.

Presentación.

Hola mi nombre es Larissa González Arce y estoy haciendo un estudio para ver si unas sustancias que se encuentran en tu sangre, llamadas micro ARN, tienen algo que ver con características que tú cumples, por ejemplo: tu peso, tu altura, cuánto mide tu cintura, y otras más, y por ello te invito a participar conmigo.

Tu participación es voluntaria, es decir, aún cuando tu papá o mamá hayan dicho que participes, si quieres puedes decir que no. También, es importante que sepas que, si en un momento dado ya no quieres continuar, o si no quieres responder a alguna pregunta en particular no habrá ningún problema.

¿Cómo me puedes ayudar?

Si aceptas, se les harán unas preguntas a ti y a tu mamá o papá (no te preocupes, no es un examen sorpresa), después mediremos cuánto pesas, cuánto mides y cuánto mide tu cintura. También, tomaremos un poco de tu sangre para buscar las sustancias que necesitamos. En cuanto a la toma de sangre, será rápido, con ayuda de una jeringa tomaremos dos tubitos de sangre y será como un piquete de mosquito. Puede salirte un moretón, pero cualquier cosa que quieras saber, me puedes preguntar.

Esta información será secreta, esto quiere decir que no diremos a nadie tus respuestas, sólo lo sabrán las personas que forman parte del equipo de este estudio y tus papás.

Si aceptas participar, te pido que por favor pongas una (X) en el cuadrado de abajo que dice “Sí quiero participar” y escribe tu nombre.

Sí quiero participar.

Nombre del menor: _____

Testigo 1 _____ Firma Testigo 1 _____

Testigo 2 _____ Firma Testigo 2 _____

ANEXO VIII. FOLLETO INFORMATIVO.

¿Qué es la obesidad?

La obesidad es una enfermedad que se da por acumulación excesiva de grasa produciendo aumento de peso, debido a un desequilibrio entre la cantidad de alimentos consumida y el gasto de calorías por ausencia de actividad física. No importa la edad, el sexo, la etnia ni clase social.



¿De qué trata el estudio?

Es una investigación llevada a cabo por profesionales del área de la salud, que buscan medir los niveles de unas moléculas llamadas micro ARN que se encuentran en la sangre de todas las personas, para luego, observar si la cantidad se relaciona con las características de la obesidad.



¿Qué es un microARN?

Es una molécula muy pequeña que todas las personas los tienen de manera normal. Su función es encender o apagar genes para que se produzca o no una proteína. En obesidad, los genes que se apagan o encienden tienen que ver con la grasa en el cuerpo y en la sangre, la inflamación y el riesgo a padecer diabetes. Se abrevia miARN o miR.

¿Cuál es la participación de mi hijo?



• Apoyar en la elaboración de la historia clínica-nutricional junto a usted.



• Toma de sangre en dos tubitos de 3 ml de sangre cada uno con un solo piquete.



• Toma de medidas:
~ Estatura
~ Peso
~ Circunferencia de cintura
~ Índice de masa corporal (IMC)
~ Índice cintura- estatura (ICE)
~ Porcentaje de grasa



• Muestra de orina y heces fecales.

¿Cuál es mi participación?

Si usted lo decide, su participación involucra otorgar permiso/consentimiento a que su hijo participe.

Una vez aceptado, como papá o mamá del menor, nos ayudaría con la elaboración de una historia clínica-nutricional, es decir, se le harán preguntas como una entrevista sobre la salud, la alimentación, los hábitos tanto de usted como de su hijo(a).

¿Hay beneficios?

- Beneficios a la comunidad científica: Primer estudio en México. Aumentar el conocimiento de la enfermedad y evaluar la producción de nuevos tratamientos.
- Beneficios a usted: Resultados de la química del niño(a), de parásitos en las heces y asesoría nutricional de su hijo(a).
- Beneficios a su hijo(a): Incentivo.

¿Es seguro participar?

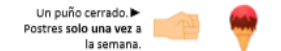
La información proporcionada en la historia clínica-nutricional será confidencial y nadie, además de los investigadores a cargo, tendrán acceso a ella.

En la toma de sangre, la posible consecuencia existente es la formación de un moretón y ligero dolor en la zona, pero serán asistidos por profesionales en todos los casos.

¿Qué cuidados se debe seguir para prevenir la obesidad?

Comiendo sana y adecuadamente 5 comidas al día (desayuno, colación almuerzo, merienda y cena), además de hacer 30 min al menos, de actividad física diaria.

A continuación se presentan unas imágenes dónde se aprecia el tamaño de la porción recomendada para comer adecuadamente.



Estudio: "Evaluación del riesgo conferido por los microARN 122 y 222 a la obesidad en escolares de Mérida, Yucatán".

UADY

Información para recordar

En este tríptico encontrarás lo que necesitas saber sobre el estudio a participar.

¿Qué es micro ARN?

¿Qué es la obesidad?

¿Por qué se realiza la investigación?

¿Qué beneficios tiene participar?

¿Es seguro participar?



Responsables:

Lic. en Biol. Larissa Michelle González Arce.
Dra. Lizbeth J. González Herrera
lari_gonzar@hotmail.com
Tel. 9245809 y 9245755 ext: 1240.
Cel. 9992666767
Laboratorio de Genética.
CIR. Dr. Hideyo Noguchi.
Universidad Autónoma de Yucatán.

ANEXO VIII. INVERSIÓN

Materiales	Precio unitario	Cantidad	Total	Disponible
Trabajo de campo				
Jeringas 5ml con aguja	10	220	2200	
Caja 1000 tubos Vacuntainer© 6 ml	5540	0.25	1385	
Paquete de algodón	20	4	80	
Litro de Alcohol	30	2	60	
Paquete de curitas con 100u	41	2.5	102.5	
Torniquete	10	3	30	
Caja de guantes de látex	550	3	1650	
Libreta de campo	15	1	15	
Caja de bolígrafos	16	1	16	
Impresiones	2	10	20	
Copias	0.5	1020	510	
Báscula SECA© mod. 760	4202	1	4202	✓
Estadiómetro SECA© mod. 217	350	1	350	✓
Cinta métrica Lufkin©	450	1	450	✓
Nevera transporte de muestras	700	1	700	✓
Laboratorio				
Paquete de 1000 puntas de micropipetas	250	1	250	✓
Micropipetas Eppendorf Research 2-20microL	8650	1	8650	✓
500u tubos eppendorf 1.5ml	90	1	90	✓
Microcentrífuga	6000	1	6000	✓
StepOne Applied Biosystem	7500	1	7500	✓
Computadora para PCR RT	14000	1	14000	✓
Kit purificación miARN NORGEN	6000	2	12000	✓
Kit transcripción reversa miARN (Applied Biosystem)	8099	1	8099	
TaqMan microRNA assay (Applied Biosystem)	4643	2	9286	
Laptop	7500	1	7500	✓
7900H StepOne PCR	43250	1	43250	✓
Transporte				
Litros de gasolina total	15.5	60	930	

Total 127,126 MXN

✓ Disponible para su uso en el laboratorio de genética del CIR.