



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE NUTRICIÓN



MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.

COMISIÓN ACADÉMICA DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN PRESENTE

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por el (la) C. DANIELA SÁNCHEZ INGLÉS, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula 10220160608, y que lleva por título "Patrones de metilación de biomarcadores de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 y su relación con los indicadores nutricionales de una muestra de adolescentes de Huitzilac, Morelos" ha sido revisado a satisfacción me permito en mi carácter como miembro del Comité Revisor comunicar lo siguiente:

- I. La tesis reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el examen correspondiente.

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva prestar a la presente.

Atentamente


Dra. América Ivette Barrera Molina
Sinodal (Presidente).

Firmo para lo que resulte conducente, en la ciudad de Cuernavaca Morelos, a los 29 días del mes de enero de 2019.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE NUTRICIÓN



MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.

COMISIÓN ACADÉMICA DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN PRESENTE

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por el (la) C. DANIELA SÁNCHEZ INGLÉS, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula 10220160608, y que lleva por título “Patrones de metilación de biomarcadores de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 y su relación con los indicadores nutricionales de una muestra de adolescentes de Huitzilac, Morelos” ha sido revisado a satisfacción me permito en mi carácter como miembro del Comité Revisor comunicar lo siguiente:

- I. La tesis reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el examen correspondiente.

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva prestar a la presente.


Atentamente
Dra. Azucena Salazar Piña
Sinodal (Secretaria).

Firmo para lo que resulte conducente, en la ciudad de Cuernavaca Morelos, a los 29 días del mes de enero de 2019.



MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.

COMISIÓN ACADÉMICA DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN PRESENTE

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por el (la) C. DANIELA SÁNCHEZ INGLÉS, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula 10220160608, y que lleva por título "Patrones de metilación de biomarcadores de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 y su relación con los indicadores nutricionales de una muestra de adolescentes de Huitzilac, Morelos" ha sido revisado a satisfacción me permito en mi carácter como miembro del Comité Revisor comunicar lo siguiente:

- I. La tesis reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el examen correspondiente.

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva prestar a la presente.



Atentamente

Dra. Margarita de Lorena Ramos García
Sinodal (Vocal).

Firmo para lo que resulte conducente, en la ciudad de Cuernavaca Morelos, a los 29 días del mes de enero de 2019.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE NUTRICIÓN



MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.

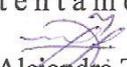
COMISIÓN ACADÉMICA DE
LA MAESTRÍA EN CIENCIAS
DE LA NUTRICIÓN
PRESENTE

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por el (la) C. DANIELA SÁNCHEZ INGLÉS, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula 10220160608, y que lleva por título "Patrones de metilación de biomarcadores de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 y su relación con los indicadores nutricionales de una muestra de adolescentes de Huitzilac, Morelos" ha sido revisado a satisfacción me permito en mi carácter como miembro de la Comité Tutoral comunicar lo siguiente:

- I. La tesis reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el examen correspondiente.

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva prestar a la presente.

Atentamente


Dra. María Alejandra Terrazas Meraz
Sinodal (Suplente).

Firmo para lo que resulte conducente, en la ciudad de Cuernavaca Morelos, a los 22 días del mes de enero de 2019.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE NUTRICIÓN



MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN.

COMISIÓN ACADÉMICA DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN PRESENTE

Toda vez que el trabajo de Tesis realizado por el (la) C. DANIELA SÁNCHEZ INGLÉS, estudiante de la Maestría en Ciencias de la Nutrición, con número de matrícula 10220160608, y que lleva por título "Patrones de metilación de biomarcadores de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 y su relación con los indicadores nutricionales de una muestra de adolescentes de Huitzilac, Morelos" ha sido revisado a satisfacción me permito en mi carácter como miembro de la Comité Tutoral comunicar lo siguiente:

- I. La tesis reúne los requisitos para ser presentada y defendida ante el examen correspondiente.

Sin otro particular, agradezco la atención que sirva prestar a la presente.

Atentamente

Dra. Ollin Celeste Martínez Ramírez
Directora de tesis.

Firmo para lo que resulte conducente, en la ciudad de Cuernavaca Morelos, a los 22 días del mes de enero de 2019.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE NUTRICIÓN

**PATRONES DE METILACIÓN DE BIOMARCADORES DE RIESGO DE
DIABETES MELLITUS TIPO 2 Y SU RELACIÓN CON LOS
INDICADORES NUTRICIONALES DE UNA MUESTRA DE
ADOLESCENTES DE HUITZILAC, MORELOS.**

TESIS

Que para obtener el título de:

MAESTRO EN CIENCIAS DE LA NUTRICIÓN

P R E S E N T A:

L.N DANIELA SÁNCHEZ INGLÉS

DIRECTORA DE TESIS:

Dra. Ollin Celeste Martínez Ramírez

CODIRECTORA:

Dra. Julieta Rubio Lightbourn

COMITÉ TUTORAL:

Dra. María Alejandra Terrazas Meraz

CUERNAVACA, MORELOS

ENERO, 2019

Agradecimientos.

Agradezco el apoyo otorgado a la Dra. Julieta Rubio por las siguientes instituciones: CONACYT 0178860, al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) IN208314, para llevar a cabo este proyecto en el Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), y a la secundaria técnica de Huitzilac #16 Clave 17DST0016J por su valiosa colaboración y facilidades prestadas para realizar el presente estudio.

Le agradezco a la Dra. Celeste Martínez por hacer más de lo que está dentro de sus funciones como mi tutora, por preocuparse no sólo por mis estudios sino también por mi persona, mis inquietudes y bienestar, por tratarme humanamente, por brindarme un lugar de trabajo sincero, confiable y de amistad. Le agradezco por darme la oportunidad de conocer y estudiar el área que había sido un sueño para mí, gracias a Usted aprendí el trabajo de laboratorio e investigación. Muchas gracias por sus enseñanzas, paciencia, comprensión y calidez. También agradezco a la Dra. Julieta Rubio por la calidez que me brindó cuando llegué a la Ciudad de México, fue un acto muy significativo para mí que me dio seguridad y confianza, por su preocupación sobre el bienestar de sus estudiantes, por fomentar un ambiente de apoyo, compañerismo y amistad que hizo que me sintiera feliz de trabajar junto a personas también admiro su profesionalismo, dedicación y humanidad. Le agradezco mucho el tiempo que pasó preparándome para las presentaciones del proyecto, por su ayuda para resolver mis dudas y por su gentileza. Agradezco sinceramente a la Dra. Terrazas por permitirme participar en el proyecto e incluirme en las actividades previas relacionadas a mi tesis. Agradezco la confianza que depositó en mí desde el período de admisión, por la amabilidad que siempre me mostró, su comprensión, su empatía y su buen ánimo en cada examen tutorial que me brindó confianza para poder exponer. Muchas gracias por las tutorías y sus observaciones que siempre hicieron que quisiera buscar más preguntas y respuestas.

La presente tesis está dedicada a mis abuelas, que fueron la razón de que dirigiera mi camino hacia las ciencias de la salud, cuyas vidas motivan la pasión que siento

por saber más sobre el origen de las enfermedades, ellas son mi inspiración para mejorar profesional y personalmente. Su profundo amor, su presencia en mi vida, así como también su sufrimiento me volvieron una persona más humana y comprensiva.

En agradecimiento a mis padres que han dedicado su vida al cuidado de mi hermana y de mí, su amor, comprensión y apoyo han sido incondicionales. Por caminar junto a mí día a día, por estar pendientes y ser partícipes de cada objetivo que me he propuesto, por permitirme enfocarme sólo en las actividades de la maestría, por soportar conmigo las cargas del estrés y guiarme en los momentos más difíciles, pero sobre todo porque gracias a ellos tengo un buen futuro. A mi hermana Valeria, la persona que siempre ha estado conmigo y estará presente en toda mi vida, gracias por motivarme, escucharme y entenderme. La maestría me dio la oportunidad de trabajar junto a ella en un equipo académico y de verla actuar en su profesión, expreso mi agradecimiento por su valiosa ayuda y el gran orgullo que siento por la persona en la que se ha convertido. A mi tía Guadalupe que ha seguido muy de cerca mis pasos y busca la manera de apoyarme en cada momento. A mi abuelo y mis tíos, quienes han creído en mis capacidades. A mis mejores amigos, Zully, Melissa, Kenia, Mary Paz, Javier, Karen Esmeralda, Sandra, Noemí, Cristel y Rodrigo quienes me han acompañado durante varios años, hemos aprendido juntos, me enseñaron a trabajar en equipo con sinceridad y me han animado a superarme. Agradezco profundamente a Paola, una compañera que se convirtió en una amiga que siento como una hermana. Amiga con la que cursé licenciatura y maestría, quiero agradecerle por el apoyo que me ha brindado durante todo este tiempo. Igualmente, quiero agradecer a sus padres, la Sra. Paty y el Sr. Raúl Peña por abrirme las puertas de su casa y ayudarme siempre que ha estado en sus manos. Cabe resaltar, la participación en la cuestión experimental de César González y Aglaé Vallejo, también agradezco el apoyo de Luis Salgado, Gerardo Vázquez y Morayma García por enseñarme las técnicas de biología molecular que fueron empleadas en el presente trabajo, pero principalmente les doy las gracias por brindarme su valiosa amistad. A todos ellos gracias por apoyarme y ayudarme a crecer en los ámbitos profesional y personal.

Índice general

1. ANTECEDENTES	1
1.1 Diabetes mellitus tipo 2 (DMT2)	1
1.2 Sintomatología de la diabetes mellitus tipo 2	2
1.3 Complicaciones de la diabetes mellitus tipo 2	2
1.4 Tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2	3
1.4.1 Fármacos hipoglucemiantes	7
1.5 Señalización de la insulina en condición fisiológica normal	8
1.6 Datos estadísticos sobre la diabetes mellitus tipo 2	10
1.7 Diabetes mellitus tipo 2 en la infancia y adolescencia	13
1.8 Factores de riesgo de diabetes mellitus tipo 2	15
1.8.1 Factores genéticos	15
1.8.1.1 Variantes genéticas	15
1.8.1.2 Etnia	15
1.8.1.3 Antecedentes familiares	15
1.8.2 Factores de riesgo nutricionales	16
1.8.2.1 Bajo peso al nacer	16
1.8.2.2 Lactancia materna	16
1.8.2.3 Desnutrición	17
1.8.2.4 Sobrepeso	17
1.8.2.5 Obesidad	17
1.8.2.6 Obesidad metabólica	18
1.8.2.7 Factor dietético	18
1.8.3 Factores de riesgo ambiental	19
1.8.3.1 Sedentarismo	19

1.8.3.2 Contaminación ambiental.....	19
1.8.3.3 Estrés psicológico.....	19
1.8.3.4 Tabaquismo.	20
1.8.3.5 Pubertad.....	20
1.8.3.6 Síndrome metabólico.....	21
1.8.3.7 Síndrome de ovario poliquístico (PCOS)	21
1.8.3.8 Diabetes gestacional.....	21
1.9 Epigenética.	22
1.9.1 Metilación de DNA.....	22
1.9.2 Metilación del DNA y etapas de la vida.	23
1.9.3 Nutrición y epigenética.....	24
1.9.3 .1 Folato.....	28
1.9.3.2 Metilación y enfermedades crónicas no transmisibles.....	30
1.9.3.3 Alteraciones epigenéticas y diabetes mellitus tipo 2.....	30
1.9.4. Metilación de genes biomarcadores de riesgo de diabetes mellitus tipo 2.....	31
1.9.4.1 Gen de la insulina (<i>INS</i>).	31
1.9.4.2 Gen Sustrato del receptor de insulina 1 (<i>IRS1</i>).	31
1.9.4.3 Gen Transportador de glucosa tipo 4 (<i>GLUT4</i>).....	32
2. JUSTIFICACIÓN	33
3. HIPÓTESIS	34
4. OBJETIVOS.....	35
4.1 Objetivo general.	35
4.2 Objetivos específicos.....	35
5. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	36

5.1	Diseño de estudio.	36
5.2	Universo de trabajo y muestra	36
5.3	Encuestas y cuestionarios.	39
5.4	Desarrollo del proyecto	40
5.4.1	Variables sociodemográficas de estudio.	42
5.4.2	Indicadores nutricionales de estudio.	43
5.4.3	Determinación de los patrones de metilación de los genes <i>INS</i>, <i>IRS1</i> y <i>GLUT4</i>.	43
5.4.3.1	Aislamiento de DNA.	43
5.4.3.2	Electroforesis de gel de agarosa.	44
5.4.3.3	Espectrofotometría por Nanodrop.	45
5.4.3.4	Tratamiento de DNA con bisulfito de sodio.	45
5.4.3.5	Methylation-specific PCR (MSPCR)	46
5.5	Diseño del análisis estadístico.	49
6.	RESULTADOS.	52
6.3	Descripción de la muestra de estudio con base en las variables sociodemográficas, antropométricas, bioquímicas, clínicas, dietéticas y del porcentaje de metilación de <i>INS</i>, <i>IRS1</i>, <i>GLUT4</i>.	61
7.	DISCUSIÓN.	91
8.	CONCLUSIONES.	98
9.	REFERENCIAS.	100
10.	ANEXOS	110

Índice de Figuras

Figura 1 Representación esquemática de la vía de señalización canónica de la insulina.	10
Figura 2. Representación esquemática de las rutas metabólicas para la síntesis de S-adenosilmetionina.....	25
Figura 3. Esquema de la selección de muestra de estudio.	38
Figura 4 Gel de agarosa con muestras amplificadas por PCR con primers metilados y no metilados para el gen GLUT4.....	47
Figura 5. Media del porcentaje de metilación del gen INS según clasificación del IMCE.	65
Figura 6. Media del porcentaje de metilación del gen IRS1 según clasificación del IMCE.	66
Figura 7. Media del porcentaje de metilación del gen GLUT4 según clasificación IMCE.	67
Figura 8. Entropía genética de los biomarcadores de riesgo de diabetes mellitus tipo 2: INS, IRS1 y GLUT4.	91

Índice de Tablas

Tabla 1. Criterios diagnósticos de diabetes mellitus tipo 2 en niños y adolescentes establecidos por ISPAD y la ADA.....	1
Tabla 2. Componentes bioactivos, función y fuentes alimentarias provenientes de la dieta mediterránea.	4
Tabla 3. Composición corporal según índice de masa corporal de acuerdo con la edad (IMCE) y sexo de la población estudiantil participante de la secundaria técnica # 16 de Huitzilac.....	37
Tabla 4. Características de los sujetos que componen la muestra de estudio.	39
Tabla 5. Secuencias y condiciones de amplificación por PCR de los primers metilados y no metilados de los genes INS, IRS1 y GLUT4.....	48
Tabla 6. Puntos de corte de los patrones de metilación de los genes INS, IRS1 y GLUT4 de la muestra de estudio.....	49
Tabla 7. Sexo y grado escolar de la muestra de estudio.....	53
Tabla 8. Descripción de la muestra de estudio por variables sociodemográficas, antropométricas, bioquímicas, clínicas y dietéticas según sexo.....	56
Tabla 9. Descripción de las variables cuantitativas sociodemográficas, antropométricas, bioquímicas, clínicas, dietéticas y del porcentaje de metilación de INS, IRS1, GLUT4.....	62
Tabla 10. Prevalencia de los patrones de metilación de los genes INS, IRS1 y GLUT4 de la muestra de estudio.....	64
Tabla 11. Patrón de metilación de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 de los genes INS, IRS1 y GLUT4 según sexo de la muestra de estudio.....	64
Tabla 12. Prueba de Mann-Whitney-Wilcoxon del porcentaje de metilación del gen <i>INS</i> según las variables sociodemográficas y dietéticas de la muestra de estudio.	69

Tabla 13. Prueba de Mann-Whitney-Wilcoxon de la presión arterial sistólica y el patrón de metilación del gen INS de la muestra de estudio.	71
Tabla 14. Prueba de Mann-Whitney-Wilcoxon del porcentaje de metilación del gen IRS1 según las variables sociodemográficas, bioquímicas y dietéticas de la muestra de estudio.....	72
Tabla 15. Prueba de Mann-Whitney-Wilcoxon del porcentaje de metilación del gen GLUT4 según clasificación del IMCE de la muestra de estudio.....	73
Tabla 16. Prueba de Mann-Whitney-Wilcoxon del perímetro abdominal y el patrón de metilación del gen GLUT4 de la muestra de estudio.....	74
Tabla 17. Relación del porcentaje de metilación de INS y el tiempo de actividad física de la muestra de estudio.....	74
Tabla 18. Relación del porcentaje de metilación de INS y la clasificación del IMCE de la muestra de estudio.	75
Tabla 19. Relación del porcentaje de metilación de IRS1 y la clasificación del IMCE de la muestra de estudio.	76
Tabla 20. Relación del porcentaje de metilación de GLUT4 y la clasificación del IMCE de la muestra de estudio.	76
Tabla 21. Relación del porcentaje de metilación de IRS1 y la depleción muscular según recuento de linfocitos totales en sangre de la muestra de estudio.	77
Tabla 22. Relación de la presión arterial sistólica y el patrón de metilación de INS de la muestra de estudio.	77
Tabla 23. Relación del porcentaje de metilación de IRS1 y la frecuencia de consumo del pan blanco de la muestra de estudio.....	78
Tabla 24. Relación del porcentaje de metilación de INS y la frecuencia de consumo de leche de la muestra de estudio.....	79
Tabla 25. Relación del porcentaje de metilación de INS y la frecuencia de consumo de una taza de arroz de la muestra de estudio.	79

Tabla 26. Razón de momios del patrón de metilación de riesgo de DMT2 de los genes INS, IRS1, GLUT4 y las variables sociodemográficas, antropométricas, bioquímicas, clínicas y dietéticas de la muestra de estudio.	81
Tabla 27. Estimación de OR-multivariada de las interacciones genéticas de los genes biomarcadores de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 por clasificación del IMCE.	90
Tabla 28. Fuentes alimentarias de folatos.	110

Lista de siglas, símbolos y abreviaturas.

ABCD: Antropometría, Bioquímica, Clínica, Dietética.

ADA: Asociación Americana de Diabetes (por sus siglas en inglés).

ADP: Difosfato de adenosina (por sus siglas en inglés).

AKT: Proteína cinasa B (por sus siglas en inglés).

ATP: Adenosina trifosfato (por sus siglas en inglés).

B2: Riboflavina.

B6: Piridoxina.

B7: Colina.

B9: Folato.

B12: Cobalamina.

C: Citosina.

cm: Centímetro.

CBS: Cistationina β -sintasa.

CH₃: Grupo metilo.

CL: Cistationina γ -liasa.

CpG: Fosfato Citosina-Guanina (por sus siglas en inglés).

DMT2: Diabetes mellitus tipo 2.

DNA: Ácido desoxirribonucleico (por sus siglas en inglés).

DNMT: DNAmethyltransferasa.

DPP-4: Inhibidores de la dipeptidil peptidasa-4.

ENSANUT: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición.

FAD: Flavina adenina dinucleótido.

G: Guanina.

g.: Gramos.

GCT: Grasa Corporal Total.

GLP1: Análogo del péptido similar al glucagón tipo 1.

Glu: Ácido glutámico.

GLUT4: Transportador de Glucosa Tipo 4.

H₂PteGlu_n: dihidropteroilglutamato.

H₄PteGlu_n: tetrahidrofolato.

HbA1C: Hemoglobina glucosilada.

HDL: Lipoproteína de Alta Densidad (por sus siglas en inglés).

HOMA-IR: Índice de resistencia a la insulina.

HPA: Eje hipotálamo-pituitaria-adrenal.

IDS: Ingestión Diaria Sugerida.

IMC: Índice de Masa Corporal.

IMCE: Índice de Masa Corporal de acuerdo con la Edad.

INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía.

INS: Insulina.

IRS: Sustrato del receptor de insulina (por sus siglas en inglés).

IRS1: Sustrato 1 del receptor de insulina (por sus siglas en inglés).

ISPAD: Sociedad Internacional de Pediatría y del Adolescente de Diabetes (por sus siglas en inglés).

Kg: Kilogramo.

LDL: Lipoproteína de Baja Densidad (por sus siglas en inglés).

LSC: Límite Superior de Consumo.

MAT: Metionina adenosiltransferasa (por sus siglas en inglés).

MDR: Método de reducción dimensional multifactorial (por sus siglas en inglés).

MGL: Masa Libre de Grasa.

m: Metro.

MTHFR: Metilentetrahidrofolato reductasa (por sus siglas en inglés).

MS: Metionina sintasa (por sus siglas en inglés).

MSPCR: PCR específica de metilación (por sus siglas en inglés).

MT: Metiltransferasa.

NO: Monóxido de nitrógeno (por sus siglas en inglés).

NO₂: Dióxido de nitrógeno (por sus siglas en inglés).

OR: *Odd Ratio*.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

P: Fosfato (por su nombre en inglés).

Pb: Pares de bases.

PAS: Presión Arterial Sistólica.

PAD: Presión Arterial Diastólica.

PCOS: Síndrome de ovario poliquístico (por sus siglas en inglés).

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa (por sus siglas en inglés).

PcT: Índice cintura-talla.

PDK: Cinasa dependiente de PIP3 (por sus siglas en inglés).

PH: Pleckstrina (por sus siglas en inglés).

PI3K: Fosfatidilinositol-3-cinasa (por sus siglas en inglés).

PIP3: 3,4,5-trifosfato fosfatidilinositol (por sus siglas en inglés).

PM₁₀: Partículas con un diámetro aerodinámico inferior a 10 micras.

PLP: Piridoxal-5'-fosfato (por sus siglas en inglés).

PUFAs: Ácidos grasos poliinsaturados (por sus siglas en inglés).

PY: Tirosina fosforilada (por sus siglas en inglés).

RNA: Ácido ribonucleico (por sus siglas en inglés).

T: Timina.

THF: Tetrahidrofolato.

SAHH: S-adenosilhomocisteína hidrolasa.

SAM: S-adenosilmetionina.

SHMT: Serina hidroximetiltransferasa.

SD: Desviación estándar (por sus siglas en inglés).

U: Uracilo.

UAEM: Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

UNAM: Universidad Nacional Autónoma de México.

ZIMO: Zymo Research.

5-formil-H₄PteGlu_n: Ácido folínico.

5-mC: 5-metilcitosina.

Resumen.

Introducción; La diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) está asociada a la interacción entre diferentes factores de riesgo genéticos, ambientales y nutricionales.

Objetivos; Determinar los patrones de metilación de los genes biomarcadores insulina (*INS*), sustrato receptor de insulina 1 (*IRS1*) y transporte de glucosa 4 (*GLUT4*) y su relación con los indicadores nutricionales.

Materiales y métodos; La muestra de estudio está formada por 40 adolescentes ambos sexos, entre 12 y 16 años de edad, de la secundaria técnica #16 de Huitzilac, Morelos, a los cuales se les realizó una valoración nutricional y donaron voluntariamente una muestra de sangre para aislar el DNA para el análisis de la metilación por PCR específica de metilación (MSPCR).

Resultados; El porcentaje de metilación de *GLUT4* tiene relación con la desnutrición según índice de masa corporal para la edad (IMCE) ($p=0.007$). El patrón de metilación de riesgo de DMT2 de *IRS1* y la depleción muscular por recuento linfocitario ($p=0.049$). El patrón de metilación de riesgo de DMT2 de *INS* tiene relación con la presión arterial sistólica ($p=0.029$). El patrón de metilación de riesgo de DMT2 de *INS* y de *IRS1* tienen relación con la frecuencia de consumo de consumo de leche ($p=0.031$). El patrón de metilación de riesgo de DMT2 de *GLUT4* está relacionado con el consumo de pan blanco ($p=0.035$).

Conclusiones; El patrón de metilación de riesgo de DMT2 del gen *INS*, *IRS1* y *GLUT4* tienen asociación con el indicador antropométrico IMCE. El patrón de metilación de riesgo de DMT2 del gen *IRS1* está relacionado con el indicador bioquímico recuento de linfocitos totales de acuerdo con la edad. El patrón de metilación de riesgo de DMT2 del gen *INS*, está relacionado con el indicador clínico presión arterial. El patrón de metilación de riesgo de DMT2 del *INS*, *IRS1* *GLUT4* está relacionado con el indicador dietético frecuencia de consumo.

Abstract.

Introduction; Diabetes Mellitus Type 2 (DMT2) is associated with the interaction between different genetic, environmental and nutritional risk factors.

Objective; To determine the association between nutritional indicators and methylation patterns of insulin biomarker genes, the insulin gene (*INS*), the insulin receptor substrate 1 gene (*IRS1*) and the glucose transport type 4 gene (*GLUT4*)

Materials and methods; The study sample consisted of 40 adolescents from both sexes, between 12 and 16 years old, from the Secundaria Técnica #16 de Huitzilac, state of Morelos, Mexico. The adolescents underwent a nutritional evaluation and voluntarily donated a blood sample, which was used to isolate the DNA for the methylation analysis by methylation-specific PCR (MSPCR).

Results; The percentage methylation of *GLUT4* is related to malnutrition according to the body mass index for age (BMI) ($p=0.007$). The methylation pattern of DMT2 risk of *IRS1* is related to muscle depletion by lymphocyte count ($p=0.049$). The risk methylation pattern of DMT2 of *INS* is related to systolic blood pressure ($p=0.029$). The risk methylation pattern of DMT2 of *INS* and *IRS1* are related to the frequency consumption of milk ($p=0.031$). The risk methylation pattern of DMT2 of *GLUT4* is related to the consumption of white bread ($p=0.035$).

Conclusions; The risk methylation pattern for DMT2 of *INS*, *IRS1* and *GLUT4* genes are associated with the anthropometric indicator of IMCE. The risk methylation pattern of DMT2 of *IRS1* is related to the biochemical indicator of total lymphocyte count according to age. The risk methylation pattern for DMT2 of *INS* is related to the clinical indicator of blood pressure. The risk methylation pattern for DMT2 of *INS*, *IRS1* and *GLUT4* genes are related to the dietary indicator of frequency consumption.

1. ANTECEDENTES.

1.1 Diabetes mellitus tipo 2 (DMT2).

La diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) es una enfermedad crónica no transmisible, degenerativa y sistémica, caracterizada por hiperglucemia crónica provocada por resistencia a la insulina, generalmente desencadenada por factores genéticos y ambientales, lo cual afecta el metabolismo de hidratos de carbono, lípidos y proteínas [1]. La homeostasis de la glucosa es dada por el equilibrio entre la secreción de insulina y la sensibilidad los principales tejidos insulino dependientes: tejido hepático, adiposo y músculo esquelético. Se dice que existe resistencia a la insulina cuando la sensibilidad a la misma se ve disminuida por lo que la secreción de esta hormona debe incrementarse como efecto compensatorio. Sin embargo, eventualmente la cantidad de insulina secretada por las células β pancreáticas no será suficiente para mantener bajo control los niveles de glucosa ocasionando intolerancia a la glucosa que puede progresar a DMT2. La Sociedad Internacional de Pediatría y del Adolescente de Diabetes (ISPAD) y la Asociación Americana de Diabetes (ADA) establecen los siguientes criterios de diagnóstico de DMT2 en menores de 18 años [1]. (Tabla 1).

Tabla 1. Criterios diagnósticos de diabetes mellitus tipo 2 en niños y adolescentes establecidos por ISPAD y la ADA.

Indicador bioquímico	Valor diagnóstico	Conversión a mg/dL
Glucemia en ayunas.	≥ 7.0 mmol/L	126.11
Glucosa plasmática.	≥ 11 mmol/L después de la prueba oral de tolerancia a la glucosa con 75 g máximo de glucosa anhidra disuelta en agua	198.18
Glucosa aleatoria.	≥ 11.1 mmol/L	199.98
Hemoglobina glucosilada (HbA1c).	$>6.5\%$	140

1.2 Sintomatología de la diabetes mellitus tipo 2.

Los síntomas de la DMT2 son poliuria, polidipsia, nocturia y pérdida de peso inexplicable ^[1]. También infecciones fúngicas en la piel de manera recurrente, lentitud en la curación de las heridas, fatiga, visión borrosa, hormigueo o entumecimiento de manos y pies ^[2].

La DMT2 se caracteriza por un estado de hiperinsulinemia compensatorio a la insulinoresistencia ^[3], principal desencadenante de esta sintomatología, ya que la exposición prolongada de las células a este estado da como resultado la desregulación del metabolismo de la glucosa ^[4]. La resistencia a la insulina es la condición donde se presenta una hiperglucemia por la deficiencia en la síntesis de insulina y por la incapacidad de los tejidos a responder a su acción. Sin embargo, es difícil realizar un diagnóstico precoz de la DMT2 porque su desarrollo es lento y asintomático por varios años por lo que se estima que cerca de la mitad del total de los casos de DMT2 permanece hoy en día sin diagnosticar y usualmente suele ser detectada cuando se presenta una complicación ^[2]. Por ello, cuando uno o varios de los síntomas mencionados, es importante realizar una prueba de glucosa en ayunas que se relaciona con un aumento de la producción de glucosa hepática y con el deterioro temprano de la secreción de insulina, la alteración en estos indicadores es más frecuente en hombres que en mujeres. También se sugiere la prueba de tolerancia oral a la glucosa que refleja la resistencia a la insulina periférica, cuya alteración es más frecuente en las mujeres ^[5].

1.3 Complicaciones de la diabetes mellitus tipo 2.

Las complicaciones de la DMT2 pueden clasificarse según su cronología en agudas o crónicas. Dentro de las complicaciones agudas se encuentran: la hipoglucemia que puede definirse como la concentración de glucosa en sangre venosa inferior a 60 mg/dL, la hiperglucemia un aumento de los niveles sanguíneos de glucosa en condiciones de ayuno mayor a 130 mg/dL, cetosis diabética ocasionada por un déficit de insulina acompañado de hiperglucemia >300 mg/dL y cuerpos cetónicos totales en suero 3 mmol/L. De igual modo, el coma hiperglucémico hiperosmolar no cetósico es una de las complicaciones agudas más frecuentes entre los pacientes con DMT2. Por otro lado, las complicaciones de DMT2 a largo plazo son:

complicaciones microvasculares como retinopatía diabética y nefropatía diabética que constituye la principal causa de insuficiencia renal ^[6]. Asimismo, dentro de las complicaciones macrovasculares se encuentra la macroangiopatía que es una afección arterioesclerótica de los vasos de mediano y gran calibre, la cardiopatía isquémica por déficit celular de oxígeno, la enfermedad cerebrovascular o infarto cerebral, enfermedad arterial periférica que consiste en un daño u obstrucción de las arterias tibioperoneas y pedias, esta última afección aunada a una insuficiencia vascular y a pequeños traumatismos en los miembros inferiores puede provocar pie diabético^[7]. Sin embargo, estas complicaciones graves y discapacitantes pueden ser prevenibles o retrasar su desarrollo con un adecuado control de la enfermedad ^[2].

1.4 Tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2.

El tratamiento de la DMT2 debe ser multifactorial incluyendo la adopción de una dieta correcta, mantenimiento de un peso saludable, actividad física, evitar el tabaquismo, control de niveles de presión arterial y lípidos séricos, tratamiento farmacológico acorde a las necesidades del paciente y visitas regulares al médico. Toda dieta debe ser correcta, lo que implica que debe estar completa con todos nutrientes, equilibrada en proporciones apropiadas de nutrientes, inocua, suficiente, variada y adecuada a la cultura, economía y gustos particulares del individuo ^[8]. En los últimos años se ha reportado un tipo de alimentación que ha sido beneficiosa para la salud cardiovascular y metabólica: la dieta mediterránea. Este tipo de dieta presenta las siguientes características: baja ingesta de grasas saturadas procedentes de mantequilla, leche entera y carnes rojas; bajo consumo de azúcares simples y sal; alto consumo de grasas poliinsaturadas como el aceite de oliva virgen, pescado y frutos secos; consumo diario y abundante de verduras, frutas, cereales integrales, legumbres, especias, hierbas, productos lácteos fermentados y el consumo moderado de vino tinto. El efecto benéfico de esta dieta se debe a los componentes bioactivos provenientes de los alimentos que se consumen en mayor proporción cuya función favorece el perfil metabólico de la diabetes mellitus y disminuye el riesgo cardiovascular ^[9,10]. (Tabla 2).

Tabla 2. Componentes bioactivos, función y fuentes alimentarias provenientes de la dieta mediterránea.

Componente bioactivo	Tipo de componente bioactivo	Fuentes alimentarias	Efecto benéfico sobre la salud.
Antioxidantes	Vitamina C. Vitamina E. β -caroteno. Licopeno. Glutati3n. Fenoles 3cidos y flavonoides.	Verduras, frutas, aceite de oliva virgen, frutos secos, legumbres, especias, condimentos y vino tinto.	Reducci3n del estr3s oxidante a nivel celular y sist3mico. Inhibici3n de enzimas como 5-lipoxigenasa, xantina oxidasa y enzima convertidora de angiotensina I. Favorece la vasodilataci3n arterial. Reducci3n de hidroper3xidos y lipoper3xidos de los alimentos ingeridos.
Fibra	Soluble como la inulina. Insoluble como la celulosa.	Cereales integrales como la avena y cebada, verduras, frutas y legumbres.	Disminuci3n de absorci3n intestinal de az3cares y grasas. Favorece la sensaci3n de saciedad por lo que disminuye la ingesta energ3tica, Facilita el tr3nsito intestinal previniendo estreñimiento y c3ncer de colon. Reducci3n del riesgo cardiovascular en 9% por cada 7 g/d3a de fibra diet3tica total.

Componente bioactivo	Tipo de componente bioactivo	Fuentes alimentarias	Efecto benéfico sobre la salud.
Fitoesteroles	Estigmasterol Campesterol.	Cereales integrales, nueces, frutos secos, aceite de oliva y legumbres.	Disminución de la absorción intestinal y del nivel plasmático del colesterol LDL.
Ácidos grasos monoinsaturados	Aceite oleico	Aceite de oliva	Disminución de los niveles séricos de colesterol total, colesterol LDL y triglicéridos. Incremento de los niveles de colesterol HDL.
Ácidos grasos poliinsaturados	Proporción adecuada de omega-6/omega-3.	Pescados, mariscos y frutos secos.	Favorece un perfil menos inflamatorio, debido a la menor producción de citocinas inflamatorias y factores procoagulantes.
Probióticos	Algunas cepas de lactobacilos y bifido-bacterias	Yogurt, queso, alcaparras, vinagre y vino tinto.	Pérdida de peso. Disminución de niveles séricos de colesterol LDL y HbA1c. Prevención de enfermedades gastrointestinales. Aumento de la sensibilidad de las células a la insulina.

En caso de sobrepeso u obesidad, se recomienda la pérdida sostenida del 5 al 10% del peso corporal lo cual trae consigo beneficios a la salud, puesto que reduce las complicaciones asociadas a la DMT2, mejora los factores de riesgo cardiovascular, el perfil lipídico y normaliza los niveles de la presión arterial. La ADA recomienda bajar de peso a través de modificaciones no quirúrgicas y mediante el estilo de vida [11].

El ejercicio debe ser considerado dentro del tratamiento de la DMT2, ya que mejora la captación de glucosa hasta 5 veces más en comparación al reposo durante 2 horas, favorece el transporte y el metabolismo de glucosa en los músculos ejercitados por vías que no dependen de la insulina, incrementa el flujo sanguíneo de insulina y glucosa hacia las células musculares durante varias horas incluso después de finalizar el ejercicio. También aumenta la sensibilidad muscular a la insulina, dado que incrementa en un 30-40% el consumo de glucosa durante 24 horas en los ejercicios de corta duración (20 minutos), de intensidad elevada, en el ejercicio aerobio de baja intensidad y de duración de 60 minutos o más, así como también en entrenamientos con carga semanal baja (15 minutos de actividad física de intensidad moderada cinco veces a la semana). La actividad física tiene importantes efectos sobre el metabolismo de glucosa, puesto que mejora la señalización post receptora de la insulina, del transporte de glucosa, de la capacidad oxidante del músculo, de la densidad capilar y de la vasodilatación dependiente del monóxido de nitrógeno (NO), disminuye la producción hepática de glucosa, aumenta la proporción de fibras oxidantes de tipo I y aumenta la masa muscular, favoreciendo una mayor captación oxidante de la glucosa. Por lo que se recomienda en las personas sedentarias con DMT2 disminuir la cantidad de tiempo en posición sentada, interrumpir los períodos de una hora o cada 90 minutos con 5-10 minutos de ejercicio de baja intensidad, aumentar la actividad física cotidiana, realizar ejercicio de resistencia 3 días a la semana sin dejar pasar más de 2 días consecutivos. Se recomienda adoptar un entrenamiento personalizado [12].

El tratamiento farmacológico consiste en antidiabéticos orales que reducen la hiperglucemia en ayunas (metformina, sulfamidas hipoglucemiantes) y fármacos que reducen la hiperglucemia postprandial (glinidas, gliptinas, acarbosa), los cuales

pueden combinarse dependiendo de las necesidades del paciente. También se emplean tratamiento inyectable como la insulina y los análogos del péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP1).

1.4.1 Fármacos hipoglucemiantes.

- Metformina. Fármaco inicial reduce la gluconeogénesis hepática y la hiperglucemia en ayunas sin riesgo de hipoglucemia, su efecto secundario es la diarrea en el 20% de los casos, también da lugar a una pérdida de peso leve y a una deficiencia de vitamina B12 en caso de nefropatía diabética. La dosis habitual es de 500 a 3000 mg/día según la tolerancia digestiva y la función renal, esta última constituye un motivo de contraindicación en caso de padecer filtrado glomerular menor a 60 ml/min/1,73m², otras contraindicaciones son enfermedad intercurrente aguda, aplicación de una inyección de producto de contraste o anestesia general.
- Las sulfamidas hipoglucemiantes y las glinidas. Son insulinosecretores que se fijan a receptores específicos de la célula β favoreciendo la síntesis de insulina no relacionada a la glucemia del paciente. Sus efectos secundarios son alergias, hepatitis e intolerancia digestiva. Las hipoglucemias que ocasiona pueden llegar a ser problemas serios en personas de edad avanzada o en caso de acumulación por una insuficiencia renal, por lo que el monitoreo digital de la glucemia debe ser una acción constante del paciente.
- Gliptinas. Son inhibidores de la enzima dipeptidil peptidasa-4 (DPP-4) que tiene por función degradar el péptido similar al glucagón tipo 1, el cual es una hormona incretina que permite la síntesis de insulina e inhibe la síntesis de glucagón, por lo que permite elevar la concentración de esta incretina. Este medicamento reduce en menor proporción la HbA1c en comparación con las sulfamidas, pero no produce hipoglucemias, ya que la producción de insulina sólo es estimulada en caso de hiperglucemia. Los efectos secundarios que han sido reportados en raras ocasiones son penfigoides ampollosos y pancreatitis aguda.
- Acarbosa. Inhibe las α-glucosidasas de las microvellosidades intestinales ralentizando la digestión de hidratos de carbono y por consecuencia reduce

la hiperglucemia postprandial. Sus efectos secundarios son el dolor abdominal y las flatulencias.

- Insulina. Los análogos de insulina y la insulina se clasifican según el tiempo de acción y la duración del efecto, así se presentan insulina de acción rápida, acción intermedia y acción prolongada. Los análogos rápidos y la insulina ordinaria son utilizados para control de la hiperglucemia postprandial y tienen una duración de acción de 4 a 6 horas. La insulina de acción intermedia se dirige hacia el control de la hiperglucemia en ayunas, tienen una duración del efecto de 12 horas y puede asociarse a los análogos rápidos en mezclas fijas. Por otra parte, la insulina de acción prolongada puede tener una duración del efecto de 24 horas porque se absorbe lentamente y tiene un efecto estable durante la mayor parte del día.
- Análogos del péptido similar al glucagón tipo 1. Son polipéptidos similares al GLP1, pero con una modificación en su estructura para conferir resistencia ante la degradación por DPP-4, por lo que tiene una vida media prolongada. Favorece la síntesis de insulina, reduce la hiperglucemia postprandial, la ingesta alimentaria y se acompaña de una pérdida de peso independiente de los efectos gastrointestinales adversos que provoca. Los efectos indeseables son náuseas, vómito, diarrea, los cuales mejoran gradualmente conforme el número de aplicaciones. Se contraindica su administración en caso de pancreatitis aguda ^[13].

1.5 Señalización de la insulina en condición fisiológica normal.

La insulina es un péptido de 51 aminoácidos, compuesta por dos cadenas polipeptídicas α y dos cadenas β unidas por puentes disulfuro. Esta molécula es secretada inicialmente como preproinsulina por las células β de los islotes pancreáticos. Una vez liberada al torrente sanguíneo la insulina ejerce efecto en los principales tejidos metabólicos: el adiposo, el muscular y el hepático. Sus funciones son: captación, metabolización, utilización y almacenamiento de hidratos de carbono, proteínas y lípidos. La insulina regula la glucogenogénesis muscular, la lipogénesis en adipocitos, la gluconeogénesis, glucogenólisis y la cetogénesis, así como también favorece la síntesis de proteínas en el músculo. Estas funciones son

llevadas a cabo mediante la activación de vías de señalización que permiten la incorporación de glucosa al interior de la célula, y por regulación enzimática. La vía de señalización de interés para este estudio es la vía de la fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K) /Akt, principal vía metabólica, su activación inicia con la unión de la insulina con su receptor celular el cual tiene actividad intrínseca de cinasa tirosina. El receptor de insulina está conformado como tetrámero con dos subunidades α extracelulares que contienen sitio de unión para la insulina y dos subunidades β con un dominio extracelular y otro intracelular. Cuando la insulina se une a la subunidad α ocurre un cambio conformacional que induce a la autofosforilación de los residuos de tirosina del dominio intracelular β [6]. Estos residuos son reconocidos por el sustrato del receptor de insulina (IRS), esta proteína contiene un dominio amino-terminal de homología a pleckstrina (PH) el cual es importante para la interacción con el sustrato 1 del receptor de insulina (IRS1), seguido de una cola carboxilo terminal que contiene aproximadamente 20 sitios de fosforilación de tirosina importantes para la activación de otras moléculas efectoras río abajo [14]. Entonces IRS fosforila a IRS1 el cual se une a la proteína fosfatidilinositol-3 cinasa (PI3K) la fosforila y activa a fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PIP3), este se une a los dominios PH de la cinasa dependiente de PIP3 (PDK) permitiendo su fosforilación. PDK activa la proteína cinasa B (Akt), siendo Akt2 la isoforma que regula las acciones metabólicas de la insulina permitiendo la translocación de GLUT4 intracelular para captar glucosa e introducirla al interior de la célula para su posterior metabolización [6]. (Figura 1).

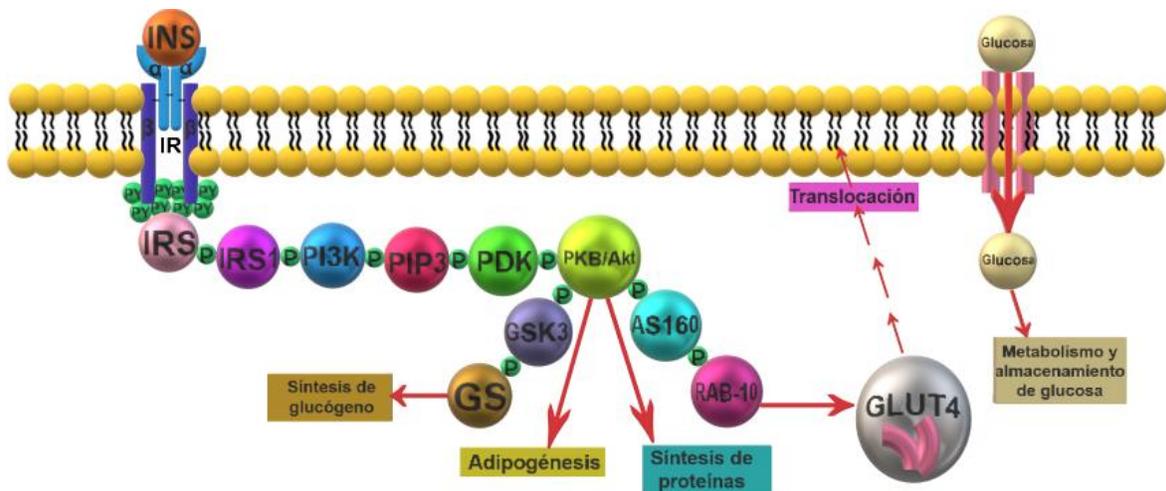


Figura 1 Representación esquemática de la vía de señalización canónica de la insulina.

INS, insulina; IR, receptor de insulina; PY, tirosina fosforilada; IRS, sustrato del receptor de insulina; P, fosfato; IRS1, sustrato 1 del receptor de insulina; PI3K, fosfatidilinositol-3 cinasa; PIP3, 3,4,5-trifosfato fosfatidilinositol; PDK, cinasa dependiente de PIP3; AKT, proteína cinasa B; GLUT4, Transportador de Glucosa Tipo 4.

Fuente: Elaboración propia con base en artículo de Gutiérrez Rodelo C., Mecanismos moleculares de la resistencia a la insulina: una actualización [6].

1.6 Datos estadísticos sobre la diabetes mellitus tipo 2.

La diabetes mellitus es una de las diez principales causas de muerte a nivel mundial y una de las cuatro principales enfermedades crónicas no transmisibles (ENT), por lo que actualmente se le considera una de las mayores emergencias sanitarias del siglo XXI, puesto que en las últimas décadas el número de casos se ha incrementado de manera exponencial, convirtiéndose en un importante problema de salud pública en todo el mundo. De acuerdo con los datos estadísticos reportados por la Federación Internacional de Diabetes (FID), la prevalencia mundial de la diabetes en el 2017 fue de 8.8% afectando a 425 millones de adultos entre 20 y 79 años. De esta cifra la diabetes mellitus tipo 2 conforma el 85-95% de los casos, así como también aproximadamente 212.4 millones son personas que aún no han sido diagnosticadas. Acorde con las predicciones estadísticas de la FID,

se prevé que para el año 2045 la prevalencia de diabetes aumentará a 9.9% con una población a nivel mundial de 629 millones de adultos con este padecimiento. Por otra parte, la mortalidad de la DMT2 a nivel mundial del 2017 corresponde al 10.7% en personas de 20 a 79 años según el informe de la FID. En nuestro caso particular, la FID reportó que en 2017 México ocupó el 5° lugar a nivel mundial del ranking de los diez países con mayor número de personas con diabetes mellitus, con 12 millones de adultos diagnosticados [2]. La prevalencia nacional de DMT2 es de 9.4% en la población total, en el caso de las mujeres la prevalencia es del 10.3% y en hombres del 8.4% según los datos reportados por la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de medio camino 2016 (ENSANUT) [15]. El Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) informó que la diabetes mellitus fue la segunda causa de mortalidad en el país, ocasionando la muerte de 105, 572 personas en el año 2016 [16]. La carga sanitaria y económica por esta enfermedad es alarmantemente elevada lo que repercute negativamente en la calidad de vida del paciente y su familia. Morelos es un estado con determinantes de salud de riesgo para el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2, puesto que las prevalencias de obesidad y sobrepeso han incrementado de manera exponencial en la población infantil y adolescente tanto en la zona urbana como rural. Los niños y adolescentes que tienen sobrepeso u obesidad llegan a mantener este estado por los próximos 6 años favoreciendo a un ambiente obesogénico que exacerba y mantiene el problema de salud. Asimismo, su edad implica un factor de riesgo adicional porque durante la etapa de pubertad la tolerancia a la glucosa se ve disminuida. Respecto al género, las mujeres son el grupo con mayor prevalencia de sobrepeso y obesidad incluyendo aquellas en edad reproductiva. Cabe mencionar, que la gran mayoría de las adolescentes de Morelos que ingresan al hospital son por causas relacionadas al embarazo y que todavía nacen bebés con bajo peso.

El estado de Morelos tiene una alta carga de enfermedad medida por los años de vida saludable perdidos (AVISA) principalmente a causa de la diabetes mellitus tipo 2, también dentro de las primeras patologías que provocan más AVISAS se encuentran enfermedades de índole nutricional y neonatal. En lo que respecta a la

mortalidad por diabetes mellitus tipo 2, esta enfermedad se mantiene como primera causa de muerte en los grupos de adultez temprana y tardía.

Respecto a la población adolescente diagnosticada con diabetes mellitus, los últimos datos reportados pertenecen a la ENSANUT 2012 donde indica que la prevalencia es del 0.8% cifra que representa aproximadamente 155 000 mexicanos [17]. La incidencia de diabetes mellitus tipo 2 en niños y adolescentes está aumentando en respuesta a la epidemia de obesidad infantil, porque la mayoría de las personas con obesidad tienden a ser diabéticos, cursando primero la etapa de prediabetes que incluye elevada glucosa en ayunas e intolerancia a la glucosa [18]. La investigación sobre diabetes mellitus tipo 2 en adolescentes es escasa, sin embargo en un estudio se estima la prevalencia de síndrome metabólico factor de riesgo de DMT2, la investigación fue realizada en 110 mexicanos de 8 a 16 años con diagnóstico de obesidad, en el cual se observó una prevalencia de síndrome metabólico del 62%, así como de sus componentes individuales: obesidad (88%), hipertrigliceridemia (85%) bajos niveles de colesterol HDL (60%) , hipertensión (35%) e hiperglucemia (5%), es importante mencionar que aunque la hiperglucemia tuvo un porcentaje bajo, la hipertrigliceridemia y la obesidad central son los principales factores de riesgo de la resistencia a la insulina seguido de prediabetes y su progresión a diabetes mellitus tipo 2 [19]. De igual modo, se realizó una investigación sobre la prevalencia de síndrome metabólico en 1,150 estudiantes de secundaria y bachillerato de Morelos, los resultados fueron los siguientes; 6.7% de los estudiantes fueron diagnosticados con síndrome metabólico; el 37% de los adolescentes tuvieron sobrepeso u obesidad, siendo el sobrepeso más frecuentes en mujeres con un 19.2% y la obesidad en hombres con 26.5%; el 68.4% cursó con hipertrigliceridemia; 16.8% mostraron niveles elevados de colesterol LDL; 14.7% tuvo hiperglucemia; el 1% presentó una presión sistólica mayor a 120 mmHg; 4% tuvo una presión diastólica mayor a 80 mmHg y el 1% presentó hipertensión arterial [20]. En otra investigación realizada en 50 escolares y adolescentes con sobrepeso y obesidad en una comunidad rural del estado de Tabasco, se midió el perfil lipídico y la glucosa sérica encontrando que el 46% de los sujetos estudiados obtuvo valores de glucosa en ayuno entre 100 y 125 mg/dL y el 70% niveles de triglicéridos ≥ 130

mg/dL ^[21]. Un importante factor de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 es la obesidad, la cual ha sido reportada en el 85% de los casos de DMT2 ^[1]. Cabe destacar que México ocupa el primer lugar a nivel mundial en obesidad infantil, los resultados de la ENSANUT a medio camino 2016 indican que la prevalencia nacional combinada de sobrepeso y obesidad es del 36.3% en los adolescentes entre 12 y 19 años ^[15]. Las últimas estadísticas de la ENSANUT sobre el estado de Morelos son del año 2012, se informó que el 12.2% de los adolescentes de 12 a 19 años presentaron obesidad, seguido en frecuencia por el sobrepeso con el 22.7% y la prevalencia combinada fue de 34.9% ^[17]. Por lo anterior mencionado, la población del estado de Morelos presenta importantes factores de riesgo de DMT2, lo cual se ve reflejado en alta mortalidad de su población puesto que fue la segunda causa de mortalidad en el 2016 según datos del INEGI ^[21]. Se ha publicado que la prevalencia de diabetes estatal diagnosticada en personas mayores de 20 años fue de 8.9% en el 2012 ^[17]. En el último informe publicado por los Servicios de Salud de Morelos del año 2011, se reportó que la tasa de mortalidad estatal por diabetes fue de 82.2 defunciones por cada 100,000 habitantes y que específicamente para el municipio de Huitzilac fue más alta con 90.2 casos por cada 100,000 habitantes, posicionándose como la primera causa de muerte ^[22].

1.7 Diabetes mellitus tipo 2 en la infancia y adolescencia.

La DMT2 en niños y adolescentes es más agresiva y rápida que en adultos, lo cual disminuye 15 años su esperanza de vida. Se conoce que en los adolescentes con obesidad y DMT2 suele disminuir la función celular relacionada con la sensibilidad a la insulina del 20 al 35 % por año, lo que indica que el deterioro de la función celular es más acelerado en comparación con los adultos. La variabilidad interindividual del deterioro de la función celular está asociada con los bajos niveles de péptido C lo cual es un reflejo de la baja producción de insulina. También se ha reportado que las tasas de fracaso terapéutico especialmente con metformina son más altas en los adolescentes con DMT2 en comparación con los adultos con DMT2. De igual modo, las complicaciones microvasculares como la nefropatía y neuropatía se desarrollan antes en los adolescentes con DMT2 que en los adolescentes diagnosticados con DMT1, puesto que pueden estar presentes al

momento del diagnóstico o en los próximos 5 años ^[23]. Se ha reportado que al menos el 32% de los adolescentes diagnosticados con DMT2 presentan hipertensión arterial al momento de ser diagnosticados. Además, se han observado tasas más altas de microalbuminuria, nefropatía diabética y dislipidemia aterogénica en los jóvenes con DMT2 que en los adolescentes que padecen DMT1. El inicio temprano de la DMT2 repercute negativamente en el rendimiento escolar y el trabajo laboral puesto que aumenta la morbimortalidad durante la etapa más productiva de su vida. Generalmente, los niños con DMT2 padecen alguna complicación secundaria relacionada con la obesidad como hipertensión arterial, disfunción endotelial, hígado graso no alcohólico y síndrome metabólico ^[23, 24]. Asimismo, los adolescentes con sólo obesidad ya presentan disfunción celular en relación con la sensibilidad a la insulina, niveles anormales de incretina, incluso en concentraciones normales de glucosa. La combinación de otros factores de riesgo adicionales como la glucotoxicidad, lipotoxicidad, genética, promueven la resistencia a la insulina y su progresión a prediabetes ^[25].

Por otra parte, la pubertad es considerada un factor de riesgo de DMT2, por lo que la ADA recomienda realizar un cribado de DMT2 en niños con sobrepeso u obesidad de 10 años en adelante o durante el inicio de su pubertad y que tengan dos factores de riesgo de DMT2 adicionales, tales como antecedentes familiares de primer o segundo grado, antecedentes maternos de diabetes gestacional, signos de resistencia a la insulina (acantosis nigricans, hipertensión, dislipidemia, síndrome de ovario poliquístico y bajo peso al nacer) y la etnia no caucásica (afroamericana, nativo americana e hispana) ^[26]. Cabe mencionar que más del 75% de los adolescentes con DMT2 tienen antecedentes familiares de diabetes en primer o segundo grado ^[24].

El tratamiento de la DMT2 en adolescente requiere la participación de un equipo multidisciplinario así como de la participación de la familia y personal escolar, este consiste en modificar el estilo de vida a través del ejercicio moderado durante 1 hora al día, la dieta valiéndose del apoyo del nutriólogo, la normalización de la glucemia haciendo uso de metformina en los individuos metabólicamente estables e insulina en los casos más comprometidos y el manejo de las comorbilidades siendo la

hipertrigliceridemia la más predominante ^[1]. El tratamiento con insulina suele indicarse antes en los jóvenes con DMT2 debido a la rápida progresión de la enfermedad y en combinación con la metformina para obtener un mejor control glucémico. La insulina debe indicarse en los adolescentes que presentan cetoacidosis diabética con niveles de glucosa sérica a partir de 250 mg/dL o niveles de HbA1c mayores al 9%. La intervención nutricional implica el establecimiento regular de horas de comida, control de porciones, educación nutricional, disminución de alimentos y bebidas densamente energéticas, así como también el aumento del consumo de fibra dietética. También se recomienda el monitoreo regular de los niveles de glucosa mediante HbA1c cada 3 meses ^[26].

1.8 Factores de riesgo de diabetes mellitus tipo 2.

1.8.1 Factores genéticos.

Cabe destacar que la DMT2 posee un componente genético donde las variantes genéticas, la etnia y los antecedentes familiares incrementan el riesgo genético de DTM2 ^[27].

1.8.1.1 Variantes genéticas.

Se han asociado más de 64 variantes genéticas con DTM2, 53 variantes genéticas se encuentran asociadas con indicadores bioquímicos de la glucosa y 5 variantes genéticas modulan la secreción de insulina en personas con obesidad, sin embargo, estas variantes sólo representan el 10% de la heredabilidad de la DMT2. No obstante, los jóvenes genéticamente predispuestos a desarrollar DMT2 tienden a presentar disglucemia de manera más rápida, ya que la compensación celular de insulina en ellos es inadecuada ^[23].

1.8.1.2 Etnia.

Por otra parte, se ha observado mayor distribución de DMT2 por etnia en hispanos, afroamericanos, nativo americanos, polinesios, isleños del estrecho de Torres y chinos ^[1].

1.8.1.3 Antecedentes familiares.

Las personas que tienen un familiar de primer grado con DMT2 tienen del 30 al 40% de desarrollar la enfermedad inclusive sin que presente obesidad. Por otro lado, tener dos padres con DMT2 supone un riesgo del 70% de desarrollar DMT2 en su

descendencia. En caso de tener un hermano con DTM2 el riesgo de padecer DMT2 es de 2 a 4 veces mayor en comparación con la población normal [23]. También se ha reportado que los niños con ambos padres obesos tienen un riesgo mayor de 69 a 80% de ser obeso en la vida adulta, cuando sólo uno de los padres es obeso su probabilidad de tener obesidad es de 41 a 50%, pero si ninguno de los dos padres es obeso el riesgo disminuye a sólo el 9% de padecer dicha enfermedad y sus comorbilidades tales como DMT2 [28].

1.8.2 Factores de riesgo nutricionales.

1.8.2.1 Bajo peso al nacer.

Las personas con bajo peso al nacer, es decir, un peso menor a 2.5 kg, tienen mayor riesgo de diabetes mellitus tipo 2. El ambiente intrauterino adverso como la desnutrición *in útero*, exposición a toxinas ambientales y alteraciones hormonales provocan adaptaciones fetales que modifican permanentemente la estructura y fisiología del organismo derivando en el desarrollo de enfermedades cardiometabólicas. Los bebés que nacieron con bajo peso que se mantienen delgados son más propensos a ser resistentes a la insulina durante su niñez y su vida adulta. Por el contrario, los recién nacidos prematuros con esta condición tienen alteraciones en la ganancia de peso postnatal suponiendo un mayor riesgo de obesidad, intolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina, dislipidemia e hipertensión. Asimismo, la ingesta de lípidos materna determina la calidad de los ácidos grasos aportados al feto vía placentaria, por lo que el aumento de la ingesta conlleva al desequilibrio de ácidos grasos alterando el desarrollo celular, la expresión génica, la respuesta metabólica y neuroendocrina aumentando el riesgo de DMT2 [29].

1.8.2.2 Lactancia materna.

La falta de lactancia materna durante la primera infancia puede incrementar el riesgo de diabetes mellitus tipo 2. La lactancia materna regula el apetito aumentando la saciedad y sus sustancias bioactivas reducen la deposición de grasa lo que disminuye el riesgo de sobrepeso y obesidad. La leche materna está compuesta por cantidades adecuadas de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) lo que favorece el número de receptores de insulina en el cerebro del niño para mantener un adecuado

metabolismo de glucosa. Por otro lado, se han observado niveles elevados de insulina basal, insulina postprandial y neurotensina en lactantes alimentados con fórmula en comparación con lactantes amamantados, lo que conlleva al desarrollo de resistencia a la insulina [30].

1.8.2.3 Desnutrición.

El músculo esquelético y las células β -pancreáticas tienen una acción sinérgica en el control de la homeostasis sistémica de la glucosa. Por lo ende, la desnutrición proteica parece disminuir la capacidad mitocondrial de las células β -pancreáticas y del tejido muscular, así como también repercute negativamente en la síntesis y liberación de la insulina. La cronicidad de la desnutrición y la capacidad de oxidación de los ácidos grasos del tejido muscular afectado regulan el efecto que tiene esta condición sobre la resistencia a la insulina [31].

1.8.2.4 Sobrepeso.

Se reportado el aumento del 1.7% de la incidencia de DMT2 se asoció con el aumento de una unidad del IMC, tanto el sobrepeso como la obesidad se han reconocido como factores de riesgo de DMT2. En un estudio realizado en una cohorte de finlandeses se encontró que el 77% de los casos nuevos de DMT2 podrían haberse evitado si las personas hubieran tenido un IMC menor a 25 kg/m². El excedente de grasa de corporal está asociado con el aumento de adipocinas y hormonas que pueden aumentar la resistencia a la insulina [32].

1.8.2.5 Obesidad.

La obesidad representa entre el 80 al 85% del riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2. La obesidad disminuye la secreción de insulina, aumenta la resistencia a la insulina, las citocinas proinflamatorias (leptina y adiponectina), favorece la disfunción endotelial, la disfunción mitocondrial y el estrés del retículo endoplásmico [33]. La obesidad central debido a que la mayor acumulación de grasa es de tipo visceral está asociada con el riesgo de DMT2, síndrome metabólico y enfermedad cardiovascular. Sin embargo, las personas con obesidad que además exhiben un perfil lipídico alterado tienen un riesgo de padecer DMT2 de 10 veces mayor en comparación con quienes sólo presentan obesidad cuyo riesgo de DMT2 es de 4.5

veces. Cabe mencionar, que la ganancia de peso durante la adultez temprana resulta ser más dañino que el aumento de peso después de los 25 años ^[34].

1.8.2.6 Obesidad metabólica.

Se refiere al estado en que se encuentra un individuo no obeso, pero exhibe niveles elevados de insulina sérica, hiperglucemia, hipertrigliceridemia y/o hipertensión arterial. La obesidad metabólica incrementa el riesgo cardiometabólico. Se reconocen como factores de riesgo de este tipo de obesidad, los antecedentes familiares de diabetes mellitus tipo 2 y/o hipertensión arterial, la macrosomía fetal y un elevado porcentaje de grasa corporal ^[35].

1.8.2.7 Factor dietético.

En el caso de la alimentación, dentro de las recomendaciones dietéticas para mantener un nivel de glucosa sanguínea adecuado se incluyen la restricción de refrescos y jugos; aumento de verduras y frutas; control de porciones de alimento y la modificación del comportamiento alimentario familiar ^[2].

Un estudio determinó la relación entre los patrones de alimentación adolescentes mexicanos y sus principales hallazgos fueron:

- 1) Patrón occidentalizado el cual consiste en un alto consumo de cereales refinados, alimentos procesados, postres, dulces, azúcar, pasteles, refresco;
- 2) Patrón alto contenido de proteína/grasa donde la elevada ingesta de huevo, aves, carnes rojas, salchichas y alcohol es característico;
- 3) Patrón prudente se basa en un alto consumo de verduras, legumbres, frutos secos, semillas, frutas y granos enteros.

Se observó que el patrón occidentalizado y alto en proteína/grasa se asoció a mayor IMC en comparación con los adolescentes que optaron por el patrón prudente. También se encontró que no hubo diferencias entre el patrón occidental y alto contenido en proteína/grasa, pero hubo menos prevalencia de fumadores en el patrón prudente. La DMT2 se asoció positivamente con los patrones occidentales y alto contenido en proteína/grasa mientras que respecto al patrón prudente se encontró una correlación negativa. El patrón de alimentación de adolescentes el cual es transmitido por su familia, permanece en gran parte sin cambios hasta la

edad adulta. Por lo que la inadecuada alimentación durante la infancia, el ayuno y el tabaquismo tienen un rol determinante en el desarrollo de obesidad y DMT2 [28].

1.8.3 Factores de riesgo ambiental.

1.8.3.1 Sedentarismo

Por otro lado, la actividad física es un factor importante para el mantenimiento de la salud porque aumenta de la sensibilidad a la insulina, mejora del control glucémico, el perfil lipídico y la presión arterial, promueve la pérdida de grasa corporal, y es factor protector de la salud mental. Por lo que el sedentarismo ocasiona el efecto contrario repercutiendo negativamente en el metabolismo y sensibilidad celular a la glucosa [18].

1.8.3.2 Contaminación ambiental.

Dos componentes de la contaminación del aire, las partículas con un diámetro aerodinámico inferior a 10 micras (PM₁₀) y el dióxido de nitrógeno (NO₂) se asocian con el incremento del riesgo de diabetes mellitus tipo 2. Estudios reportaron la asociación del PM₁₀ con los niveles anormales de glucosa en ayunas y la hemoglobina de glicosilada; la asociación entre el NO₂ y el aumento del riesgo de diabetes gestacional; así como también la asociación entre ambos componentes con el aumento del índice de resistencia a la insulina (HOMA-IR). Se sugiere que estos componentes participan en el estrés oxidante favoreciendo la resistencia a la insulina y la disminución de la sensibilidad a la insulina [36].

1.8.3.3 Estrés psicológico.

Ante un evento de estrés bien sea psicológico, laboral, emocional como angustia, depresión o ansiedad e inclusive algún rasgo negativo de personalidad como ira u hostilidad, el organismo responde con la activación del sistema nervioso simpático y del eje hipotálamo-pituitaria-adrenal (HPA). El hipotálamo libera la corticotropina que activa el eje HPA, estimulando en la glándula pituitaria la liberación de la hormona adrenocorticotrópica a la circulación sistémica. Esta hormona permite la liberación de cortisol, el cual es una hormona de tipo glucocorticoide cuyas funciones son el incremento de las concentraciones séricas de glucosa mediante la movilización de las reservas corporales, por lo tanto, participa en la gluconeogénesis, en el metabolismo de lípidos, proteínas e hidratos de carbono. En

condición de patológica favorece el desarrollo de la diabetes mellitus tipo 2, puesto que, la activación crónica del eje HPA desregula la liberación del cortisol aumentando su concentración sanguínea, lo que conlleva a una situación de hiperglucemia por un aumento de la gluconeogénesis, también favorece la lipotoxicidad por aumento de la liberación de lípidos a la circulación sanguínea. Además, los receptores de glucocorticoides se expresan en células β pancreáticas, por lo que la estimulación continua de estos receptores por altas concentraciones de cortisol disminuye la secreción y la sensibilidad a la insulina. Esta situación afecta el patrón diurno de la producción de cortisol, ya que, en condiciones normales el pico máximo se alcanza durante la mañana 35 a 45 minutos después de despertarse y las concentraciones disminuyen durante la noche, sin embargo, en las personas con DMT2 este patrón se observado invertido, donde las concentraciones más elevadas se observan durante la noche, este hecho se asocia con el incremento de la mortalidad cardiovascular.

Por otra parte, la activación simpática del sistema nervioso autónomo a causa del estrés ocasiona cambios en la presión arterial, en la frecuencia cardíaca y en el gasto cardíaco favoreciendo el desarrollo de hipertensión arterial [37].

1.8.3.4 Tabaquismo.

El tabaquismo es un factor de riesgo de hipertensión arterial y de DTM2 [38]. Este factor está asociado con obesidad central, el estrés oxidante, la inflamación crónica, la resistencia a la insulina e hiperglucemia [38]. Respecto al tabaquismo, el estado de Morelos es uno de los 5 estados que tiene mayor prevalencia de tabaquismo en adolescentes, ya que la ENSANUT 2012 reportó que esta población que ha fumado más de 100 cigarrillos en la vida fue de 11.6%, encontrándose mayor proporción en edades comprendidas de 15 a 19 años, siendo la edad de inicio entre los 13 y 19 años, cifra que incluso superó la media nacional que fue de 9.2% [17].

1.8.3.5 Pubertad

Esta etapa de la vida constituye un factor de riesgo de DMT2 debido al incremento y efecto de las hormonas sexuales. Dentro de los cambios secundarios sexuales que ocurren se encuentra el cambio en la composición corporal. En las mujeres incrementa el peso y la acumulación de grasa corporal siguiendo un patrón glúteo

femoral por lo que tiene mayor riesgo de sobrepeso. Cabe mencionar que la obesidad durante la adolescencia incrementa significativamente el riesgo de DMT2 y de enfermedad coronaria [40].

La estatura baja es un factor de riesgo de DMT2, se ha observado que los adultos altos tienen más proporción de masa muscular por lo que hay mayor captación de glucosa, también se ha correlacionado negativamente el factor de crecimiento insulínico 1 con el crecimiento infantil y la intolerancia a la glucosa. La pubertad es un período determinante de la estatura y su alteración puede provocar el cierre precoz de las placas de crecimiento [41]. En las mujeres, la edad de la menarquía se correlaciona negativamente con el remanente de crecimiento (4 a 6 centímetros más). Cuanto más temprano se presente la menarquía menor tiempo total de crecimiento traduciéndose en menor estatura adulta. En el caso de los hombres, la pubertad precoz que se presenta entre los 9 y 10 años también ocasiona el cierre temprano de las placas de crecimiento y reduce la talla final del individuo [42].

1.8.3.6 Síndrome metabólico.

Es considerado un predictor de diabetes mellitus tipo 2 en la adultez e incrementa el riesgo hasta cinco veces más. El síndrome metabólico consiste en la presencia de al menos tres alteraciones metabólicas interrelacionadas: la obesidad, hipertensión arterial, dislipidemia aterogénica, hiperglucemia e hiperinsulinemia. La presencia de síndrome metabólico, sobrepeso u obesidad desde los ocho años puede predecir un mayor riesgo de diabetes mellitus tipo 2 de la vida adulta [43].

1.8.3.7 Síndrome de ovario poliquístico (PCOS)

Estado patológico de la mujer en el existe un exceso de andrógenos, hirsutismo, irregularidades menstruales, hiperinsulinemia relacionada a la obesidad y resistencia a la insulina lo que se traduce en un mayor riesgo de DMT2 y cardiovascular [44].

1.8.3.8 Diabetes gestacional.

La diabetes gestacional aumenta el riesgo de padecer tanto de obesidad como DMT2 en su descendencia, este riesgo es mayor en el feto masculino [44]. De igual modo, la diabetes gestacional incrementa 7 veces el riesgo de padecer DMT2 en las mujeres embarazadas que lo padecen [45]. En la actualidad, este padecimiento

afecta del 7 al 17% a nivel mundial y en los últimos años su prevalencia ha ido en aumento, por lo cual puede ser motivo de preocupación, puesto que, exacerba el problema de la DMT2 debido a que forma parte de un ciclo vicioso e intergeneracional de la enfermedad [46].

1.9 Epigenética.

La regulación génica es un factor determinante en el proceso de salud-enfermedad, ya que bajo ciertas condiciones puede determinar la expresión genética favoreciendo o alterando la homeostasia del organismo. La epigenética es el estudio de los mecanismos regulatorios de la expresión génica que no implican un cambio en la secuencia del DNA y de las modificaciones hereditarias potencialmente reversibles influidas por factores ambientales que resultan en la activación o el silenciamiento de un gen. Los mecanismos epigenéticos son: la metilación del DNA, el silenciamiento génico asociado a RNA's no codificantes, la acetilación, la metilación y la fosforilación de las histonas, procesos que responden a factores ambientales/nutricionales como por ejemplo: la contaminación ambiental, el tabaquismo, el consumo de alcohol, la deficiencia de vitaminas B, dieta baja en proteínas, la obesidad, la hiperglucemia, el estrés oxidante, la hipoxia, la inflamación, la composición corporal de la madre durante el embarazo y del propio individuo en las etapas de su vida [47].

1.9.1 Metilación de DNA.

La metilación del DNA es el mecanismo epigenético de interés para el presente proyecto, mismo que se ha relacionado con el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles [29]. La metilación del DNA es la adición covalente de un grupo metilo (-CH₃) a la posición 5' del anillo de la citosina transformándose en 5-metilcitosina (5-mC), este proceso ocurre en los dinucleótidos CpG (citosina-fosfato-guanina), los cuales suelen ser secuencias repetitivas conocidas como islas CpG y se encuentran en regiones promotoras de los genes o en las regiones con mayor concentración centromérica [48]. El genoma tiene un perfil de metilación también conocido como metiloma, por cuestiones de regulación génica se designan niveles de metilación de los genes, los cuales pueden encontrarse bien sea metilados y por ende silenciados o hipometilados y activos en condiciones normales, este patrón es

específico de cada gen. La metilación del DNA es un proceso llevado a cabo por las enzimas metiltransferasas (DNMT), las DNMT3a y DNMT3b realizan una metilación *de novo* principalmente durante la gestación. Por otro lado, la enzima DNMT1 mantiene las marcas de metilación durante la replicación del DNA mediante un proceso de reconocimiento y copiado de los patrones de metilación preexistentes, también reconoce y metila los sitios CpG hemimetilados. La ubicación de la metilación respecto al gen tiene efecto en la función genética, por ejemplo, la metilación del DNA en la región promotora e intergénica suele estar ausente pero cuando se encuentran metiladas ocasiona el silenciamiento del gen.

1.9.2 Metilación del DNA y etapas de la vida.

La metilación del DNA es un proceso altamente dinámico durante la embriogénesis y frecuentemente se asocia con la represión transcripcional a largo plazo, como sucede en la inactivación del cromosoma x, la impronta genómica y el silenciamiento de elementos del DNA repetitivos. De manera normal durante la embriogénesis existen dos períodos donde se llevan a cabo procesos de desmetilación global del DNA parental y de remetilación para establecer los patrones de metilación de los genes del individuo en desarrollo. Uno de estos períodos sucede después de la fertilización, donde el genoma paterno sufre una desmetilación global del DNA por replicación del DNA independiente o “activa”, mientras que el genoma materno es desmetilado por replicación del DNA dependiente de procesos “pasivos”, aunque en ambos genomas la metilación de genes imprintados y elementos repetitivos del DNA es conservada. En el desarrollo posterior del embrión, se da una metilación *de novo* global y se restablece la metilación en tejidos embrionarios y extraembrionarios como el trofoblasto y el saco vitelino. El segundo período de desmetilación sucede poco antes del nacimiento, durante la generación de células germinales se borra nuevamente el patrón de metilación con la diferencia de que ahora se incluyen los genes imprintados para dar paso a una metilación sexo-específica, en el caso de los hombres se da una metilación prenatal *de novo* durante la proespermatoogonia y en el caso de las mujeres se restablece la metilación de manera postnatal durante el crecimiento del ovocito ^[48].

El genoma es especialmente susceptible durante esta etapa de la vida, ya que es durante la época fetal y postnatal donde existe mayor regulación epigenética, cualquier alteración por factores ambientales incide en el cambio de patrón de metilación de los genes permitiendo el desarrollo de enfermedades de manera congénita o incrementando el riesgo de padecerlas en la adultez. La hipótesis de Barker publicada en 1992 en Inglaterra es la primera teoría que plantea la programación fetal, esta hipótesis expone que las condiciones de vida adversas durante la vida intrauterina y la infancia como la desnutrición materna, una dieta insuficiente, la restricción del crecimiento intrauterino, un peso al nacer menor a 2.5 kg y la ausencia de lactancia materna, son factores ambientales que se vinculan con enfermedades crónico-degenerativas como la hipertensión, la cardiopatía isquémica y accidente cerebrovascular en la adultez ^[49]. Sin embargo, en la infancia y la adolescencia todavía pueden producirse modificaciones de cierta magnitud. La nutrición en estas etapas de la vida es crucial para alcanzar el máximo potencial de crecimiento, favorecer el desarrollo idóneo de los individuos y porque definirá los hábitos buenos o malos que perdurarán en la vida adulta ^[40].

1.9.3 Nutrición y epigenética.

La nutrición inadecuada es un importante factor ambiental que puede modificar las marcas epigenéticas incrementando el riesgo a sufrir enfermedades metabólicas, sin embargo, aún queda el efecto esperanzador que tiene una nutrición adecuada para revertir esas marcas epigenéticas de riesgo o prevenir los cambios de metilación que ocurren con la edad. Así, podemos ejemplificar el importante rol que juegan los nutrientes donadores de grupos metilos, especialmente los que intervienen en el ciclo de la metionina, los cuales son vitaminas como el ácido fólico, la riboflavina, la piridoxina, la cobalamina, colina y el aminoácido metionina, los cuales son básicos para el mantenimiento de los niveles de metilación del DNA y las histonas. Se ha observado que una dieta deficiente de estos grupos metilo puede provocar enfermedades como la esteatosis hepática la cual es revertida una vez que se suplementa con estas vitaminas. Además, los cambios energéticos y la modificación de los porcentajes de macronutrientes sobre el valor calórico total de la dieta también ejercen un efecto en el grado de metilación del DNA ^[46].

La metilación del DNA es un mecanismo epigenético regulador de la expresión génica, regulación que se ejerce mediante grupos metilos que funcionan como “marcas” en el genoma que permiten el silenciamiento o la activación un gen. Dichas marcas epigenéticas responden a la exposición continua de factores ambientales y son alteraciones hereditarias mitóticas. El sustrato que se utiliza para la transferencia de grupos metilo al DNA, RNA, proteínas y fosfolípidos es la S-adenosilmetionina (SAM) compuesta por adenosina trifosfato (ATP) y metionina. La producción de la S-adenosilmetionina se basa en vitaminas del grupo B como: folato (B9), cobalamina (B12), riboflavina (B2), piridoxina (B6) y colina (B7), también se requiere de aminoácidos los cuales son: metionina, cisteína, serina y glicina, a estos nutrientes se les conoce como “nutrientes metílicos”.

La síntesis de S-adenosilmetionina requiere la participación de tres vías bioquímicas interrelacionadas, estas son: el ciclo del folato, el ciclo de la metionina y la vía de transulfuración.

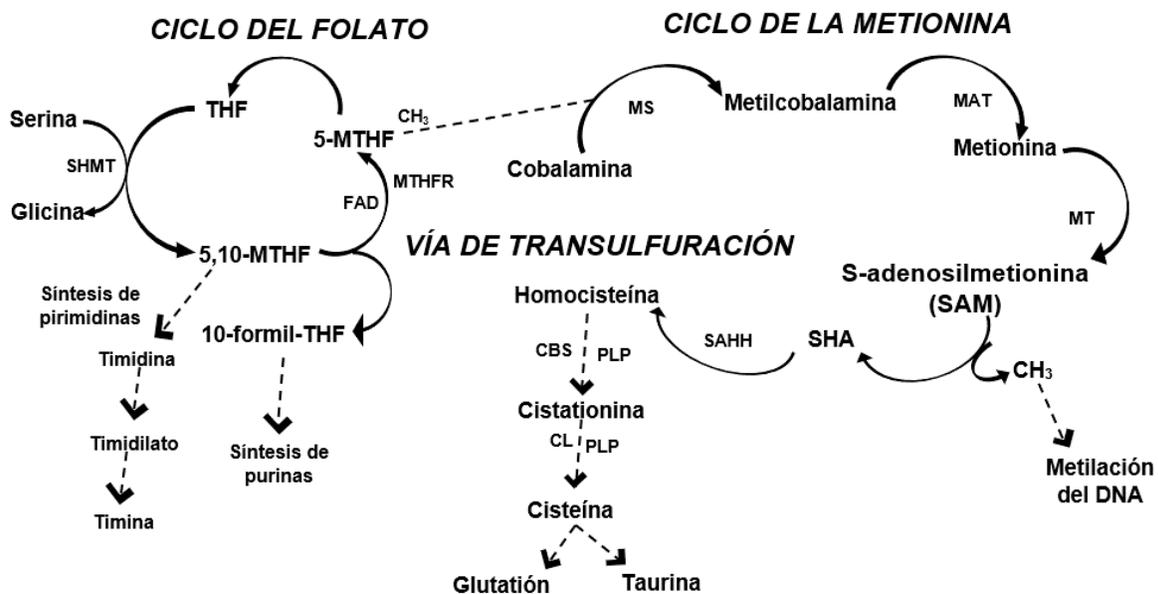


Figura 2. Representación esquemática de las rutas metabólicas para la síntesis de S-adenosilmetionina.

THF, tetrahydrofolato; SHMT, serina hidroximetiltransferasa; 5,10-MTHF, 5,10-metilen tetrahydrofolato; 10-formil-THF, 10-formil tetrahydrofolato; FAD, flavina adenina dinucleótido; MTHFR, metilentetrahydrofolato reductasa; 5-MTHF, 5-metil

tetrahidrofolato; CH₃, grupo metilo; MS, metionina sintasa; MAT, metionina adenosiltransferasa; MT, metiltransferasa; SAM, S-adenosilmetionina; SHA, S-adenosilhomocisteína; SAHH, S-adenosilhomocisteína hidrolasa; CBS, cistationina β-sintasa; CL, cistationina γ-liasa; PLP, piridoxal-5´-fosfato.

Fuente: Elaboración propia con base en artículo de Ganguly P, Alam SF. *Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease*^[46].

El ciclo del folato comienza con la reducción del mismo a tetrahidrofolato (THF), el cual recibe un grupo metilo de la serina por acción de la serina hidroximetil transferasa dando lugar al 5,10-metilen tetrahidrofolato y al aminoácido glicina, este sustrato 5,10-metilen tetrahidrofolato es requerido para la síntesis del nucleósido timidina y el nucleótido timidilato, los cuales son necesarios para la síntesis de pirimidinas como por ejemplo la base nitrogenada timina, mientras que su forma reducida a 10-formil tetrahidrofolato es utilizada para la síntesis de purinas. La conversión del 5,10-metilentetrahidrofolato a 5-metil tetrahidrofolato es catalizada por la enzima metilentetrahidrofolato reductasa (MTHFR) que requiere riboflavina como cofactor. El 5-metil tetrahidrofolato es la forma metabólicamente activa a nivel celular del ácido fólico, también constituye la forma predominante del mismo en el plasma sanguíneo y funciona como donante del grupo metilo en la conversión de homocisteína a metionina. En el ciclo de la metionina, el 5-metil tetrahidrofolato dona su grupo metilo a la cobalamina en una reacción catalizada por la enzima metionina adenosiltransferasa (MAT), transformándola en metilcobalamina, el cual es el donante directo del grupo metilo a la homocisteína convirtiéndose así en metionina^[46]. La metionina se convierte en S-adenosilmetionina (SAM) el principal donante de metilo intracelular. La metionina pasó por un proceso de adenosilación y condensación con ATP transformándose en SAM, el cual puede transferir el grupo de metilo que está unido al azufre terciario del sustrato a otras sustancias participando en más de 115 reacciones de transferencia de metilos. Después de donar grupos metilo en diferentes reacciones el producto residual de SAM es la S-adenosilhomocisteína (SAH) el cual es hidrolizado en homocisteína. La homocisteína puede incorporarse nuevamente en un proceso de remetilación a

metionina o continuar con la vía de transulfuración. En el caso de remetilación el ciclo de la metionina vuelve a repetirse, donde se obtiene metionina que puede ser convertida de nuevo en SAM y a su vez, tetrahidrofolato el cual puede incorporarse nuevamente al ciclo del folato ^[50]. Por otro lado, la vía de transulfuración es la ruta catabólica de la homocisteína y permite la síntesis del aminoácido cisteína, tiene lugar en células del hígado, riñones, páncreas e intestino delgado debido a la actividad tejido-específica de las enzimas cistationina β -sintasa y cistationina γ -liasa. Consiste en dos reacciones que transforman la homocisteína en cistationina por acción de la enzima cistationina β -sintasa dependiente del piridoxal-5'-fosfato (PLP) que es la forma activa de la vitamina piridoxina. Consecutivamente, la cistationina se convierte en cisteína por la cistationina γ -liasa. Finalmente, la cisteína es utilizada para la síntesis de proteínas o es metabolizada en glutatión o taurina ^[46]. (Figura 2).

La ingesta dietética de metionina puede regular ambas rutas metabólicas: en condiciones de déficit de metionina se eleva el ciclo de remetilación para compensar los niveles de este aminoácido; en caso contrario, altos niveles de metionina y por consiguiente de SAM, inhibe la remetilación y promueve la transulfuración para reducir la homocisteína a niveles basales ^[51]. Cabe mencionar que existe una condición disfuncional que ocurre en el ciclo de la metionina conocida como la “trampa del folato”, está acontece cuando existe una deficiencia de vitamina B12 aún con una ingesta dietética adecuada de folato, provocando la disminución de la actividad enzimática de la metionina sintasa, resultando en la acumulación de 5-metiltetrahidrofolato por bloqueo de su transformación en tetrahidrofolato y ocasionando hiperhomocisteinemia. La manifestación clínica de la “trampa del folato” es la anemia megaloblástica, ya que al no haber suficiente tetrahidrofolato inhibe la síntesis del DNA en la hematopoyesis, por lo que los glóbulos rojos durante su división celular no pueden pasar de la fase G2 del ciclo celular a la fase de mitosis, consecuentemente las células se mantienen en la fase de crecimiento resultando en células anormalmente grandes e inmaduras, presentándose macrocitosis ^[52].

Por otro lado, el estado de hiperhomocisteinemia es una condición patológica en la que se presentan niveles excesivos de homocisteína sérica, mismo que se ha aceptado ampliamente como un factor de riesgo cardiovascular independiente ^[51]. La hiperhomocisteinemia se ha asociado con defectos de tubo neural, abortos repetitivos, preeclampsia, incremento del riesgo de trisomía 21 ^[53], restricción de crecimiento intrauterino ^[54], aterosclerosis, infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, estrés oxidante, incremento de coagulación sanguínea, incremento de síntesis de colesterol, disfunción endotelial y exacerbación del riesgo de mortalidad por enfermedades cardiovasculares en personas con hipertensión e insuficiencia renal crónica ^[55]. El sistema cardiovascular es altamente susceptible a la toxicidad de la homocisteína porque tanto las células miocárdicas como vasculares son deficientes de la enzima cistationina β -sintasa, por lo tanto, en caso de presentar elevadas concentraciones de homocisteína, las células son incapaces de eliminar el excedente y están limitadas a la vía de remetilación a metionina generando SAM pudiendo provocar alteraciones en la metilación del DNA ^[51]. La hiperhomocisteinemia también se ha relacionado con la diabetes mellitus tipo 2 por disfunción de células β pancreáticas, resistencia a la insulina por su participación en el estrés oxidante y alteración de la metilación del DNA ^[56].

1.9.3 .1 Folato.

El folato es una vitamina hidrosoluble también conocida como vitamina B9, la cual no puede ser sintetizada *de novo* por el cuerpo humano, por lo que debe ser obtenida a partir de la dieta, las principales fuentes alimentarias son: los vegetales de hoja verde, frutas cítricas, semillas, nueces, legumbres como frijoles, lentejas y habas, entre otras. (Anexo 1). En su forma química el grupo de folatos está compuesto por el 5-formil-tetrahidrofolato, 10-formil-tetrahidrofolato, 5-metil-tetrahidrofolato, 5,10-metileno-tetrahidrofolato, y 5,10-metil-tetrahidrofolato, folato de plantas. Los folatos están compuestos químicamente por un anillo de pteridina unido por un puente metileno a un residuo de ácido para-aminobenzoico que a su vez se encuentra unido por un enlace γ -peptídico a un residuo de ácido glutámico (Glu), la diferencia entre los vítameros del folato radica en que el anillo de pteridina puede adoptar varias formas reducidas, y, en el número de residuos de glutamato.

El anillo de pteridina puede sufrir una reducción parcial en la posición 7,8 dihidropteroilglutamato ($H_2PteGlu_n$) o una reducción completa en las posiciones 5, 6, 7 y 8 tetrahydrofolato ($H_4PteGlu_n$ o THF). El tetrahydrofolato puede encontrarse en distintos estados de oxidación, aceptando un átomo de carbono en las posiciones N_5 , N_{10} o ambas las cuales constituyen los sitios activos de la molécula, así las formas más oxidadas son: 5-formiltetrahydrofolato o ácido folínico (5-formil- $H_4PteGlu_n$), 10-formiltetrahydrofolato (10-formil- $H_4PteGlu_n$) y 5,10-meteniltetrahydrofolato (5,10-metenil- $H_4PteGlu_n$), mientras que la forma más reducida es el 5-metil-tetrahydrofolato (5-metil- $H_4PteGlu_n$) haciendo hincapié en este último derivado ya que a diferencia de los demás posee un grupo metilo (CH_3) en el carbono 5 del anillo de pteridina, lo que lo convierte en la forma biológicamente activa de los folatos. El folato de uso farmacéutico es el 5-formil-tetrahydrofolato (5-formil- $H_4PteGlu_n$) conocido como ácido folínico. En los alimentos los folatos se encuentran como poliglutamatos, bien sea en forma de heptaglutamatos en los vegetales o pentaglutamatos en las carnes, la mayoría de ellos se encuentran ligados a proteínas y es mediante la digestión que son convertidos en monoglutamatos para permitir su absorción a nivel intestinal mediante transporte activo, sin embargo, en caso de excedente la absorción ocurre mediante difusión pasiva ^[57]. El 5-metil-tetrahydrofolato es el derivado mayoritario que circula en el plasma sanguíneo, el cual se encuentra unido a la albúmina y a la proteína ligante de folatos. Una vez en el torrente sanguíneo, la distribución de los folatos se dirige hacia tejidos de rápida división celular, principalmente médula ósea o mucosa gastrointestinal, el efecto de la poliglutamilación y la unión a la proteína ligante de folatos facilitan la retención de los folatos en el tejido diana. El folato participa en el metabolismo de un carbono requerido para el metabolismo de aminoácidos participando en la interconversión de serina-glicina, en el catabolismo de histidina, síntesis de purinas y pirimidinas precursores de los ácidos nucleicos, timidilato, metionina, pantotenato, formil-metionil-tRNA y en el proceso de metilación de DNA e histonas ^[58]. El almacenamiento de los folatos en el organismo ocurre principalmente en el hígado y en el cerebro, sustancialmente ocurre en forma química de pentaglutamatos cuya reserva total en el organismo abarca un rango

entre 5 a 10 mg, esta reserva es suficiente para cubrir el requerimiento de esta vitamina durante 4 meses [57].

La ingestión diaria sugerida (IDS) de ácido fólico para los niños y adolescentes de ambos sexos con edades comprendidas entre 9 a 13 años es de 360 µg/día y el límite superior de consumo (LSC) corresponde a 600 µg/día de ácido fólico. Por otro lado, la IDS de ácido fólico para los adolescentes de ambos sexos de 14 a 18 años es de 390 µg/día y el LSC para este grupo de edad es de 800 µg/día [59].

1.9.3.2 Metilación y enfermedades crónicas no transmisibles.

Los factores dietéticos tienen gran importancia en la prevención y desarrollo de las enfermedades crónicas no transmisibles, todos los mecanismos mediante los cuales ejerce su acción no han sido dilucidados por completo, sin embargo, un mecanismo por el cual la dieta previene o promueve el desarrollo de este tipo de enfermedades es la metilación del DNA. Recientemente, se ha descrito que la metilación del DNA puede estar implicada en el desarrollo de la obesidad, ya que las dietas ricas en grasa y azúcares simples están asociadas con cambios en los patrones de metilación del DNA de la región promotora de distintos genes implicados en la homeostasis energética del hígado.

Por otro lado, la pérdida de peso y la restricción energética también han sido implicadas en cambios de los patrones de metilación, sobre todo de regiones genómicas del tejido adiposo subcutáneo abdominal. También se han identificado marcas epigenéticas que son utilizadas como biomarcadores epigenéticos predictores del mantenimiento del peso corporal después de la pérdida de peso.

Además, se ha reportado que algunos genes que sufren modificaciones en la metilación de las islas CpGs en la región promotora participan en procesos metabólicos tales como adipogénesis, metabolismo energético, lipogénesis, regulación del apetito y señalización insulínica [46].

1.9.3.3 Alteraciones epigenéticas y diabetes mellitus tipo 2.

La alteración de los mecanismos epigenéticos puede incrementar el riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2. Dentro del proceso fisiopatológico de diabetes mellitus tipo 2 el cual se caracteriza por un fallo en la función de las células β del páncreas debido a resistencia a la insulina, recientemente se ha evidenciado que

este fallo puede ser ocasionado por el grado de metilación de sitios CpG del músculo esquelético, tejido adiposo subcutáneo e islotes pancreáticos [60]. Un ejemplo de esta interacción epigenética es la siguiente, la desnutrición materna durante el embarazo puede modificar las marcas epigenéticas en el DNA del hijo lo que se traduce en un mayor riesgo para el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 [29].

1.9.4. Metilación de genes biomarcadores de riesgo de diabetes mellitus tipo 2.

Entre los genes en los que se ha observado una asociación entre la modificación de los patrones de metilación del DNA y el incremento del riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2 por su importante participación en la vía de señalización de insulina y que son de especial interés para este proyecto se encuentran los siguientes:

1.9.4.1 Gen de la insulina (*INS*).

Se ha reportado que la glucotoxicidad ocasiona metilación del DNA en las células β pancreáticas lo cual conduce a la disminución irreversible de los niveles de mRNA de la insulina y a la disminución de la expresión genética del gen de la insulina. Los hallazgos de un estudio en ratones mostraron que la exposición prolongada a niveles altos de glucosa de las células β pancreáticas aumenta la metilación del DNA del sitio CpG del gen promotor *INS1* [61]. En una investigación realizada en humanos diabéticos y no diabéticos se analizó la metilación del DNA en 25 sitios CpG del promotor del gen de insulina mostrando una metilación del DNA aumentada en diabéticos tipo 2, adicionalmente se observó que la exposición a la hiperglucemia durante 72 horas aumentó la metilación del DNA del promotor de insulina en células beta pancreáticas de ratones [62].

1.9.4.2 Gen Sustrato del receptor de insulina 1 (*IRS1*).

Se ha sugerido el *IRS1* como gen candidato para la susceptibilidad de DMT2, por su papel en las vías de señalización de la insulina y su expresión en adipocitos y músculo esquelético [63]. Se realizó un estudio que observó una asociación entre la metilación del DNA del gen *IRS1* en tejido adiposo de humanos sanos y el IMC. La alta metilación de los sitios CpG del gen *IRS1* se ha visto implicado en la patogénesis de la DMT2 [64].

1.9.4.3 Gen Transportador de glucosa tipo 4 (*GLUT4*).

El transportador de glucosa *GLUT 4* participa en el metabolismo de hidratos de carbono en células adiposas, músculo esqueléticas y del corazón, por lo cual juega un papel importante en la sensibilidad a la insulina. En estudios en animales se ha observado que la dieta materna baja en proteínas causa la desmetilación de la región promotora del *GLUT4* tanto en la madre como en su descendencia, incrementando el riesgo de diabetes mellitus tipo 2 en la vida adulta. Asimismo, se observó mayor contenido de glucógeno en la descendencia femenina no así en la masculina lo que sugiere una adaptación del metabolismo de glucosa dependiente del sexo a una dieta hipoproteica [65]. Estudios en ratones mostraron que la baja expresión génica de *GLUT4* conduce a una disminución de la sensibilidad a la insulina, mientras que la sobreexpresión de *GLUT4* en ratones resistentes a la insulina restaura esta sensibilidad. La desmetilación de este gen puede ser importante para la expresión de *GLUT4* durante la adipogénesis [66]. Por otro lado, un estudio realizado en mujeres y hombres polinesios con obesidad mórbida (44 kg/m²) se observó que la resistencia a la insulina causó la hipometilación del promotor *GLUT4*, probablemente debido a que un estilo sedentario en personas con DTM2 u obesidad contribuye a la fisiopatología del músculo esquelético provocando estrés oxidante incrementa triglicéridos intramusculares, metabolitos lipídicos y resistencia a la insulina, lo cual inhibe la transducción de la señal de insulina a través de la vía fosfatidilinositol-3 quinasa (PI3K) que desencadena la translocación del *GLUT4* [67].

La determinación del estado nutricional tiene una estrecha relación con el estado de salud por lo que resulta de suma importancia contar con herramientas que permitan al profesional de la nutriología identificar oportunamente a los sujetos o a las poblaciones que no sólo presenten un estado de nutrición alterado, sino que identifique a las personas que se encuentren en riesgo [68].

2. JUSTIFICACIÓN

El perfil de salud de Morelos exhibe una clara tendencia hacia las enfermedades crónicas no transmisibles, especialmente la diabetes mellitus tipo 2. La DMT2 es el resultado de la interacción de múltiples factores de riesgo de índole genética, epigenética, ambiental y de estilo de vida, que tiene como principal regulador la interacción nutriente-gen. Los factores nutricionales son importantes en la patogénesis de la DMT2 porque modulan la expresión de genes implicados en las vías metabólicas relacionadas, en la protección de células β contra la glucolipototoxicidad, en la inflamación y el estrés oxidante todo ello regulado mediante modificaciones epigenéticas a lo largo de la vida, lo cual puede definir un riesgo individual de la DMT2. Específicamente, se puede dar pie a un riesgo epigenético indicado por la modificación de los patrones de metilación de genes clave que pueden aumentar el riesgo para desarrollar DMT2.

De acuerdo con los pronósticos de salud a corto plazo, la incidencia y la mortalidad de dicha enfermedad aumentarán debido a la mayor exposición de los factores de riesgo de los niños y adolescentes, por lo que es de suma importancia realizar estudios en los que se determine el riesgo epigenético de una población para desarrollar diabetes mellitus tipo 2 de acuerdo a sus características tanto genéticas como nutricionales, para poder así acercarnos a un cribado personalizado de este padecimiento y brindar información a considerar en las acciones futuras de prevención mediante el diagnóstico precoz y el tratamiento oportuno de esta enfermedad, por tanto, considerar a la epigenética en las acciones de prevención, de desarrollo y en el tratamiento de la DMT2. En el presente estudio se pretende determinar el riesgo epigenético de una muestra de adolescentes de Huitzilac mediante la detección de los patrones de metilación del DNA de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 de los genes biomarcadores *INS*, *IRS1*, *GLUT4* y su relación con los indicadores nutricionales. Se realizó una colaboración con la Facultad de Enfermería, Facultad de Farmacia y se pidió el consentimiento de las autoridades de la secundaria técnica #16 de Huitzilac para participar en la “Valoración de la salud en adolescentes estudiantes de secundaria en Huitzilac, Morelos” con el fin de analizar el aspecto epigenético de esta evaluación.

3. HIPÓTESIS

Existe una relación entre los patrones de metilación de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 de los genes biomarcadores *INS*, *IRS1*, *GLUT4* y los indicadores nutricionales en una muestra de adolescentes de Huitzilac, Morelos.

4. OBJETIVOS.

4.1 Objetivo general.

Determinar los patrones de metilación de los genes biomarcadores *INS*, *IRS1*, *GLUT4* y su relación con los indicadores nutricionales de una muestra de adolescentes de la secundaria técnica # 16 de Huitzilac, Morelos.

4.2 Objetivos específicos.

- I. Determinar las variables sociodemográficas, antropométricas, bioquímicas, clínicas y dietéticas de los adolescentes incluidos en el estudio.
- II. Determinar los patrones de metilación de los genes *INS*, *IRS1* y *GLUT4* de los adolescentes participantes.
- III. Establecer si existe una relación entre los patrones de metilación de los genes *INS*, *IRS1*, *GLUT4* y los indicadores nutricionales de la muestra de adolescentes de estudio.

5. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

5.1 Diseño de estudio.

El presente proyecto es un estudio transversal analítico, el cual forma parte del proyecto “Valoración de la salud integral de los estudiantes inscritos de la secundaria técnica #16 de Huitzilac, Morelos” en el que participaron la Facultad de Enfermería, la Facultad de Farmacia y la Facultad de Nutrición de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

En el proyecto “Valoración de la salud integral de los estudiantes inscritos de la secundaria técnica #16 de Huitzilac, Morelos” se realizó una evaluación de la salud de los adolescentes participantes y se efectuaron 2 encuestas con el fin de identificar padecimientos, estilos de vida y factores de riesgo de las enfermedades crónico no transmisibles (diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial, sobrepeso y obesidad). Con base en la información seleccionada perteneciente al proyecto “Valoración de la salud integral de los estudiantes inscritos de la secundaria técnica #16 de Huitzilac, Morelos” el enfoque de la presente tesis es el riesgo epigenético de la diabetes mellitus tipo 2 de una muestra de adolescentes de Huitzilac, Morelos.

5.2 Universo de trabajo y muestra

La población de estudio estuvo conformada por estudiantes de ambos sexos con un período de edad comprendido entre 12 y 16 años, inscritos en la secundaria técnica # 16 de Huitzilac del estado de Morelos. Inicialmente se invitó a participar a toda la población estudiantil compuesta por aproximadamente 235 estudiantes, de los cuales 188 adolescentes aceptaron participar y contaron con el consentimiento firmado por escrito sus padres o tutores. Sin embargo, se excluyeron 36 estudiantes de ellos debido a su negativa a la donación de una muestra sanguínea por duplicado. Por lo tanto, la población de estudio se redujo a 152 estudiantes a los cuales se aplicaron mediciones antropométricas y el efectuó el índice de masa corporal de acuerdo con la edad (IMCE). La selección de la muestra fue realizada con base en los resultados de este índice, se observó que la mayoría de los estudiantes se encontraron en condiciones de normalidad, no obstante, el 27.6% fue clasificado con sobrepeso, seguido por el 7.2% ubicado en el nivel de obesidad y por el 6.6% de la población estudiantil que presentó desnutrición. (Tabla 3).

Tabla 3. Composición corporal según índice de masa corporal de acuerdo con la edad (IMCE) y sexo de la población estudiantil participante de la secundaria técnica # 16 de Huitzilac.

Clasificación del IMCE	Total n=152 (100%)	Hombres n=75 (49.3%)	Mujeres n=77 (50.7%)	Valor <i>p</i> de la e
Normalidad	89 (58.6)	39 (25.7)	50 (32.9)	0.106
Desnutrición	10 (6.6)	7 (4.6)	3 (2.0)	0.176
Sobrepeso	42 (27.6)	24 (15.8)	18 (11.8)	0.235
Obesidad	11 (7.2)	5(3.3)	6(3.9)	0.789

Prueba exacta de Fisher.

Debido a que a la muestra de estudio seleccionada se aplicaría pareamiento por las variables sexo, edad y las cuatro categorías del IMCE (desnutrición, normalidad, sobrepeso y obesidad), se observó el menor número de individuos que constituyen cada categoría del IMCE, siendo el grupo de desnutrición el más pequeño donde se hallaron solamente 10 individuos. Por lo tanto, con base en este número de estudiantes se parearon las otras tres categorías del IMCE considerando el sexo y la edad, haciendo un total de 40 adolescentes elegibles tanto para la valoración nutricional como el análisis epigenético. (Figura 3).

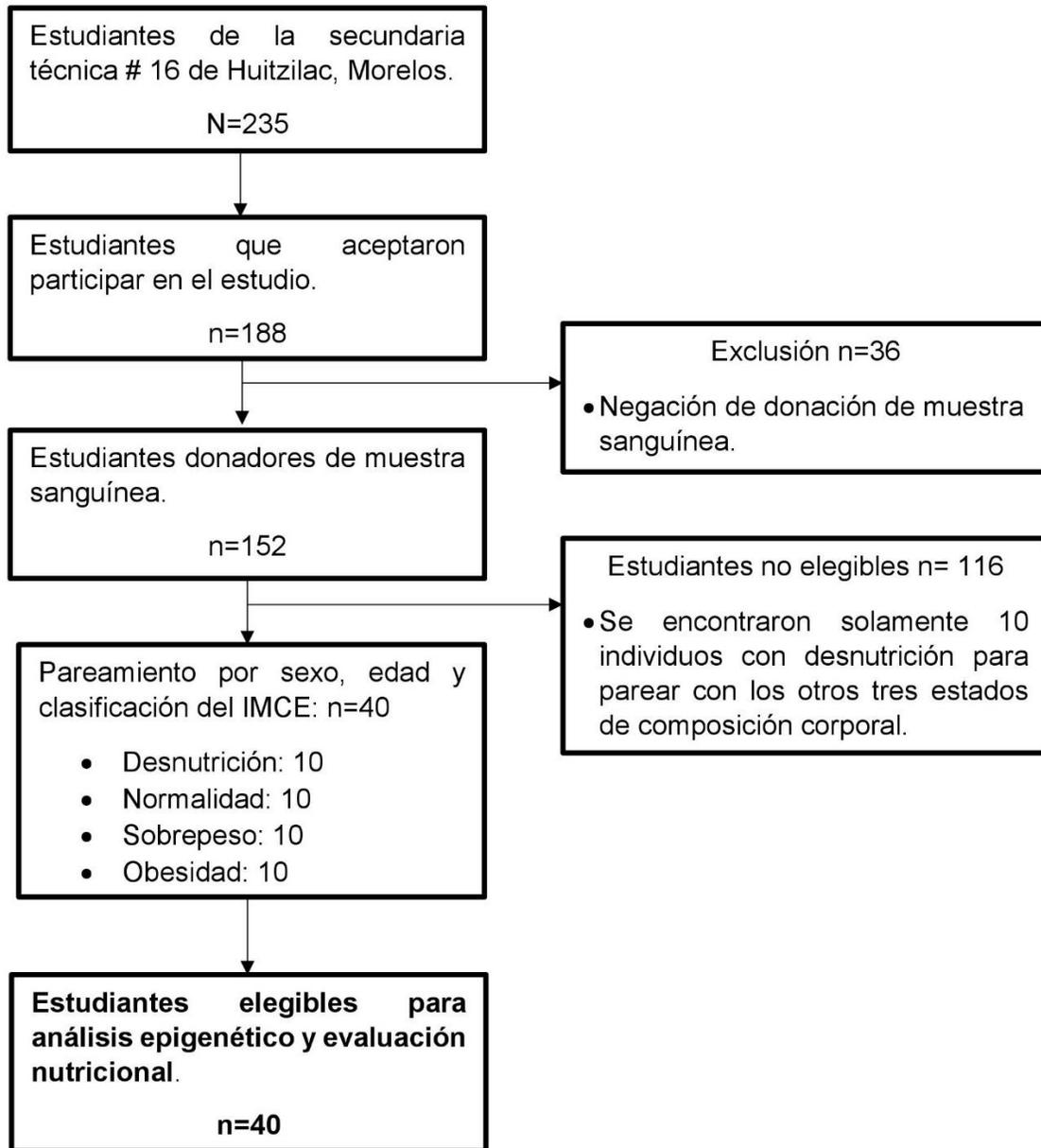


Figura 3. Esquema de la selección de muestra de estudio.

La muestra de estudio está compuesta por 28 hombres y 12 mujeres, la media de edad corresponde a 14 ± 0.9 años y 13 ± 1 años respectivamente. Considerando solo la media del peso de ambos grupos, la cual corresponde a 58.15 kg en el grupo de hombres y 53.19 kg en el grupo de mujeres, se encuentran dentro de la normalidad para la media de la edad y la media de la talla. (Tabla 4).

Tabla 4. Características de los sujetos que componen la muestra de estudio.

Sexo	Frecuencia n	Edad (años) Media ± SD	Peso (kg) Media ± SD	Talla (m) Media ± SD
Hombre	28	14 ±0.90	58.15 ±12.52	1.64 ±0.76
Mujer	12	13 ±1.0	53.19 ±15.93	1.56 ±0.63

5.3 Encuestas y cuestionarios.

Se aplicaron dos encuestas elaboradas y evaluadas por un grupo de expertos, las cuales se han aplicado durante 3 años consecutivos en la secundaria técnica # 16 de Huitzilac, tiempo durante el cual sujetos parecidos a nuestra población de estudio han aportado retroalimentación sobre las preguntas formuladas para poder describir de manera más certera el estilo de vida e identificar los principales problemas de salud que afectan a la población estudiantil de Huitzilac. La primera encuesta estuvo compuesta por 28 preguntas sobre percepción corporal, ginecología, presión arterial, condiciones de la muestra sanguínea, actividad física, antropometría y consumo de líquidos. La segunda encuesta consistió en 123 preguntas de opción múltiple distribuidas en siete apartados: datos sociodemográficos, sexualidad, métodos anticonceptivos, embarazo, consumo de tabaco, consumo de alcohol, alimentación, actividad física y antecedentes patológicos familiares. El apartado de alimentación es de especial interés para este proyecto, el cual incluye un cuestionario semicuantitativo de frecuencia de consumo mensual de los alimentos y bebidas disponibles en Huitzilac. El cuestionario comprende 28 preguntas sobre la frecuencia de consumo de alimentos y bebidas con 4 opciones de respuesta a escoger: “Nunca”, “Al menos una vez al mes”, “Al menos una vez a la semana” y “Diariamente”. Este cuestionario fue acotado en el número de alimentos y bebidas a preguntar por fines de practicidad, para la fácil y rápida respuesta de los adolescentes. La frecuencia de consumo de alimentos está basada en la clasificación de alimentos del Sistema Mexicano de Alimentos Equivalentes ^[69].

5.4 Desarrollo del proyecto

El periodo de levantamiento de la información fue de abril a junio del 2016. Previamente se realizaron reuniones informativas con la dirección de la escuela y los padres de familia de los adolescentes inscritos en la secundaria técnica #16 de Huitzilac. Se obtuvo la autorización de la dirección de la escuela para realizar dicho proyecto y los padres o tutores legales de los adolescentes que estuvieron de acuerdo en permitir la participación de su hijo/hija firmaron los consentimientos informados (Anexo 2). Cabe mencionar que no se incluyeron a los estudiantes que no accedieron a donar una muestra sanguínea, que se negaron a la toma de mediciones antropométricas o no desearon participar en el proyecto en general independientemente de la autorización dada por sus padres o tutor legal, respetando así su libre decisión y sus derechos.

Primeramente, los estudiantes de enfermería y de nutrición fuimos instruidos sobre la correcta medición de la antropometría establecida con el propósito de estandarizar las técnicas de medición antropométrica. Posteriormente, la primera acción a realizar con los adolescentes participantes fue la medición de la presión arterial para evitar sesgos en la misma, ya que los adolescentes podrían asustarse al momento de la extracción de la muestra sanguínea alterando así los valores de la presión arterial. Los estudiantes de enfermería midieron la presión arterial de los adolescentes participantes con un baumanómetro manual marca Welch Allyn. Enseguida, los estudiantes de enfermería y de nutrición realizamos la toma de las siguientes mediciones antropométricas:

- Talla: utilizando un estadiómetro de pared (Marca SECA ADE), el cual fue colocado en una pared lisa sin bordes.
- Peso: se utilizó una báscula digital electrónica (Marca Omron Modelo HBF-4001INT, USA), (rango 0.1-150 kg) de 100 gramos de precisión.
- Perímetro de cintura: mediante una cinta métrica (Marca SECA Modelo 201) (rango 0-205 cm) de 1 milímetro de precisión.

Después, la extracción de una muestra sanguínea de los adolescentes participantes fue realizada por algunos estudiantes de enfermería y nutrición. Cabe mencionar que los estudiantes participantes fueron citados en condiciones de ayuno de 8 horas

previo a la donación de una muestra sanguínea. Se extrajeron 5 mL de sangre por punción venosa por duplicado recolectadas en dos tubos S-Monovette, Sarstedt, una muestra fue entregada a la Facultad de Farmacia para la realización de la biometría hemática y la otra muestra fue entregada a la Facultad de Nutrición para llevar a cabo la extracción del DNA. Finalmente, los adolescentes contestaron las encuestas concluyendo así su participación en el proyecto.

Se obtuvieron 149 muestras sanguíneas viables para el examen bioquímico: la biometría hemática. Los resultados de esta prueba bioquímica fueron interpretados por un médico especialista. Cabe mencionar que 12 adolescentes recibieron un diagnóstico negativo de este examen, por ello fueron contactados por intermediario escolar, quién les dio a conocer su diagnóstico médico y les entregó el plan de alimentación que elaboré acorde a sus características personales.

En cuanto a la evaluación de las mediciones antropométricas, los datos de la talla fueron comparados con las tablas de talla para la edad por puntaje Z de la OMS del 2007 ^[71], la interpretación se realizó obedeciendo los lineamientos establecidos por la OMS en 2008 ^[72], en donde se indica una talla normal si el valor de la misma se encuentra entre +3 a -2 desviaciones estándar (SD), se considera una talla muy alta si el valor se ubica a $>+3$ SD, se indica talla baja si la medición es <-2 SD y se determina talla baja severa si el valor se encuentra a <-3 SD. Los datos del perímetro de cintura se compararon con las tablas percentilares del perímetro de cintura de acuerdo con la edad, los resultados mayores al percentil 90 indican riesgo cardiovascular ^[73]. Con base en las mediciones de la talla y el peso se determinaron el índice de masa corporal de acuerdo con la edad (IMCE) por fórmula de Quetelet y el índice cintura-talla (PcT) por fórmula de Maffeis y cols ^[74]. Los resultados del IMCE fueron interpretados según los lineamientos de la NORMA Oficial Mexicana NOM-047-SSA2-2015, Para la atención a la salud del Grupo Etario de 10 a 19 años de edad ^[75], donde se establece desnutrición si el valor del IMCE es menor a -2 SD, sobrepeso si el IMCE es mayor a +1 SD y obesidad cuando el IMCE es mayor a +2 SD. El riesgo cardiometabólico y la obesidad central fueron determinado por los puntos de corte del PcT de Maffeis y colaboradores del 2008 ^[74].

De acuerdo con los resultados de la biometría hemática se efectuó el recuento total de linfocitos en sangre, indicador inmunológico útil en la valoración de depleción muscular, los puntos de corte son:

- Depleción leve si su valor se ubica entre 1,200 a 2,000 mm³.
- Depleción moderada entre 800 a 1 200 mm³.
- Depleción severa si el valor es menor a 800 mm³^[76].

Por otro lado, los valores de la presión arterial fueron comparados con las tablas percentilares de la US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute, National High Blood Pressure Education Program, 2005. Sin embargo, debido a que la medición de la presión arterial fue medida una sola vez, no se puede establecer un diagnóstico de hipertensión, pero se puede señalar el riesgo de prehipertensión arterial si la medición es igual o mayor a 120/80 mmHg^[77].

Respecto al apartado dietético de la encuesta, se revisaron los resultados de las preguntas sobre frecuencia de consumo de alimentos de los grupos: verduras y frutas, cereales, leguminosas, alimentos de origen animal, lácteos, azúcares, ingesta de alcohol, ingesta de agua al día y consumo de refresco en el día anterior a la aplicación de la encuesta. También se calculó el consumo de azúcar en gramos proveniente de las raciones de refresco consumidas el día anterior utilizando el sistema mexicano de alimentos equivalentes^[69], y el resultado se comparó con la recomendación de azúcares libres establecida por la OMS^[78], la cual sugiere que el consumo debe limitarse al 10% de la ingesta calórica total, esto representa aproximadamente 50 g de azúcar.

Por otra parte, a causa del enfoque de la presente tesis se seleccionaron las variables sociodemográficas, antropométricas, bioquímicas, clínicas y dietéticas a utilizar.

5.4.1 Variables sociodemográficas de estudio.

Las variables sociodemográficas seleccionadas fueron aquéllas que permiten describir la población de estudio y las variables que han sido reportadas como factores de riesgo de diabetes mellitus tipo 2: edad, sexo, grado escolar, forma de nacimiento, alimentación de primera infancia, antecedentes familiares de diabetes

mellitus tipo 2, de obesidad, de hipertensión arterial, de cardiopatías, padres que fuman en presencia del adolescente, adolescentes que fuman y los días que fumaron en los últimos 30 días. Asimismo, se tuvo en cuenta las preguntas sobre la realización, tipo, frecuencia y duración de actividad física. De acuerdo con la recomendación de actividad física para individuos de 5 a 17 años de la OMS, se clasificó como individuos físicamente activos a los sujetos que realizaron actividad física por lo menos 3 días de la semana o más, con una duración de la actividad física igual o mayor a una hora ^[70].

5.4.2 Indicadores nutricionales de estudio.

Conocer si el individuo se encuentra en condiciones óptimas de salud requiere de una evaluación integral mediante una serie de métodos llamados ABCD para su valoración, es decir, a través de indicadores antropométricos, bioquímicos, clínicos y dietéticos ^[79]. Los indicadores nutricionales obtenidos de los adolescentes participantes en este estudio son:

- Indicadores antropométricos: talla de acuerdo con la edad, perímetro de cintura de acuerdo con la edad, índice de masa corporal de acuerdo con la edad e índice cintura-talla.
- Indicadores bioquímicos: referentes a la biometría hemática, hemoglobina, hematocrito, recuento de glóbulos rojos, volumen corpuscular medio, cantidad de hemoglobina por glóbulo rojo, concentración de hemoglobina corpuscular media, leucocitos, porcentaje de neutrófilos, porcentaje de linfocitos, porcentaje de monocitos y recuento total de linfocitos en sangre.
- Indicadores clínicos: presión arterial.
- Indicadores dietéticos: frecuencia de consumo de alimentos y bebidas.

5.4.3 Determinación de los patrones de metilación de los genes *INS*, *IRS1* y *GLUT4*.

5.4.3.1 Aislamiento de DNA.

Una muestra sanguínea de aproximadamente 5 mL de cada estudiante participante fue entregada a la Facultad de Nutrición para realizar la extracción del DNA genómico de leucocitos de sangre periférica usando el procedimiento estándar de separación por salinización de Lahiri And Nurnberger, 1991 ^[80]. Este método

consiste en aislar y purificar el DNA basándose en las características fisicoquímicas de la molécula. Una vez extraído el DNA, se realizó electroforesis de gel de agarosa con objeto de comprobar su integridad y se prosiguió con la cuantificación de ácidos nucleicos por espectrofotometría.

5.4.3.2 Electroforesis de gel de agarosa.

Se realizó la electroforesis de gel de agarosa para observar la integridad del DNA obtenido. La electroforesis de gel de agarosa es de las técnicas más utilizadas para analizar y caracterizar ácidos nucleicos de distintas procedencias. Dicho método consiste en la migración de una partícula debido a su tamaño y a la influencia de un campo eléctrico, por ejemplo, los ácidos nucleicos poseen iones, tienen carga negativa debido a sus grupos fosfato, por lo tanto, migrarán hacia el polo positivo, es decir, el ánodo, cuando se aplique un voltaje a través de los electrodos. Así, las moléculas de DNA de diferente tamaño van a emigrar distintas distancias en una electroforesis de gel de agarosa, permitiendo conocer el tamaño aproximado del fragmento de DNA en estudio, una vez que se haya aplicado previamente un marcador de peso molecular con el que las bandas formadas puedan ser comparadas. Por otro lado, los geles se comportan como un tamiz molecular y permiten separar moléculas cargadas en función de su tamaño y forma. Una ventaja que posee la agarosa sobre la acrilamida es que permite el análisis de ácidos nucleicos con pesos moleculares muy variados. En este caso en particular, a los geles de agarosa, se le añade bromuro de etidio, sustancia que se intercala entre las bases del DNA y emite fluorescencia cuando se ilumina con luz ultravioleta, consecuentemente se visualizará en el gel bandas correspondientes a las muestras de DNA aplicado y al marcador de peso molecular. Debemos interpretar como DNA integró, una banda estrecha a la altura de la banda del marcador con el peso molecular de interés. Si está fragmentado se observará una banda de más de un cm de ancho o un sendero luminoso en el carril de muestra. El DNA fragmentado dificulta la amplificación de secuencias de alto peso molecular y afecta la reproducibilidad de las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos. La mayoría de las muestras de DNA tuvieron una integridad adecuada, lo que aumenta la probabilidad de que en estas cadenas de DNA se encuentren las secuencias de los

genes de interés, por ende, los oligonucleótidos diseñados puedan amplificar estas secuencias.

5.4.3.3 Espectrofotometría por Nanodrop.

Las muestras de DNA fueron cuantificadas por espectrofotometría UV mediante NanoDrop 2000c Thermo Scientific para determinar la concentración de DNA y las impurezas proteicas. Esta técnica nos permite confirmar que contamos con cantidad suficiente de ácidos nucleicos (DNA) de calidad adecuada antes de llevar a cabo ensayos de MSPCR. El fundamento de este método se basa en la ley de Beer-Lambert que indica que la concentración de molecular de una solución puede ser calculada según la longitud de onda de luz absorbida por las moléculas disueltas. El DNA absorbe la luz ultravioleta a 260 nm esto permite estimar su concentración en nanogramos/microlitro (ng/ μ L) mediante la espectrofotometría utilizando el espectrofotómetro Nanodrop 2000c el cual utiliza un software asociado al equipo que permite la medición de la concentración, pureza y contaminación del DNA por proteínas. La concentración de ácidos nucleicos se realiza a 260 nm, la concentración de proteínas a 280 nm, la estimación de la pureza de DNA se realiza usando la proporción de la absorbancia a 260/280 nm donde la proporción de 1.8 es aceptada como DNA puro, valores menores indican presencia de proteínas. Asimismo, después del tratamiento con bisulfito de sodio, se realiza una segunda valoración de la pureza de DNA usando la relación 260/230, los resultados aceptados son valores mayores de 1.8, los valores menores a esta cifra indica la presencia de contaminantes bien sea carbohidratos o fenol ^[81]. En general, nuestras muestras de DNA son de calidad adecuada y se encuentran en cantidad suficiente.

5.4.3.4 Tratamiento de DNA con bisulfito de sodio.

La determinación de los patrones de metilación de los genes biomarcadores de estudio fue realizada en el laboratorio C-242 del Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Una vez que se evaluó el tamaño, la integridad, la concentración y la pureza del DNA de estudio, se continuó con el tratamiento con bisulfito de sodio con el Kit EZ DNA Methylation KIT (ZIMO), el cual se realizó siguiendo el protocolo del fabricante.

Este método es el estándar de oro para el análisis de metilación del DNA y se basa en la conversión química selectiva de las citosinas no metiladas a uracilo en presencia de bisulfito de sodio, mientras que las bases de 5-metilcitosina no cambian permitiendo retener estas marcas en la secuencia del gen. La reacción con bisulfito comprende una etapa de desaminación y una etapa de des-sulfonación que pueden llevarse a cabo por separado o simultáneamente.

5.4.3.5 Methylation-specific PCR (MSPCR)

La determinación de la metilación del promotor de los tres genes se efectuó por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en un termociclador Rapid Cyclor de Idaho Technology. Se realizó una PCR especial, la Methylation-specific PCR (MSPCR) por medio de la cual se puede detectar la metilación del promotor en islas CpG a partir de DNA tratado con bisulfito de sodio. La capacidad de MSPCR para diferenciar la citosina metilada de la no metilada depende del tratamiento con bisulfito de sodio de la secuencia del DNA de interés, que retiene las marcas de metilación de las citocinas para su posterior amplificación mediante PCR utilizando conjuntos de oligonucleótidos complementarios a los alelos anteriormente metilados o no metilados. El DNA tratado con bisulfito de sodio se amplifica con oligonucleótidos o primers específicos para citosinas no metiladas (U-T) y oligonucleótidos específicos para citosinas metiladas (C-G). Gracias a esta distinción de la amplificación por MSPCR, se puede lograr una sensibilidad extraordinaria (típicamente a un nivel de detección del 0.1% de los alelos) mientras se mantiene la especificidad. Los resultados se obtienen inmediatamente después de la amplificación por este tipo de PCR, para ello se corren los productos amplificados mediante la electroforesis de gel de agarosa.

Por lo tanto, fue indispensable diseñar los oligonucleótidos específicos para las secuencias de DNA metiladas y no metiladas de los genes *INS*, *IRS1* y *GLUT4* mediante la base de datos Genome Browser on Human Dec 2013 y el software Methyl Primer Express v1.0 [82]. Las condiciones de la PCR para los tres genes fueron estandarizadas utilizando DNA comercial metilado y no metilado a diferentes temperaturas de elongación, partiendo de las temperaturas sugeridas por el fabricante. Las condiciones del PCR escogidas fueron las que amplificaron la

secuencia del gen con oligonucleótidos metilados y no metilados, obteniendo un fragmento con una longitud aproximada a la especificada según el gen. (Tabla 5). Las secuencias de los genes *INS*, *IRS1* y *GLUT4* fueron verificadas por medio de la secuenciación del fragmento amplificado por PCR, utilizando un secuenciador capilar ABI 310 en el Instituto de Investigaciones Biomédicas. Posteriormente, se corrieron los productos del PCR en un gel de agarosa al 3% a 100 voltios durante 30 minutos, después se expuso con bromuro de etidio durante 15 minutos y se capturó la foto digital del gel. En la figura 4, se muestra un ejemplo de la amplificación de 3 muestras con los primers metilado y no metilado para el gen *GLUT4*.

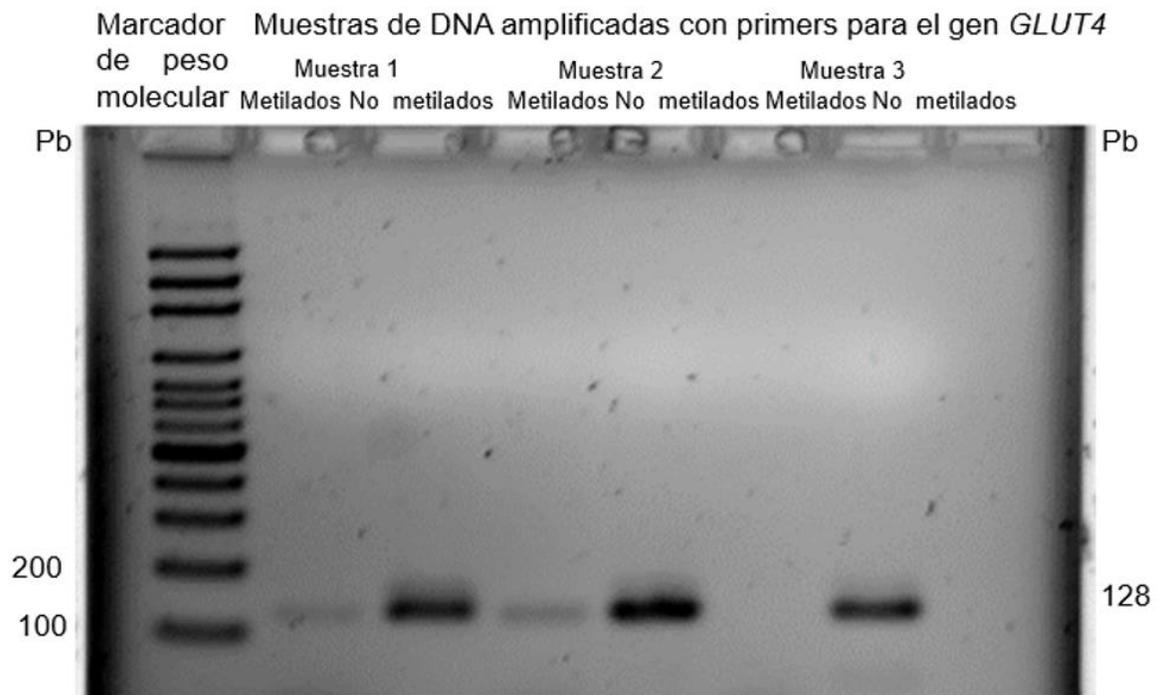


Figura 4 Gel de agarosa con muestras amplificadas por PCR con primers metilados y no metilados para el gen *GLUT4*.

Pb, pares de bases; DNA, ácido desoxirribonucleico; *GLUT4*, Transportador de Glucosa Tipo 4; PCR, Reacción en Cadena de la Polimerasa.

Tabla 5. Secuencias y condiciones de amplificación por PCR de los primers metilados y no metilados de los genes *INS*, *IRS1* y *GLUT4*.

Gen	Primer Secuencia 5'-3'	Longitud pb	Condiciones del PCR	Ciclos
<i>INS</i>	Methylated Forward	126	Inicio: 5 minutos a 95°C Desnaturalización: 30 segundos a 95°C Alineamiento: 30 segundos a 61°C Extensión: 60 segundos a 72°C Elongación final: 5 minutos a 72°C	40
	5'GGAGTTTGGCGTTAGTATAGTAC 3'			
	Methylated Reverse			
	5'CACTATTATTTCTAACCTCGACCG 3'			
	Unmethylated Forward			
	5'GGGGAGTTTGGTGTAGTATAGTAT 3'			
<i>IRS1</i>	Unmethylated Reverse	129	Inicio: 5 minutos a 95°C Desnaturalización: 30 segundos a 95°C Alineamiento: 30 segundos a 61°C Extensión: 60 segundos a 72°C Elongación final: 5 minutos a 72°C	40
	5'CCACTATTATTTCTAACCTCAACCA 3'			
	Methylated Forward			
	5'GAACGTGGTTTCGTAGTAAATC 3'			
	Methylated Reverse			
	5'CACGAACGAAAACCGAAAA 3'			
<i>GLUT4</i>	Unmethylated Forward	128	Inicio: 5 minutos a 95°C Desnaturalización: 30 segundos a 95°C Alineamiento: 30 segundos a 59°C Extensión: 60 segundos a 72°C Elongación final: 5 minutos a 72°C.	40
	5'AAGGAATGTGGTTTTGTAGTAAATT 3'			
	Unmethylated Reverse			
	5'ACCCACAAACAAAACCAAAAA 3'			
	Methylated Forward			
	5' ACGTTATTTTCGGGATTTTC 3'			
<i>GLUT4</i>	Methylated Reverse	128	Inicio: 5 minutos a 95°C Desnaturalización: 30 segundos a 95°C Alineamiento: 30 segundos a 59°C Extensión: 60 segundos a 72°C Elongación final: 5 minutos a 72°C.	40
	5'CGACGACATCTCGTCTTAAAAA 3'			
	Unmethylated Forward			
	5'GTATGTTATTTTGGGATTTTT 3'			
	Unmethylated Reverse			
	5'CCCAACAACATCTCATCTTAAAAA 3'			

Después de obtener las imágenes digitales de los geles de agarosa en que se corrieron los productos del PCR continuamos con la determinación de la intensidad de las bandas mediante el programa IMAGE J, para estimar el porcentaje de metilación de las bandas metilada y no metilada de cada muestra para los tres genes.

Posteriormente, los patrones de metilación (hipometilación, normalidad e hipermetilación) fueron definidos para los tres genes de estudio. Los puntos de corte de los patrones de metilación de los genes de estudio fueron determinados mediante los percentiles de los porcentajes de metilación obtenidos, por lo que son específicos para la población participante, los cuales son definidos de la siguiente manera:

- Patrón normal de metilación: porcentaje de metilación igual o mayor al percentil 25 y menor o igual al percentil 75.
- Patrón de hipometilación: porcentaje de metilación menor al percentil 25.
- Patrón de hipermetilación: porcentaje de metilación mayor al percentil 75.

A continuación, se muestra el porcentaje de metilación de los tres genes de acuerdo con los puntos de corte de los patrones de metilación. (Tablas 6).

Tabla 6. Puntos de corte de los patrones de metilación de los genes *INS*, *IRS1* y *GLUT4* de la muestra de estudio.

Gen	Patrón normal de metilación (%)	Patrón de hipometilación (%)	Patrón de hipermetilación (%)
<i>INS</i>	51-58	<51	>58
<i>IRS1</i>	43.5-49.5	<43.5	>49.5
<i>GLUT4</i>	45.5-51	<45.5	>51

5.5 Diseño del análisis estadístico.

Para el análisis de datos se utilizó el programa Stata versión 14 y para graficar las medias de los porcentajes de metilación de los tres genes según la clasificación del IMCE de la muestra de estudio se empleó el programa R 3.5.0.

Se efectuaron la frecuencia absoluta y frecuencia relativa expresado en porcentaje de todas las variables seleccionadas con el propósito de describir la muestra de estudio (n=40) y obtener la prevalencia del suceso de interés. Se aplicó una prueba de normalidad de Shapiro-Wilk a las variables cuantitativas debido a que la muestra de estudio está compuesta por menos de 50 integrantes, se observó que solamente el porcentaje de metilación de *INS* sigue la distribución normal de la curva, por lo que se aplicarán las pruebas no paramétricas. Se aplicó el test exacto de Fisher a las variables sociodemográficas, antropométricas, bioquímicas, clínicas y dietéticas, las cuales fueron estratificadas como variables dicotómicas en una tabla de contingencia, presentando la frecuencia absoluta y los porcentajes distribuidos por sexo para examinar la significación de la asociación, utilizando esta prueba estadística debido a que los valores esperados en la mayoría de las celdas son menores a 5. Cabe mencionar que la frecuencia de consumo del grupo de verduras y frutas, fue estratificada como consumo diario y consumo mensual acatando la recomendación de consumo de este grupo según la OMS.

Por otro lado, se calculó la prueba de Mann-Whitney-Wilcoxon entre las variables dicotómicas ordinales de índole sociodemográfica, antropométrica, bioquímica, clínica y dietética con respecto al porcentaje de metilación de los genes *INS*, *IRS1* y *GLUT4*, para comparar las medianas de metilación de los dos grupos de adolescentes con ciertas características. También se efectuó la prueba de hipótesis de Kruskal-Wallis entre las variables politómicas ordinales de índole sociodemográfica, antropométrica, bioquímica, clínica, dietética y el porcentaje de metilación de los genes *INS*, *IRS1*, *GLUT4*, con el propósito de determinar si diferencias estadísticamente significativas entre las medianas. Se escogió esta prueba porque la distribución de las variables dependientes no asume normalidad según el test de Shapiro-Wilk y las variables independientes no cumplen con los supuestos de homocedasticidad según la prueba de Bartlett.

Se efectuó la razón de momios hablando en términos de *Odd Ratio* y no de riesgo relativo, ya que se trata de un estudio transversal donde la frecuencia del evento de interés en la muestra total es mayor al 30%, también, porque la naturaleza inherente del estudio no permite obtener el valor de la incidencia del evento de interés. Esta

prueba estadística fue efectuada utilizando el programa Stata porque hace uso de la regresión logística bivariada, siendo más válido y sensible para determinar los OR del patrón de metilación de riesgo o no riesgo de DMT2 de los tres genes de estudio (*INS*, *IRS1* y *GLUT4*) y las variables dicotómicas sociodemográfica, antropométricas, bioquímicas, clínicas y dietéticas de estudio.

Por último, se utilizó el método de reducción dimensional multifactorial (MDR) realizado con el programa MDR 3.0.2. La diabetes mellitus tipo 2 es una enfermedad compleja por las múltiples interacciones de factores genéticos, ambientales y nutricionales que están implicadas en su fisiopatología, lo cual provoca que exprese variabilidad fenotípica y que la dimensionalidad de las interacciones disminuya la utilidad de las pruebas estadísticas paramétricas. Por lo tanto, este método está diseñado como una prueba no paramétrica enfocado a tamaños muestrales pequeños, considerando que a medida que aumenta el número de factores genéticos, ambientales o nutricionales aumenta exponencialmente el número de posibles interacciones, por lo que los valores de las celdas de las tablas de contingencia pueden ser menores a 5. El método MDR, determina las interacciones gen-gen y gen-ambiente también conocida en términos estadísticos como epistasia, permitiendo construir un modelo de riesgo aditivo que reduce la dimensión multifactorial clasificando los genotipos en dos grupos de alto y de bajo riesgo. Por lo tanto, se determinó el riesgo aditivo por las interacciones entre los patrones de metilación del DNA de los genes *INS*, *IRS1*, *GLUT4* (normometilación, hipometilación e hipermetilación) y el IMCE (normalidad, desnutrición, sobrepeso y obesidad). Para determinar el modelo de riesgo aditivo, las variables de los genes fueron codificadas según su patrón de metilación, por ejemplo, en el caso de *INS* el patrón de hipometilación se codificó con el número cero, el patrón de normalidad con 1 y la hipermetilación como patrón de riesgo de DMT2 con el número 2, mientras que para la variable del IMCE se codificaron los controles con el cero y los casos con el 1, con el objeto de examinar las proporciones de los casos y controles de cada una de las combinaciones de los patrones de metilación de los genes de la interacción y finalmente, clasificarlos en dos categorías de riesgo alto o bajo. Este método realiza una validación cruzada, la cual consiste en dividir inicialmente el

conjunto de datos en 10 partes iguales y aplica la fórmula de $n-1$ partes, a fin de establecer el modelo de clasificación para cada uno de los modelos de interacción entre los patrones de metilación de los genes, lo cual se repite n veces analizando cada vez una parte distinta y dejando la última parte para la estimación del error. También, se calculan medidas de precisión balanceada, utilizando el promedio entre la sensibilidad y especificidad, para determinar el mejor modelo de cada orden. Por otro lado, la validación cruzada también es utilizada para efectuar la constancia de validación cruzada, la cual selecciona el mejor modelo del orden especificado como aquel que tiene una mayor consistencia al ser escogido como mejor modelo un mayor número de veces en las n repeticiones de la validación cruzada. Posteriormente, se realiza una prueba de permutación para evaluar si dicho modelo es estadísticamente significativo. El mejor modelo de cada orden será el que tenga mayor precisión y un valor de significación ($p \leq 0.05$). Posteriormente, el OR del modelo de riesgo es determinado como de riesgo alto si se presenta una ratio entre casos y controles igual o mayor que la ratio global de la muestra que catalogada como casillas de riesgo alto. El OR del modelo de riesgo bajo se determina cuando se tiene una ratio menor que la global de la muestra que catalogamos como riesgo bajo. El análisis por MDR también reporta la entropía de la interacción de los genes mediante un dendograma de interacción con el que visualizamos los efectos principales y las interacciones simultáneamente.

6. RESULTADOS.

6.1 Sujetos de estudio.

La muestra de estudio está integrada en su mayoría por hombres abarcando el 70% de los adolescentes. Referente al grado escolar, observamos que la mayoría de los integrantes cursaron el tercer año escolar de secundaria. (Tabla 7). 4

Tabla 7. Sexo y grado escolar de la muestra de estudio.

Variable sociodemográfica	n	%
-Sexo		
Mujeres	12	(30)
Hombres	28	(70)
-Grado escolar		
Primero	13	(32.5)
Segundo	12	(30)
Tercero	15	(37.5)

6.2 Resultados de las variables sociodemográficas, antropométricas, bioquímicas, clínicas y dietéticas según sexo de la muestra de estudio.

Comenzando por las variables sociodemográficas, se encontró una asociación significativa entre la forma de nacimiento y el sexo ($p=0.038$) (tabla 8), donde la frecuencia de nacimiento por parto en los hombres de la muestra de estudio es mayor a la frecuencia de las mujeres. Referente a estas variables, el 65.6% de la muestra de adolescentes fue alimentado con leche materna de manera exclusiva durante la primera infancia, la mayor frecuencia de adolescentes que tuvo este tipo de alimentación ocurrió en el grupo de los hombres con el 53.1%, pero no se encontró diferencia significativa entre los dos grupos. Se observó una mayor frecuencia de hombres con antecedentes familiares de diabetes mellitus tipo 2 en comparación con las mujeres, sin alcanzar significancia estadística siendo el valor de p marginal ($p=0.055$) (tabla 8). Los adolescentes que reportaron fumar abarcan el 20.5% de la muestra, siendo en su mayoría hombres. Del porcentaje de adolescentes que fuma el 17.9% de ellos indicó fumar un cigarro durante más de un día en el último mes. En cuanto a la recomendación de actividad física para los adolescentes según la OMS, el 60% de los estudiantes participantes son sedentarios. Del 40% de los adolescentes que cumplen con la recomendación de actividad física, el 35% son del sexo masculino y solo el 5% pertenecen al sexo femenino, no obstante, estas asociaciones no tuvieron significancia estadística. Los

estudiantes que llegan a realizar algún tipo de actividad física por más de una hora independientemente de la frecuencia con la que sea realizada son el 65% de la muestra de estudio, siendo en su mayoría hombres. Por otro lado, se encontró diferencia estadísticamente significativa entre la frecuencia de actividad física y el sexo de la muestra de estudio ($p=0.041$) (tabla 8). Los adolescentes que realizan actividad física durante 3 o más días de la semana constituyen el 51.3% del total de la muestra, siendo en su mayoría hombres quienes conforman el 43.6% del total en comparación con las mujeres donde solamente el 7.7% es más activa.

En cuanto a las variables antropométricas, el 97.5% de los estudiantes que integran la muestra tuvieron una talla para la edad normal sin diferencias estadísticas significativas entre los grupos. Respecto al IMCE, las cifras de estudiantes clasificados en cada categoría son iguales a causa del pareamiento antes mencionado. Por otro lado, se obtuvo la estimación del riesgo cardiovascular según el perímetro de cintura de acuerdo con la edad y se observó igual proporción de adolescentes con riesgo cardiovascular. En caso contrario, la proporción de adolescentes con riesgo cardiometabólico según el índice cintura-talla fue ampliamente mayor en el grupo de hombres con una prevalencia del 25% contra el 7.5% de las mujeres con riesgo cardiometabólico aumentado. También se diagnosticó obesidad central con base en este índice, los resultados mostraron la misma proporción de estudiantes con este padecimiento que la clasificación del IMCE.

Con respecto a las variables bioquímicas, fueron reportadas tres condiciones especiales según los indicadores de la biometría hemática: monocitosis, poliglobulia y pancitopenia grave. Estas anomalías fueron diagnosticadas en cinco estudiantes, la condición más grave fue la pancitopenia observada en una estudiante femenina. Por otro parte, el 28.9% de los adolescentes tuvieron depleción muscular según el recuento de linfocitos totales en sangre, la proporción fue mayor en el grupo de hombres. Se observaron valores altos del recuento de glóbulos rojos en el 7.9% de la muestra presentándose solamente en el grupo de mujeres.

La presión arterial elevada fue detectada en el 22.5% de la muestra de estudio, el grupo de hombres tuvo la mayor proporción en comparación con el grupo de mujeres, sin embargo, esta diferencia no es estadísticamente significativa.

Respecto a los resultados de la encuesta frecuencia de consumo, los alimentos y las bebidas de mayor frecuencia de consumo en ambos sexos son los siguientes presentados en orden descendente y de frecuencia semanal: la tortilla, el arroz, la leche, el agua de fruta, el refresco, el postre o pastel, los frijoles, el azúcar, los antojitos, las frituras, las lentejas y el café. Por otro lado, las frecuencias de consumo de los alimentos y las bebidas del grupo de los hombres que se mostraron más bajas en comparación con las mujeres son las siguientes: tuvieron una baja ingesta de agua menor a un litro por día y un bajo consumo de verduras crudas o cocidas. En comparación con la frecuencia de consumo de los alimentos y las bebidas de las mujeres, los hombres tuvieron una mayor frecuencia de consumo de verduras crudas, verduras de color verde, fruta, tortilla, arroz, pan blanco, pan integral, antojitos, postre o pastel, frituras, frijoles, lentejas, carne de pollo, carne de res, carne de cerdo, huevo, queso, leche, azúcar, mole, agua de fruta, café, refresco y bebidas alcohólicas. En el grupo de los hombres los grupos de alimentos de mayor frecuencia de consumo son los cereales con grasa, los azúcares sin grasa y los azúcares con grasa.

En cuanto a los resultados de la frecuencia de consumo de alimentos y bebidas del grupo femenino, el consumo diario de salsa cruda fue mayor en las mujeres en comparación con el grupo de hombres, mostrando una asociación estadísticamente significativa entre estas variables ($p=0.023$) (tabla 8). El consumo diario de verduras cocidas y salsa cocida es mayor en el grupo de mujeres que en el grupo de los hombres, sin embargo, la asociación entre estas variables no tiene significancia estadística. En el grupo de mujeres los grupos de alimentos más habituales son los cereales con grasa, las leguminosas y los azúcares sin grasa.

Tabla 8. Descripción de la muestra de estudio por variables sociodemográficas, antropométricas, bioquímicas, clínicas y dietéticas según sexo.

Variable	Total n (%)	Hombres n (%)	Mujeres n (%)	Valor p de la e
Sociodemográficas				
-Forma de nacimiento				
Cesárea	13 (40.6)	7 (21.9)	6 (18.7)	0.038*
Parto	19 (59.4)	17 (53.1)	2 (6.3)	
-Alimentación de primera infancia				
Lactancia materna y fórmula láctea	11 (34.4)	7 (21.9)	4 (12.5)	0.397
Lactancia materna exclusiva	21 (65.6)	17 (53.1)	4 (12.5)	
-Antecedentes familiares de diabetes mellitus				
Con antecedentes familiares de diabetes mellitus	13 (46.4)	11 (39.3)	2 (7.1)	0.055
Sin antecedentes familiares de diabetes mellitus	15 (53.6)	7 (25)	8 (28.6)	
-Fumadores				
Fumadores	8 (20.5)	6 (15.4)	2 (5.1)	1.000
No fumadores	31 (79.5)	22 (56.4)	9 (23.1)	
-Días que fumaron un cigarro				
Más de un día	7 (17.9)	5 (12.8)	2 (5.1)	1.000
Ningún día	32 (82.1)	23 (59)	9 (23.1)	
-Actividad física según recomendación de la OMS para adolescentes				
Sedentario	24 (60)	14 (35)	10 (25)	0.079
Físicamente activo	16 (40)	14 (35)	2 (5)	
-Tiempo de actividad física				
<60 minutos	14 (35)	9 (22.5)	5 (12.5)	0.720
≥ 60 minutos	26 (65)	19 (47.5)	7 (17.5)	
-Frecuencia de actividad física				
<2 días	19 (48.7)	10 (25.6)	9 (23.1)	0.041*

Variable	Total n (%)	Hombres n (%)	Mujeres n (%)	Valor p de la e
≥3 días	20 (51.3)	17 (43.6)	3 (7.7)	
Antropométricos				
-Talla para la edad				
Talla baja	1 (2.5)	1 (2.5)	-	1.000
Normal	39 (97.5)	27 (67.5)	12 (30)	
-Clasificación del IMCE				
Normalidad	10 (25)	7(17.5)	3(7.5)	
Desnutrición	10 (25)	7(17.5)	3(7.5)	1.000
Sobrepeso	10 (25)	7(17.5)	3(7.5)	1.000
Obesidad	10 (25)	7(17.5)	3(7.5)	1.000
-Riesgo cardiovascular según perímetro de cintura de acuerdo con la edad				
Riesgo cardiovascular	6 (15)	3 (7.5)	3 (7.5)	0.341
Sin riesgo cardiovascular	34 (85)	25 (62.5)	9 (22.5)	
-Riesgo cardiometabólico según índice cintura-talla (PcT)				
Riesgo cardiometabólico aumentado	13 (32.5)	10 (25)	3 (7.5)	0.716
Sin riesgo cardiometabólico	27 (67.5)	18 (45)	9 (22.5)	
-Obesidad central según índice cintura-talla (PcT)				
Obesidad central	10 (25)	7 (17.5)	3 (7.5)	1.000
Sin obesidad central	30 (75)	21 (52.5)	9 (22.5)	
Bioquímicos				
-Observaciones médicas de la biometría hemática				
Monocitosis	2 (5)	2 (5)	-	-
Poliglobulia.	2 (5)	2 (5)	-	
Pancitopenia grave	1 (2.5)	-	1 (2.5)	
Sin observaciones	35 (87.5)	23 (57.5)	12 (30)	
-Depleción muscular según recuento de linfocitos totales en sangre				
Depleción muscular	11 (28.9)	7 (18.4)	4 (10.5)	0.714
Normal	27 (71.1)	19 (50)	8 (21.1)	
-Recuento de glóbulos rojos (RBC)				
Alto	3 (7.9)	-	3 (7.9)	-

Variable	Total n (%)	Hombres n (%)	Mujeres n (%)	Valor p de la e
Normal	35 (92.1)	26 (68.4)	9 (23.7)	
Clínicos				
-Presión arterial				
Riesgo de prehipertensión arterial	9 (22.5)	6 (15)	3 (7.5)	1.000
Sin riesgo de prehipertensión arterial	31 (77.5)	22 (55)	9 (22.5)	
Dietéticos				
-Ingesta de agua por día				
Menos de un litro	28 (70)	20 (50)	8 (20)	1.000
Más de un litro	12 (30)	8 (20)	4 (10)	
Grupo de verduras y frutas				
-Consumo de verduras crudas				
Mensual	27 (69.2)	19 (48.7)	8 (20.5)	1.000
Diario	12 (30.8)	8 (20.5)	4 (10.3)	
-Consumo de verduras cocida				
Mensual	30 (76.9)	23 (59)	7 (17.9)	0.102
Diario	9 (23.1)	4 (10.3)	5 (12.8)	
-Consumo de verduras verdes				
Mensual	24 (61.5)	15 (38.5)	9 (23.1)	0.305
Diario	15 (38.5)	12 (30.8)	3 (7.7)	
-Consumo de salsa cruda				
Mensual	27 (69.2)	22 (56.4)	5 (12.8)	0.023*
Diario	12 (30.8)	5 (12.8)	7 (18)	
-Consumo de salsa cocida				
Mensual	27 (69.2)	20 (51.2)	7 (18)	0.455
Diario	12 (30.8)	7 (18)	5 (12.8)	
-Consumo de una pieza de fruta				
Mensual	24 (61.5)	18 (46.1)	6 (15.4)	0.478
Diario	15 (38.5)	9 (23.1)	6 (15.4)	
Grupo de cereales				
-Consumo de una pieza de tortilla				

Variable	Total n (%)	Hombres n (%)	Mujeres n (%)	Valor p de la e
Mensual	7 (18.4)	6 (15.8)	1 (2.6)	0.648
Semanal	31 (81.6)	21 (55.3)	10 (26.3)	
-Consumo de una taza de arroz				
Mensual	10 (25.6)	9 (23.0)	1 (2.6)	0.231
Semanal	29 (74.4)	18 (46.2)	11 (28.2)	
-Consumo de pan blanco				
Semanal	11 (34.4)	7 (21.9)	4 (12.5)	0.703
Mensual	21 (65.6)	15 (46.9)	6 (18.7)	
-Consumo de pan integral				
Semanal	6 (19.4)	4 (12.9)	2 (6.5)	1.000
Mensual	25 (80.6)	17 (54.8)	8 (25.8)	
-Consumo de antojitos				
Semanal	22 (56.4)	16 (41.0)	6 (15.4)	0.730
Mensual	17 (43.6)	11 (28.2)	6 (15.4)	
-Consumo de postre o rebanada de pastel				
Semanal	24 (63.2)	15 (39.5)	9 (23.7)	0.160
Mensual	14 (36.8)	12 (31.5)	2 (5.3)	
-Consumo de una taza de frituras				
Semanal	22 (56.4)	15 (38.5)	7 (17.9)	1.000
Mensual	17 (43.6)	12 (30.8)	5 (12.8)	
Grupo de leguminosas				
-Consumo de una taza de frijoles				
Mensual	15 (38.5)	13 (33.3)	2 (5.1)	0.083
Semanal	24 (61.5)	14 (35.9)	10 (25.6)	
-Consumo de una taza lentejas				
Mensual	18 (46.2)	14 (35.9)	4 (10.3)	0.322
Semanal	21 (53.8)	13 (33.3)	8 (20.5)	
Grupo de alimentos de origen animal				
-Consumo de carne de pollo				
Mensual	21 (65.6)	13 (40.6)	8 (25)	0.425
Semanal	11 (34.4)	9 (28.1)	2 (6.3)	
-Consumo de carne de res				

Variable	Total n (%)	Hombres n (%)	Mujeres n (%)	Valor p de la e
Mensual	25 (78.1)	17 (53.1)	8 (25)	1.000
Semanal	7 (21.9)	5 (15.6)	2 (6.3)	
-Consumo de carne de cerdo				
Mensual	24 (77.4)	16 (51.6)	8 (25.8)	1.000
Semanal	7 (22.6)	5 (16.1)	2 (6.5)	
-Consumo de huevo				
Mensual	23 (71.9)	16 (50)	7 (21.9)	1.000
Semanal	9 (28.1)	6 (18.7)	3 (9.4)	
Grupo de lácteos				
-Consumo de queso				
Mensual	26 (81.2)	18 (56.2)	8 (25)	1.000
Semanal	6 (18.8)	4 (12.5)	2 (6.3)	
-Consumo de leche				
Mensual	8 (25.8)	5 (16.1)	3 (9.7)	1.000
Semanal	23 (74.2)	16 (51.6)	7 (22.6)	
Grupo de azúcares				
-Consumo de una cucharadita de azúcar				
Semanal	22 (57.9)	14 (36.8)	8 (21.1)	0.504
Mensual	16 (42.1)	12 (31.6)	4 (10.5)	
-Consumo de un plato de mole				
Semanal	15 (38.5)	11 (28.2)	4 (10.3)	0.734
Mensual	24 (61.5)	16 (41)	8 (20.5)	
-Consumo de un vaso de agua de fruta				
Semanal	26 (66.7)	17 (43.6)	9 (23.1)	0.714
Mensual	13 (33.3)	10 (25.6)	3 (7.7)	
-Consumo de una taza de café				
Mensual	18 (47.4)	12 (31.6)	6 (15.8)	1.000
Semanal	20 (52.6)	14 (36.8)	6 (15.8)	
-Consumo de un vaso de refresco				
Semanal	25 (65.8)	18 (47.4)	7 (18.4)	1.000
Mensual	13 (34.2)	9 (23.7)	4 (10.5)	
-Ingesta de azúcar proveniente de refresco				

Variable	Total n (%)	Hombres n (%)	Mujeres n (%)	Valor <i>p</i> de la e
>50 g.	10 (25)	6 (15)	4 (10)	0.451
<50 g.	30 (75)	22 (55)	8 (20)	
Grupo bebidas alcohólicas				
-Ingesta de alcohol				
Consume alcohol	12 (40)	9 (30)	3 (10)	0.704
No consume alcohol	18 (60)	12 (40)	6 (20)	

Prueba exacta de Fisher.

Valor significativo: * $p < 0.05$

6.3 Descripción de la muestra de estudio con base en las variables sociodemográficas, antropométricas, bioquímicas, clínicas, dietéticas y del porcentaje de metilación de *INS*, *IRS1*, *GLUT4*

Los adolescentes que componen nuestra muestra de estudio tienen una edad promedio de 13 años, la edad mínima de los individuos es de 12 años y la edad máxima es de 15 años. Referente a la actividad física, los adolescentes realizan actividad física durante 88 minutos en promedio, habiendo jóvenes que no suelen hacer algún tipo de actividad física hasta individuos que realizan actividad física durante 480 minutos al día. Respecto a los resultados de los indicadores antropométricos, la estatura promedio de los adolescentes es de 1.6 m lo cual se encuentra dentro de los valores normales de talla para la edad, el peso promedio es de 56.7 kg, el IMCE es de 21.5 y el perímetro abdominal corresponde a 78.1 cm. El índice cintura-talla promedio es de 0.48 lo cual significa que se encuentran dentro del rango de normalidad y sin riesgo cardiovascular. Por otro lado, los valores promedio de los indicadores de la biometría hemática se encuentran dentro de lo normal. De igual modo, los valores de la presión arterial promedio se encuentran dentro de la normalidad. En cambio, la ingesta promedio de agua natural es de aproximadamente 3 vasos, siendo un consumo bajo de agua natural para los adolescentes que requieren aproximadamente 10 vasos con agua natural para cubrir su requerimiento hídrico. La ingesta promedio de refresco radica en 2 raciones, lo cual corresponde a 184 mL de refresco, siendo este un consumo bajo.

Sin embargo, existen individuos con una ingesta de refresco que van desde 4 raciones hasta 11 raciones, correspondiente a 368 mL hasta 1,000 mL de refresco, siendo este un consumo muy alto de refresco al día. Si traducimos el consumo de raciones de refresco en gramos de azúcar aportados por esta bebida, encontraremos que el consumo promedio es de 19 gramos, sin embargo, el aporte de azúcar máximo es de 105 gramos, lo cual es el doble de la cantidad sugerida (50 g) si se considera el 10% del requerimiento calórico total de los adolescentes. Referente al promedio del porcentaje de metilación de los genes *INS*, *IRS1* y *GLUT4*, los valores se encuentran dentro de la normalidad. El gen *INS* tiene un valor mínimo del porcentaje de metilación del 36% y un valor máximo del porcentaje de metilación de 71%. Los valores extremos del porcentaje de metilación del gen *IRS1* son 27% y 62% de metilación. El menor porcentaje de metilación de *GLUT4* corresponde al 34% y el mayor porcentaje de metilación al 69%. (Tabla 9)

Tabla 9. Descripción de las variables cuantitativas sociodemográficas, antropométricas, bioquímicas, clínicas, dietéticas y del porcentaje de metilación de *INS*, *IRS1*, *GLUT4*

Variable	Media \pm SD	P50	P25	P75	Mínimo	Máximo
Sociodemográficas						
Edad	13.7 \pm 1.0	13.5	13	15	12	15
Tiempo de actividad física	88.3 \pm 85.6	70	30	120	0	480
Antropométricas						
Talla (m)	1.6 \pm 0.8	1.6	1.5	1.7	1.4	1.8
Peso (kg)	56.7 \pm 13.6	55.9	48.4	65.6	32.2	88
IMCE	21.5 \pm 4.5	21.6	17.4	23.7	14.7	32.3
Perímetro abdominal	78.1 \pm 10.5	76.3	71	83.7	62	100
PcT	0.48 \pm 0.6	0.47	0.42	0.52	0.39	0.58
Bioquímicas						
Conteo de glóbulos blancos (x10 ⁹ /L)	6543 \pm 2463	5450	6600	7800	0	10900
Recuento de glóbulos rojos (x10 ¹² /L)	5.3 \pm 0.7	5.5	5	5.7	1.5	6.2

Variable	Media \pm SD	P50	P25	P75	Mínimo	Máximo
Linfocitos (%)	34 \pm 8.9	35.5	26.3	40.4	14.3	49.6
Recuento de linfocitos totales en sangre (mm ³)	2269 \pm 652	2314	1920	2750	435	3492
Clínicas						
PAS	109.5 \pm 12.2	110	100	120	85	135
PAD	70.7 \pm 9.1	70	65	79.5	50	90
Dietéticas						
Vasos con agua ingeridos el día anterior	2.6 \pm 1.9	2	1	4	0	8
Raciones de refresco ingeridas el día anterior	1.9 \pm 2.7	0	0	4	0	11
Cantidad de azúcar ingerida proveniente de refresco (g)	18.8 \pm 26	0	0	40	0	105
Porcentaje de metilación						
<i>INS</i>	54.4 \pm 6.3	54	51	58	36	71
<i>IRS1</i>	45.9 \pm 5.9	46.5	43.5	49.5	27	62
<i>GLUT4</i>	48.4 \pm 5.6	48	45.5	51	34	69

6.4 Metilación del DNA de los genes *INS*, *IRS1* y *GLUT4*.

Del total de adolescentes que integran la muestra de estudio, 22 estudiantes presentaron algún patrón de metilación de riesgo de diabetes mellitus tipo 2, cifra que engloba al 55% del total de la muestra de estudio. El 17.5 % de la muestra de adolescentes presentó el patrón de metilación de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 del biomarcador *INS*. Con respecto al biomarcador *IRS1*, el 25% de la muestra de estudio presentó el patrón de metilación de riesgo de diabetes mellitus tipo 2. El patrón de hipometilación de *GLUT4* que conlleva un riesgo de diabetes mellitus tipo 2, fue observado en el 25% de la muestra de estudio. (Tabla 10).

Tabla 10. Prevalencia de los patrones de metilación de los genes *INS*, *IRS1* y *GLUT4* de la muestra de estudio.

Gen	Patrón normal de metilación n (%)	Patrón de hipometilación n (%)	Patrón de hipermetilación n (%)
<i>INS</i>	26 (65)	7 (17.5)	7 (17.5)
<i>IRS1</i>	20 (50)	10 (25)	10 (25)
<i>GLUT4</i>	22 (55)	10 (25)	8 (20)

El porcentaje de metilación de riesgo y de no riesgo de DMT2 no presentó diferencias por sexo de los adolescentes de estudio. (Tabla 11).

Tabla 11. Patrón de metilación de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 de los genes *INS*, *IRS1* y *GLUT4* según sexo de la muestra de estudio.

Gen	Total n (%)	Hombres n (%)	Mujeres n (%)	Valor <i>p</i> de la e
<i>INS</i>				
Patrón de riesgo de DMT2	7 (17.5)	3 (7.5)	4 (10)	0.168
Patrón de no riesgo de DMT2	33 (82.5)	25 (62.5)	8 (20)	
<i>IRS1</i>				
Patrón de riesgo de DMT2	10 (25)	9 (22.5)	1 (2.5)	0.231
Patrón de no riesgo de DMT2	30 (75)	19 (47.5)	11 (27.5)	
<i>GLUT4</i>				
Patrón de riesgo de DMT2	10 (25)	6 (15)	4 (10)	0.451
Patrón de no riesgo de DMT2	30 (75)	22 (55)	8 (20)	

Prueba exacta de Fisher.

Cabe mencionar, que cinco estudiantes presentaron simultáneamente el patrón de metilación de riesgo de DMT2 de dos genes. Se observaron dos personas con los patrones de metilación de riesgo de DMT2 de los genes *IRS1* y *GLUT4* la categoría de IMCE que tuvieron fue sobrepeso, un individuo que presentó obesidad tuvo el

patrón de metilación de riesgo de DMT2 de los genes *INS* e *IRS1* y 2 personas mostraron tanto el patrón de riesgo epigenético de *INS* como de *GLUT4* una de ellas fue clasificado en normalidad y el otro individuo en obesidad. Por lo tanto, se observó que la mayoría de los adolescentes que presentaron dos patrones de metilación de riesgo de DMT2 tienen exceso de peso.

Con el propósito de observar el comportamiento de los patrones de metilación de los genes de estudio según el IMCE, graficamos las medias de los porcentajes de metilación de *INS* por categoría del IMCE. Se observa un incremento en la media del porcentaje de metilación en el grupo de desnutrición y obesidad en comparación con el grupo de normalidad y sobrepeso, por lo que se podría observar un patrón de metilación con tendencia a la hipermetilación en caso de malnutrición. (Figura 5).

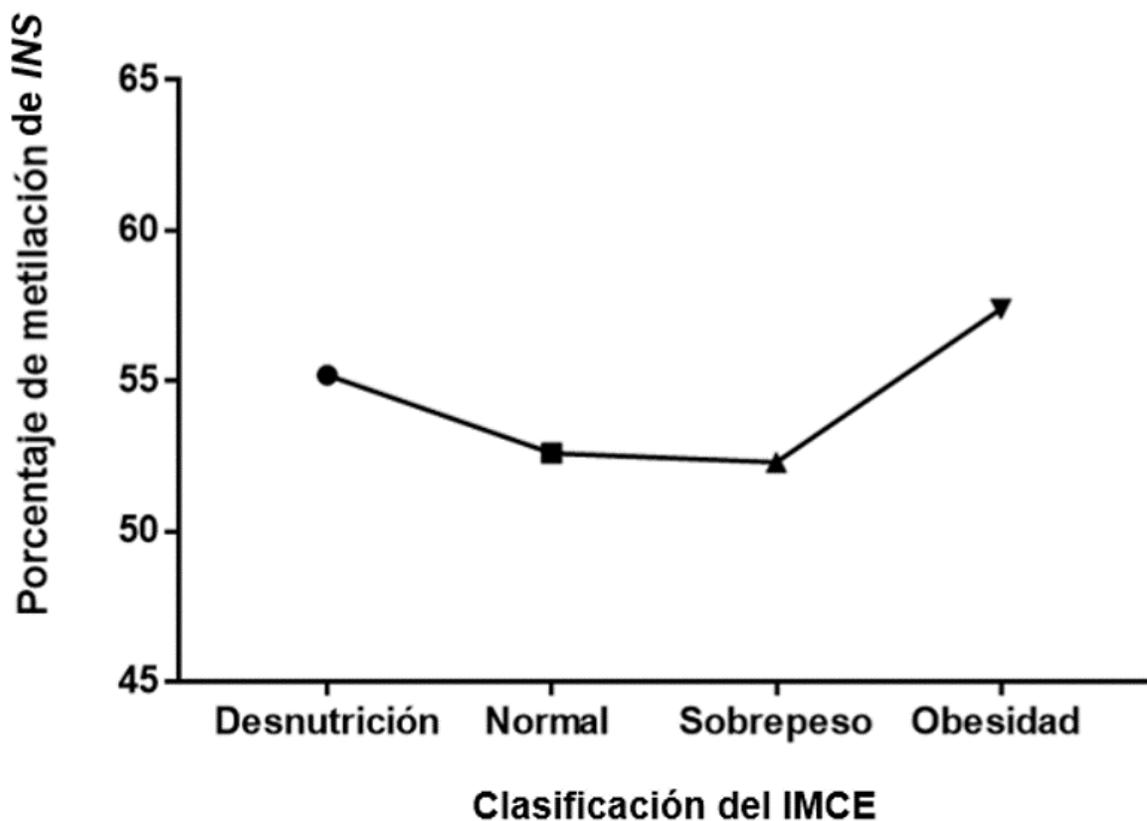


Figura 5. Media del porcentaje de metilación del gen *INS* según clasificación del IMCE.

Por otro lado, se observa una media del porcentaje de metilación de *IRS1* mayor en el grupo de obesidad en comparación con los demás grupos. Asimismo, la media del porcentaje de metilación de este gen perteneciente al grupo de desnutrición es mayor comparado con los grupos de normalidad y sobrepeso. Sin embargo, los valores del porcentaje de metilación en ambas observaciones no cumplen con el punto de corte del patrón de hipermetilación. (Figura 6).



Figura 6. Media del porcentaje de metilación del gen *IRS1* según clasificación del IMCE.

Respecto a la media del porcentaje de metilación de *GLUT4*, se observa que es mayor en el grupo de desnutrición en comparación con las otras tres categorías del IMCE alcanzando valores que determinan un patrón de hipermetilación. En contraste con estos resultados, el grupo de obesidad tiene una media de metilación más baja en comparación con el grupo de desnutrición y sobrepeso, sin embargo, no se clasifica entra dentro de los puntos de corte del patrón de hipometilación. (Figura 7).

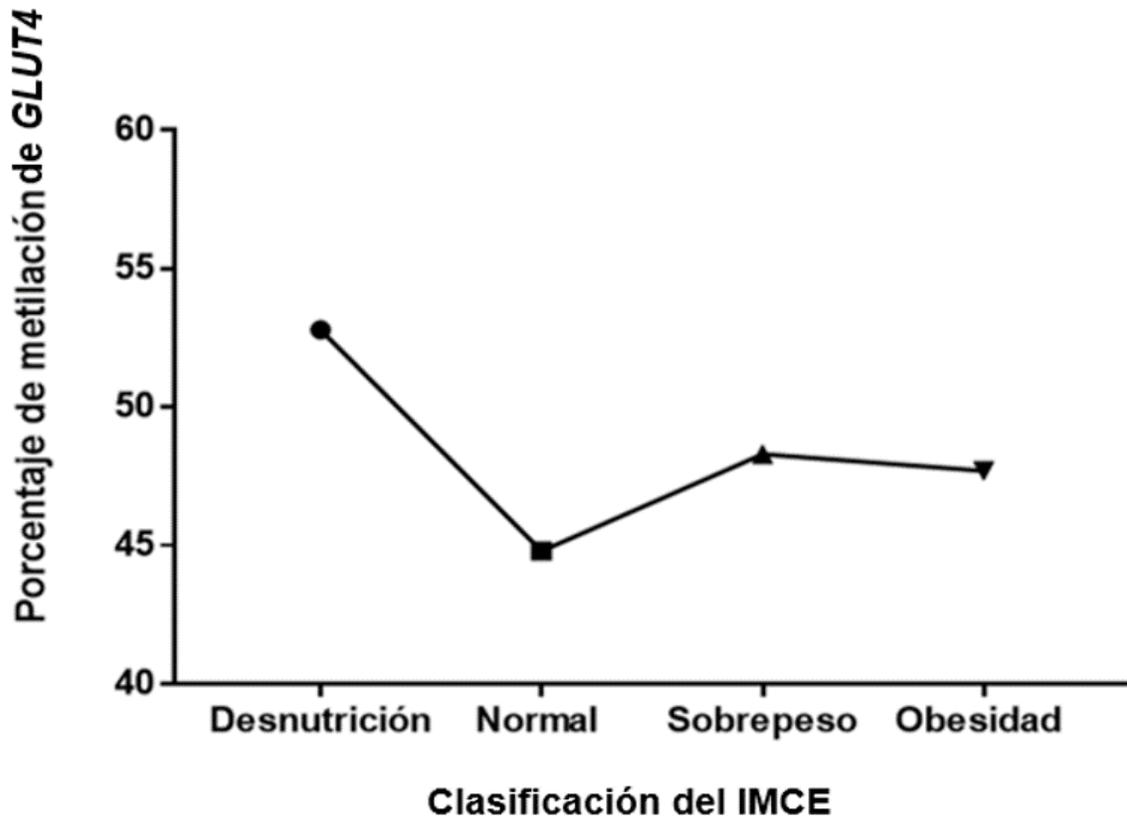


Figura 7. Media del porcentaje de metilación del gen *GLUT4* según clasificación IMCE.

6.5 Relación de la metilación de los biomarcadores *INS*, *IRS1*, *GLUT4* y las variables sociodemográficas, antropométricas, bioquímicas y dietéticas.

6.5.1 Gen *INS*.

Dentro de las variables sociodemográficas se encuentra los días que fumaron un cigarro los adolescentes en estudio, se observó que fumar un cigarro durante más de un día incrementa el porcentaje de metilación de *INS* en comparación con los individuos que no fuman mostrando una relación estadísticamente significativa ($p=0.044$) (tabla 12). Referente a la actividad física, el sedentarismo eleva el porcentaje de metilación de *INS* a diferencia de los adolescentes que son físicamente activos siguiendo la recomendación de actividad física para adolescentes según la OMS, presentando una relación estadísticamente

significativa ($p=0.005$) (tabla 12). También se observa una relación significativa en lo que respecta al tiempo de actividad física y el porcentaje de metilación ($p=0.0005$) (tabla 12), los estudiantes que realizaron algún tipo de actividad física por menos de 60 minutos tuvieron mayor porcentaje de metilación de *INS*, que puede ser considerado como un patrón de hipermetilación, a diferencia de los adolescentes que realizaron actividad física durante 60 minutos o más cuyo valor de la mediana del porcentaje de metilación de *INS* estuvo dentro de los parámetros del patrón normal de metilación para este gen. También se encontraron cambios en el porcentaje de metilación según el período de tiempo de actividad física, observando que los adolescentes que realizaron alguna actividad física con una duración menor a 30 minutos tuvieron una mediana del porcentaje de metilación mayor en comparación con los adolescentes que realizaron actividad física por 30 minutos ($p=0.026$) (tabla 12). De igual modo, los adolescentes que realizaron actividad física por menos de 30 minutos tuvieron mayor porcentaje de metilación en comparación con los adolescentes que mantuvieron una actividad física durante 60 minutos ($p=0.0007$) (tabla 12). Los adolescentes que realizaron actividad física por menos de 30 minutos comparados con los adolescentes que realizaron actividad física durante 120 minutos tuvieron un porcentaje de metilación diferente siendo estadísticamente significativo ($p=0.004$) (tabla 12). Asimismo, los adolescentes que realizaron actividad física durante 30 minutos tuvieron una mediana de porcentaje de metilación de *INS* mayor en comparación con los adolescentes que realizaron actividad física durante 60 minutos ($p=0.023$) (tabla 12).

Referente a la alimentación, la frecuencia de consumo mensual de verduras verdes tiene relación con un mayor porcentaje de metilación de *INS* en comparación con los adolescentes que frecuentan diariamente este tipo de verduras ($p=0.049$). Los adolescentes que no consumen arroz mostraron una mediana del porcentaje de metilación mayor en comparación con los adolescentes que consumen el arroz al menos una vez al mes ($p=0.016$) (tabla 12). Los adolescentes que no consumen arroz tienen mayor porcentaje de metilación de *INS* en comparación con los adolescentes que consumen arroz al menos una vez a la semana ($p=0.013$) (tabla 12). Los adolescentes que no consumen arroz también muestran mayor porcentaje

de metilación en comparación con los adolescentes que tienen un consumo diario de arroz ($p=0.008$) (tabla 12). Asimismo, los adolescentes que no consumo de leche tienen mayor porcentaje de metilación de *INS* a diferencia de los adolescentes que tienen un consumo semanal de leche ($p=0.039$) (tabla 12).

También se encontró una diferencia significativa entre la ingesta menor de 50 gramos de azúcar proveniente del consumo de refresco y un mayor nivel de metilación de *INS* en comparación de los adolescentes que ingieren una cantidad de azúcar mayor a los 50 gramos ($p=0.021$) (tabla 12).

Tabla 12. Prueba de Mann-Whitney-Wilcoxon del porcentaje de metilación del gen *INS* según las variables sociodemográficas y dietéticas de la muestra de estudio.

Variable	Porcentaje de metilación de <i>INS</i> Mediana	<i>p</i>
Sociodemográficas		
-Días que fumaron un cigarro		
Más de un día	58	0.044*
Ningún día	53	
-Actividad física según recomendación de la OMS para adolescentes		
Sedentario	56	0.005**
Físicamente activo	51.5	
-Tiempo de actividad física		
<60 minutos	58	0.0005***
≥60 minutos	52	
-Tiempo de actividad física		
<30 minutos	58	0.026*
30 minutos	55	
-Tiempo de actividad física		
<30 minutos	58	0.0007***
60 minutos	51.5	
-Tiempo de actividad física		
<30 minutos	58	0.004*
120 minutos	53	

Variable	Porcentaje de metilación de <i>INS</i> Mediana	<i>p</i>
-Tiempo de actividad física		
30 minutos	55	0.023*
60 minutos	51.5	
Dietéticos		
Grupo de verduras y frutas		
-Consumo de verduras verdes		
Mensual	55	0.049*
Diario	52	
Grupo de cereales		
-Consumo de arroz		
No consumo	65	0.016*
Al menos 1 vez al mes	55	
-Consumo de arroz		
No consumo	65	0.013*
Al menos 1 vez a la semana	54	
-Consumo de arroz		
No consumo	65	0.008**
Diario	53	
Grupo de lácteos		
-Consumo de leche		
No consumo	43	0.039*
Semanal	53	
Grupo de azúcares		
-Ingesta de azúcar proveniente de refresco		
>50 g.	51	0.021*
<50 g.	55	

Valores significativos: * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$; *** $p < 0.001$

Por otra parte, el patrón de metilación de *INS* tiene relación con la presión arterial sistólica. Los adolescentes que presentaron hipometilación tienen un valor menor de presión arterial sistólica en comparación con los adolescentes que no tuvieron hipometilación ($p=0.008$) (tabla 13).

Tabla 13. Prueba de Mann-Whitney-Wilcoxon de la presión arterial sistólica y el patrón de metilación del gen *INS* de la muestra de estudio.

Patrón de metilación de <i>INS</i>	PAS Mediana	<i>p</i>
Con hipometilación	100	0.008**
Sin hipometilación	110	

Valores significativos: ** $p \leq 0.01$

6.5.2 Gen *IRS1*.

Los resultados de las variables sociodemográficas muestran una relación del tiempo de actividad física y el porcentaje de metilación de *IRS1*, podemos observar que los adolescentes que realizan actividad física por menos de 120 minutos tienen menor porcentaje de metilación en comparación con los adolescentes que realizan actividad física durante 120 minutos o más tiempo. ($p=0.023$) (tabla 14).

En cuanto a los indicadores bioquímicos, la mediana del porcentaje de metilación de *IRS1* difiere según depleción muscular por recuento linfocitario, observándose menor porcentaje de metilación, el cual puede ser considerado como un patrón de hipometilación en los estudiantes que presentaron depleción muscular en comparación con los sujetos que se encuentran en normalidad ($p=0.006$) (tabla 14). Con respecto a la alimentación, el consumo mensual de tortilla se relacionó con un menor nivel de metilación de *IRS1*, en comparación con los adolescentes que tienen un consumo diario de tortilla ($p=0.031$) (tabla 14). Se encontró una relación estadísticamente significativa entre el consumo de pan blanco y el porcentaje de metilación de *IRS1*, en el cual observamos que los adolescentes que tienen un consumo mensual de pan blanco tienen mayor porcentaje de metilación en comparación con los adolescentes que no consumen el pan blanco ($p=0.005$) (tabla 14). También existe una relación estadísticamente significativa entre el consumo de leche y el porcentaje de metilación de *IRS1*, donde se observó que los adolescentes con un consumo mensual de leche presentaron un menor nivel de metilación de

este gen, a diferencia de los individuos que consumen leche diariamente ($p=0.033$) (tabla 14).

Tabla 14. Prueba de Mann-Whitney-Wilcoxon del porcentaje de metilación del gen *IRS1* según las variables sociodemográficas, bioquímicas y dietéticas de la muestra de estudio.

Variable	Porcentaje de metilación de <i>IRS1</i> Mediana	<i>p</i>
Sociodemográficas		
-Tiempo de actividad física		
<120 minutos	44	0.023*
≥120 minutos	49	
Bioquímicos		
-Depleción muscular según recuento de linfocitos totales en sangre		
Depleción	43	0.006**
Normalidad	47	
Dietéticos		
Grupo de cereales		
-Consumo de tortilla		
Mensual	44	0.031*
Semanal	47	
-Consumo de pan blanco		
Mensual	49	0.005**
No consumo	44	
Grupo de lácteos		
-Consumo de leche		
Mensual	43.5	0.033*
Semanal	47	

Valores significativos: * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$

6.5.3 Gen *GLUT4*.

Con respecto a los resultados de las variables antropométricas, se encontró una relación estadísticamente significativa entre la desnutrición según IMCE y un mayor porcentaje de metilación de *GLUT4* en comparación con los adolescentes que se encontraron en condiciones normales según IMCE ($p=0.007$) (tabla 15). Los adolescentes con sobrepeso y obesidad tienen menor porcentaje de metilación de *GLUT4* en comparación con los adolescentes con desnutrición según IMCE ($p=0.023$) (tabla 15). Los adolescentes con solo obesidad tienen menor porcentaje de metilación de *GLUT4* en comparación con los adolescentes con desnutrición según IMCE ($p=0.018$) (tabla 15).

Continuando con otro indicador antropométrico, se encontró una relación estadísticamente significativa entre el perímetro abdominal y el patrón de metilación de *GLUT4* ($p=0.019$) (tabla 16). Los resultados indican que los adolescentes con un patrón de hipermetilación de *GLUT4* presentaron un menor perímetro abdominal en comparación con los adolescentes con un patrón de normalidad de *GLUT4*.

Tabla 15. Prueba de Mann-Whitney-Wilcoxon del porcentaje de metilación del gen *GLUT4* según clasificación del IMCE de la muestra de estudio.

Variable	Porcentaje de metilación de <i>GLUT4</i> Mediana	p
Antropométricos		
-Clasificación del IMCE		
Desnutrición	51	0.007**
Normalidad	45.5	
-Clasificación del IMCE		
Sobrepeso y obesidad	47.5	0.023*
Desnutrición	51	
-Clasificación del IMCE		
Obesidad	47	0.018*
Desnutrición	51	

Valores significativos: * $p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$

Tabla 16. Prueba de Mann-Whitney-Wilcoxon del perímetro abdominal y el patrón de metilación del gen *GLUT4* de la muestra de estudio.

Patrón de metilación de <i>GLUT4</i>	Perímetro abdominal Mediana	<i>p</i>
Hipermetilación	71.8	0.019*
Normalidad	79.3	

Valores significativos: * $p \leq 0.05$

6.6 Relación de la metilación de los biomarcadores *INS*, *IRS1*, *GLUT4* y las variables sociodemográficas, antropométricas, bioquímicas y dietéticas de estudio entre grupos.

Se evaluó la relación de las variables sociodemográficas, antropométricas, bioquímicas, dietéticas de estudio y el porcentaje de metilación, no obstante, solamente se presentan aquellos resultados más relevantes y/o con significancia estadística.

6.6.1 Variables sociodemográficas

Existe una relación estadísticamente significativa entre el tiempo de actividad física y el porcentaje de metilación de *INS* ($p=0.002$) (tabla 17), se observa que el grupo de adolescentes que realizan actividad física por menos de 30 minutos tienen un mayor nivel de metilación en comparación con los demás grupos.

Tabla 17. Relación del porcentaje de metilación de *INS* y el tiempo de actividad física de la muestra de estudio.

Tiempo de actividad física	Metilación de <i>INS</i> Mediana	<i>p</i>
<30 minutos	58	0.002**
30 minutos	55	
60 minutos	51.5	
120 minutos	53	

Prueba de Kruskal-Wallis

Valor significativo: ** $p \leq 0.01$

6.6.2 Variables antropométricas.

A causa de la importancia que tiene el IMCE como factor de riesgo de DMT2, se muestran a continuación los resultados de la prueba de Kruskal-Wallis de los tres genes biomarcadores de riesgo de DMT2. El IMCE y el porcentaje de metilación de *INS* no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre sus medianas, no obstante, se observa que el grupo de adolescentes con desnutrición tuvo la mediana de metilación de *INS* más alta en comparación con las demás categorías del IMCE. (Tabla 18). De igual modo, no existe una relación significativa entre el IMCE y el porcentaje de metilación de *IRS1*, sin embargo, se observa que los grupos de sobrepeso y de obesidad tuvieron un mayor porcentaje de metilación de *IRS1* en comparación con los demás grupos. (Tabla 19).

Por el contrario, el IMCE y el porcentaje de metilación de *GLUT4* mostraron una relación estadísticamente significativa ($p=0.030$) (Tabla 20). Se puede observar que los adolescentes con desnutrición tienen un porcentaje de metilación de *GLUT4* más alto en comparación con los demás grupos de composición corporal según IMCE.

Tabla 18. Relación del porcentaje de metilación de *INS* y la clasificación del IMCE de la muestra de estudio.

Clasificación del IMCE	Metilación de <i>INS</i> Mediana	<i>p</i>
Desnutrición	55.5	0.225
Normalidad	51	
Sobrepeso	53.5	
Obesidad	54.5	

Prueba de Kruskal-Wallis

Tabla 19. Relación del porcentaje de metilación de *IRS1* y la clasificación del IMCE de la muestra de estudio.

Clasificación del IMCE	Metilación de <i>IRS1</i>	<i>p</i>
	Mediana	
Desnutrición	46.5	0.377
Normalidad	44	
Sobrepeso	48.5	
Obesidad	48	

Prueba de Kruskal-Wallis

Tabla 20. Relación del porcentaje de metilación de *GLUT4* y la clasificación del IMCE de la muestra de estudio.

Clasificación del IMCE	Metilación de <i>GLUT4</i>	<i>p</i>
	Mediana	
Desnutrición	51	0.030*
Normalidad	45.5	
Sobrepeso	49	
Obesidad	47	

Prueba de Kruskal-Wallis

Valor significativo: * $p < 0.05$

6.6.3 Variables bioquímicas

La variable bioquímica donde se encontró diferencia significativa fue la depleción muscular según recuento de linfocitos totales en sangre y el porcentaje de metilación de *IRS1* ($p=0.049$) (tabla 21). Los adolescentes con normalidad según el recuento linfocitario tienen un mayor nivel de metilación de *IRS1* en comparación con los adolescentes con depleción muscular leve según recuento de linfocitos totales en sangre. Cabe mencionar, que los adolescentes con depleción muscular en cualquiera de sus tres grados presentan un patrón de hipometilación de *IRS1*.

Tabla 21. Relación del porcentaje de metilación de *IRS1* y la depleción muscular según recuento de linfocitos totales en sangre de la muestra de estudio.

Depleción muscular según recuento de linfocitos totales en sangre	Metilación de <i>IRS1</i> Mediana	<i>p</i>
Normal	47	0.049*
Depleción leve	43	
Depleción moderada	42	
Depleción severa	43	

Prueba de Kruskal-Wallis

Valor significativo: * $p < 0.05$

6.6.4 Variables clínicas

La presión sistólica presentó una relación estadísticamente significativa con el patrón de metilación de *INS* ($p=0.029$) (tabla 22). Los adolescentes con un patrón de hipometilación de *INS* presentan un nivel menor de la presión arterial sistólica en comparación con los adolescentes con un patrón de normometilación e hipermetilación de *INS*.

Tabla 22. Relación de la presión arterial sistólica y el patrón de metilación de *INS* de la muestra de estudio.

Patrón de metilación de <i>INS</i>	PAS Mediana	<i>p</i>
Hipometilado	100	0.029*
Normometilado	110	
Hipermetilado	110	

Prueba de Kruskal-Wallis

Valor significativo: * $p < 0.05$

6.6.5 Variables dietéticas

Se presentó una relación estadísticamente significativa entre la frecuencia de consumo de pan blanco y el porcentaje de metilación de *IRS1* ($p=0.036$) (tabla 23). Se observa que los adolescentes que reportaron tener una frecuencia de consumo de pan blanco al menos una vez al mes presentan un mayor porcentaje de metilación de *IRS1* en comparación con los adolescentes que tienen un consumo más bajo de pan blanco o simplemente no lo consumen.

Tabla 23. Relación del porcentaje de metilación de *IRS1* y la frecuencia de consumo del pan blanco de la muestra de estudio.

Frecuencia de consumo de pan blanco	Metilación de <i>IRS1</i>	p
	Mediana	
Nunca	44	0.036*
Al menos 1 vez al mes	49	
Al menos 1 vez a la semana	47	

Prueba de Kruskal-Wallis

Valor significativo: * $p<0.05$

También fue hallada una diferencia significativa entre la frecuencia del consumo de leche y el porcentaje de metilación de *INS* ($p=0.031$) (tabla 24). Observando que los adolescentes que tuvieron una frecuencia de consumo de leche por lo menos una vez al mes tienen nivel mayor de metilación de *INS* en comparación con los adolescentes que tienen un consumo mensual más bajo o no consumen leche durante el mes. Cabe mencionar que la mediana de metilación de *INS* del grupo que no consumen leche durante el mes se encuentra dentro de los estándares del patrón de hipometilación de *INS*.

Tabla 24. Relación del porcentaje de metilación de *INS* y la frecuencia de consumo de leche de la muestra de estudio.

Frecuencia del consumo de leche	Metilación de <i>INS</i> Mediana	<i>p</i>
Nunca	43	0.031*
Al menos 1 vez al mes	58.5	
Al menos 1 vez a la semana	53	

Prueba de Kruskal-Wallis

Valor significativo: * $p < 0.05$

Asimismo, existe una relación estadísticamente significativa entre la frecuencia de consumo de una taza de arroz y el porcentaje de metilación de *INS* ($p=0.039$). Los adolescentes no consumen una taza de arroz durante el mes tienen una mediana del porcentaje de metilación mayor en comparación con los demás grupos de frecuencia de consumo, valor que puede determinarse como un patrón de hipermetilación de *INS*.

Tabla 25. Relación del porcentaje de metilación de *INS* y la frecuencia de consumo de una taza de arroz de la muestra de estudio.

Frecuencia del consumo de una taza de arroz	Metilación de <i>INS</i> Mediana	<i>p</i>
Nunca	65	0.039*
Al menos 1 vez al mes	55	
Al menos 1 vez a la semana	54	
Diario	53	

Prueba de Kruskal-Wallis

Valor significativo: * $p < 0.050$

6.7 Riesgo epigenético de DMT2 según las variables sociodemográficas, antropométricas, bioquímicas, clínicas y dietéticas de estudio.

6.7.1 Patrón de metilación de riesgo de DMT2 del biomarcador *INS*.

Referente a las variables sociodemográficas, la posibilidad de presentar el patrón de metilación de riesgo de DMT2 de *INS* es 7.3 veces mayor en los adolescentes que fumaron durante más de un día un cigarro ($p=0.045$) (tabla 26). También se encontró que la posibilidad de presentar el patrón de metilación de riesgo de DMT2 de *INS* es 7.5 veces mayor en los adolescentes que realizan actividad física durante menos de 30 minutos en comparación con los adolescentes que realizan actividad física durante 60 minutos o más tiempo ($p=0.025$) (tabla 26). Una observación interesante de los OR de la actividad física es a diferencia de los *IRS1* y *GLUT4*, realizar algún tipo de actividad física durante menos de hora por 3 días de la semana tiene la posibilidad de presentar el patrón de metilación de riesgo de DMT2, es decir es necesario realizar actividad física diariamente durante más de una hora para no presentar el patrón de metilación de riesgo de DMT2 en el caso de *INS*.

6.7.2 Patrón de metilación de riesgo de DMT2 del biomarcador *IRS1*.

Los resultados de las variables sociodemográficas indican que la posibilidad de tener el patrón de metilación de riesgo de DMT2 de *IRS1* es 8.7 veces mayor en los adolescentes que tuvieron antecedentes familiares de diabetes mellitus tipo 2 en algún familiar de primer grado en comparación con los adolescentes que no tuvieron antecedentes familiares de DMT2 ($p=0.035$) (tabla 26). También se encontró una asociación entre el tiempo de actividad física y el patrón de metilación de riesgo de DMT2 de *IRS1*, que determina que la posibilidad de presentar el patrón de metilación de riesgo de DMT2 de *IRS1* es 0.1 veces en los adolescentes que realizan actividad física durante 60 minutos, siendo este factor protector en comparación con los adolescentes que realizan actividad física por menos de 60 minutos ($p=0.040$) (tabla 26). En cuanto a la alimentación, la posibilidad de tener el patrón de metilación de riesgo de DMT2 de *IRS1* es 6.1 veces mayor en los adolescentes que tienen un consumo semanal de un plato de mole en comparación con los adolescentes cuyo consumo de este alimento es mensual ($p=0.018$) (tabla 26).

6.7.3 Patrón de metilación de riesgo de DMT2 del biomarcador *GLUT4*

Referente a los indicadores antropométricos, la posibilidad de tener el patrón de metilación de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 de *GLUT4* es 0.1 veces en los adolescentes con obesidad en comparación con los adolescentes que tienen normalidad según IMCE ($p=0.044$) (tabla 26), este resultado puede explicarse porque la obesidad tiene relación con la hipermetilación de *GLUT4*.

En cuanto a los indicadores dietéticos, la posibilidad de tener el patrón de metilación de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 de *GLUT4* es 7.2 veces mayor en los adolescentes que tienen un consumo semanal de pan blanco en comparación con los adolescentes que tienen un consumo mensual de este alimento ($p=0.018$) (tabla 26). También se observó que la posibilidad de tener el patrón de metilación de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 de *GLUT4* es de 0.2 veces en los adolescentes que consumen mensualmente huevo en comparación con los adolescentes que consumen semanalmente este alimento ($p=0.036$) (tabla 26), por lo que el consumo esporádico de huevo es considerado un factor protector.

Tabla 26. Razón de momios del patrón de metilación de riesgo de DMT2 de los genes *INS*, *IRS1*, *GLUT4* y las variables sociodemográficas, antropométricas, bioquímicas, clínicas y dietéticas de la muestra de estudio.

Gen	Variable Categoría/referencia	OR (95%IC)	Valor p
Sociodemográficas			
-Forma de nacimiento			
<i>INS</i>	Cesárea/Parto	5.4 (0.5-59)	0.135
<i>IRS1</i>	Cesárea/Parto	1.2 (0.3-5.9)	0.784
<i>GLUT4</i>	Cesárea/Parto	4.5 (0.9-23.7)	0.061
-Alimentación de primera infancia			
<i>INS</i>	Lactancia materna y fórmula láctea/ Lactancia materna exclusiva	3.6 (0.5-25.6)	0.201
<i>IRS1</i>	Lactancia materna y fórmula láctea/ Lactancia materna exclusiva	0.4 (0.1-2.6)	0.354

Gen	Variable Categoría/referencia	OR (95%IC)	Valor p
<i>GLUT4</i>	Lactancia materna y fórmula láctea/ Lactancia materna exclusiva -Antecedentes familiares de diabetes mellitus	0.6 (0.1-3.4)	0.512
<i>INS</i>	Con antecedentes familiares de DMT2/ Sin antecedentes familiares de DMT2	0.3 (0.03-3.7)	0.342
<i>IRS1</i>	Con antecedentes familiares de DMT2/ Sin antecedentes familiares de DMT2	8.7 (0.9-88.7)	0.035*
<i>GLUT4</i>	Con antecedentes familiares de DMT2/ Sin antecedentes familiares de DMT2 - Antecedentes familiares de obesidad	0.5 (0.1-2.3)	0.335
<i>INS</i>	Con antecedentes familiares de obesidad/ Sin antecedentes familiares de obesidad	1.2 (0.1-14.2)	0.886
<i>IRS1</i>	Con antecedentes familiares de obesidad/ Sin antecedentes familiares de obesidad	2.1 (0.3-16)	0.473
<i>GLUT4</i>	Con antecedentes familiares de obesidad/ Sin antecedentes familiares de obesidad - Antecedentes familiares de hipertensión arterial	-	-
<i>INS</i>	Con antecedentes familiares de hipertensión arterial/ Sin antecedentes familiares de hipertensión arterial	-	-
<i>IRS1</i>	Con antecedentes familiares de hipertensión arterial/ Sin antecedentes familiares de hipertensión arterial	0.7 (0.1-4.8)	0.768
<i>GLUT4</i>	Con antecedentes familiares de hipertensión arterial/ Sin antecedentes familiares de hipertensión arterial - Antecedentes familiares de cardiopatías	-	-

Gen	Variable Categoría/referencia	OR (95%IC)	Valor p
<i>INS</i>	Con antecedentes familiares de cardiopatías / Sin antecedentes familiares de cardiopatías	1.3 (0.1-14.9)	0.853
<i>IRS1</i>	Con antecedentes familiares de cardiopatías / Sin antecedentes familiares de cardiopatías	0.7 (0.6-7.3)	0.743
<i>GLUT4</i>	Con antecedentes familiares de cardiopatías / Sin antecedentes familiares de cardiopatías	0.4 (0.03-3.5)	0.338
	-Fumadores		
<i>INS</i>	Fumadores/ No fumadores	2.3 (0.3-15.3)	0.421
<i>IRS1</i>	Fumadores/ No fumadores	1 (0.2-5.7)	0.963
<i>GLUT4</i>	Fumadores/ No fumadores	1 (0.2-5.7)	0.963
	-Días que fumaron un cigarro		
<i>INS</i>	Más de un día/ Ningún día	7.3 (1.1-49)	0.045*
<i>IRS1</i>	Más de un día/ Ningún día	1.2 (0.2-7.4)	0.846
<i>GLUT4</i>	Más de un día/ Ningún día	1.2 (0.2-7.4)	0.846
	-Actividad física según recomendación de la OMS para adolescentes		
<i>INS</i>	Sedentario /Físicamente activo	5 (0.5-46.3)	0.105
<i>IRS1</i>	Sedentario /Físicamente activo	0.6 (0.1-2.5)	0.459
<i>GLUT4</i>	Sedentario /Físicamente activo	1 (0.2-4.3)	1.000
	-Tiempo de actividad física		
<i>INS</i>	<60 minutos/≥ 60 minutos	3 (0.6-16.3)	0.186
<i>IRS1</i>	<60 minutos/≥ 60 minutos	0.1 (0.02-1.3)	0.040*
<i>GLUT4</i>	<60 minutos/≥ 60 minutos	0.4 (0.1-2.1)	0.236
	-Tiempo de actividad física		
<i>INS</i>	<30 minutos/≥ 60 minutos	7.5 (1.3-44)	0.025*
<i>IRS1</i>	<30 minutos/≥ 60 minutos	0.3 (0.03-2.8)	0.244
<i>GLUT4</i>	<30 minutos/≥ 60 minutos	0.8 (0.1-4.8)	0.825
	-Frecuencia de actividad física		
<i>INS</i>	<2 días/≥3 días	2.4 (0.4-15)	0.336
<i>IRS1</i>	<2 días/≥3 días	0.6 (0.5-2.7)	0.521

Gen	Variable Categoría/referencia	OR (95%IC)	Valor p
<i>GLUT4</i>	<2 días/≥3 días -Frecuencia de actividad física	1.1 (0.3-4.5)	0.925
<i>INS</i>	≤3 días/diario	4.2 (0.4-39.7)	0.166
<i>IRS1</i>	≤3 días/diario	0.6 (0.1-2.6)	0.506
<i>GLUT4</i>	≤3 días/diario	1.1 (0.2-4.6)	0.939
Antropométricos			
-Clasificación del IMCE			
<i>INS</i>	Desnutrición/Normalidad	0.3 (0.02-3.1)	0.255
<i>IRS1</i>	Desnutrición/Normalidad	-	-
<i>GLUT4</i>	Desnutrición/Normalidad	-	-
<i>INS</i>	Sobrepeso/Normalidad	-	-
<i>IRS1</i>	Sobrepeso/Normalidad	-	-
<i>GLUT4</i>	Sobrepeso/Normalidad	0.7 (0.1-3.9)	0.653
<i>INS</i>	Obesidad/Normalidad	1 (0.1-6.8)	1.000
<i>IRS1</i>	Obesidad/Normalidad	-	-
<i>GLUT4</i>	Obesidad/Normalidad	0.1 (0.1-1.2)	0.044*
<i>INS</i>	Sobrepeso y Obesidad/Normalidad	0.4 (0.1-2.6)	0.343
<i>IRS1</i>	Sobrepeso y Obesidad/Normalidad	-	-
<i>GLUT4</i>	Sobrepeso y Obesidad/Normalidad	0.3 (0.1-1.7)	0.176
-Riesgo cardiovascular según perímetro de cintura de acuerdo con la edad cardiovascular			
<i>INS</i>	Con riesgo cardiovascular/Sin riesgo cardiovascular	2.9 (0.4-20.3)	0.302
<i>IRS1</i>	Con riesgo cardiovascular/Sin riesgo cardiovascular	1.6 (0.3-10.6)	0.618
<i>GLUT4</i>	Con riesgo cardiovascular/Sin riesgo cardiovascular	-	-
-Riesgo cardiometabólico según índice cintura-talla (PcT) cardiometabólico			
<i>INS</i>	Con riesgo cardiometabólico/Sin riesgo cardiometabólico	1.7 (0.3-9.2)	0.527
<i>IRS1</i>	Con riesgo cardiometabólico/Sin riesgo cardiometabólico	1.6 (0.4-6.9)	0.563

Gen	Variable Categoría/referencia	OR (95%IC)	Valor p
<i>GLUT4</i>	Con riesgo cardiometabólico/Sin riesgo cardiometabólico	0.9 (0.2-4)	0.845
Bioquímicos			
-Recuento de glóbulos rojos (RBC)			
<i>INS</i>	Alto/Normal	2.3 (0.2-30.1)	0.534
<i>IRS1</i>	Alto/Normal	-	-
<i>GLUT4</i>	Alto/Normal	1.4 (0.1-17.2)	0.801
-Depleción muscular según recuento de linfocitos totales en sangre			
<i>INS</i>	Depleción muscular/Normal	0.4 (0.04-3.3)	0.317
<i>IRS1</i>	Depleción muscular/Normal	0.6 (0.1-3.7)	0.604
<i>GLUT4</i>	Depleción muscular/Normal	0.5 (0.1-3)	0.456
Clínicos			
-Presión arterial			
<i>INS</i>	Con riesgo de prehipertensión arterial/Sin riesgo de prehipertensión arterial	1.5 (0.2-9.4)	0.679
<i>IRS1</i>	Con riesgo de prehipertensión arterial/Sin riesgo de prehipertensión arterial	0.3 (0.03-2.8)	0.244
<i>GLUT4</i>	Con riesgo de prehipertensión arterial/Sin riesgo de prehipertensión arterial	1.7 (0.3-8.7)	0.521
Dietéticos			
-Ingesta de agua por día			
<i>INS</i>	Menos de un litro/ Más de un litro	1.1 (0.2-6.6)	0.927
<i>IRS1</i>	Menos de un litro/ Más de un litro	0.3 (0.1-1.4)	0.121
<i>GLUT4</i>	Menos de un litro/ Más de un litro	1 (0.2-4.8)	1.000
Grupo de verduras y frutas			
-Consumo de verduras crudas			
<i>INS</i>	Mensual/ Diario	1.1 (0.2-6.9)	0.888
<i>IRS1</i>	Mensual/ Diario	0.6 (0.1-2.6)	0.470
<i>GLUT4</i>	Mensual/ Diario	0.6 (0.1-2.6)	0.470

Gen	Variable Categoría/referencia	OR (95%IC)	Valor p
<hr/>			
-Consumo de verduras cocidas			
<i>INS</i>	Mensual/ Diario	2 (0.2-19.2)	0.525
<i>IRS1</i>	Mensual/ Diario	0.7 (0.1-3.1)	0.555
<i>GLUT4</i>	Mensual/ Diario	0.7 (0.1-3-1)	0.555
-Consumo de verduras verdes			
<i>INS</i>	Mensual/ Diario	4.7 (0.5-43.4)	0.124
<i>IRS1</i>	Mensual/ Diario	0.5 (0.1-2.3)	0.388
<i>GLUT4</i>	Mensual/ Diario	0.3 (0.1-1.3)	0.108
-Consumo de salsa cruda			
<i>INS</i>	Mensual/ Diario	1.1 (0.2-6.9)	0.888
<i>IRS1</i>	Mensual/ Diario	2.1 (0.4-11.9)	0.379
<i>GLUT4</i>	Mensual/ Diario	0.6 (0.1-2.6)	0.470
-Consumo de salsa cocida			
<i>INS</i>	Mensual/ Diario	1.1 (0.2-6.9)	0.888
<i>IRS1</i>	Mensual/ Diario	1.1 (0.2-5)	0.951
<i>GLUT4</i>	Mensual/ Diario	1.1 (0.2-5)	0.951
-Consumo de una pieza de fruta			
<i>INS</i>	Mensual/ Diario	1.7 (0.3-10.2)	0.546
<i>IRS1</i>	Mensual/ Diario	0.9 (0.2-4)	0.908
<i>GLUT4</i>	Mensual/ Diario	0.3 (0.1-1.3)	0.108
Grupo de cereales			
-Consumo de una pieza de tortilla			
<i>INS</i>	Mensual/Semanal	0.7 (0.1-6.9)	0.749
<i>IRS1</i>	Mensual/Semanal	-	-
<i>GLUT4</i>	Mensual/Semanal	0.5 (0.1-4.5)	0.498
-Consumo de una taza de arroz			
<i>INS</i>	Mensual/Semanal	2.7 (0.5-14.9)	0.269
<i>IRS1</i>	Mensual/Semanal	0.7 (0.1-3.7)	0.630
<i>GLUT4</i>	Mensual/Semanal	0.7 (0.1-3.7)	0.630
-Consumo de pan blanco			
<i>INS</i>	Semanal/Mensual	0.3 (0.03-3.2)	0.288
<i>IRS1</i>	Semanal/Mensual	2.4 (0.4-12.5)	0.290

Gen	Variable Categoría/referencia	OR (95%IC)	Valor p
<i>GLUT4</i>	Semanal/Mensual -Consumo de pan integral	7.2 (1.3-39.6)	0.018*
<i>INS</i>	Semanal/Mensual	0.8 (0.1-8.5)	0.851
<i>IRS1</i>	Semanal/Mensual	4 (0.6-26.1)	0.151
<i>GLUT4</i>	Semanal/Mensual -Consumo de antojitos	4 (0.6-26.1)	0.151
<i>INS</i>	Semanal/Mensual	0.2 (0.04-1.4)	0.099
<i>IRS1</i>	Semanal/Mensual	1.2 (0.3-5.3)	0.790
<i>GLUT4</i>	Semanal/Mensual -Consumo de postre o rebanada de pastel	1.2 (0.3-5.3)	0.790
<i>INS</i>	Semanal/Mensual	0.8 (0.2-4.2)	0.793
<i>IRS1</i>	Semanal/Mensual	0.9 (0.2-3.9)	0.908
<i>GLUT4</i>	Semanal/Mensual -Consumo de una taza de frituras	0.9 (0.2-3.9)	0.908
<i>INS</i>	Semanal/Mensual	0.5 (0.1-2.7)	0.426
<i>IRS1</i>	Semanal/Mensual	1.2 (0.3-5.3)	0.790
<i>GLUT4</i>	Semanal/Mensual Grupo de leguminosas -Consumo de una taza de frijoles	2.2 (0.5-10.1)	0.308
<i>INS</i>	Mensual/Semanal	0.6 (0.1-3.5)	0.546
<i>IRS1</i>	Mensual/Semanal	1.9 (0.4-8.2)	0.388
<i>GLUT4</i>	Mensual/Semanal -Consumo de una taza lentejas	1.1 (0.3-4.7)	0.908
<i>INS</i>	Mensual/Semanal	3.7 (0.6-21.8)	0.135
<i>IRS1</i>	Mensual/Semanal	0.7 (0.2-3.1)	0.650
<i>GLUT4</i>	Mensual/Semanal Grupo de alimentos de origen animal -Consumo de carne de pollo	0.7 (0.2-3.1)	0.650
<i>INS</i>	Mensual/Semanal	3.1 (0.3-30.8)	0.288
<i>IRS1</i>	Mensual/Semanal	0.8 (0.2-4.4)	0.831
<i>GLUT4</i>	Mensual/Semanal -Consumo de carne de res	0.5 (0.1-2.7)	0.458

Gen	Variable Categoría/referencia	OR (95%IC)	Valor p
<i>INS</i>	Mensual/Semanal	1.5 (0.1-15.5)	0.726
<i>IRS1</i>	Mensual/Semanal	0.8 (0.1-5.2)	0.807
<i>GLUT4</i>	Mensual/Semanal	0.4 (0.1-2.4)	0.340
	-Consumo de carne de cerdo		
<i>INS</i>	Mensual/Semanal	1.6 (0.2-16.3)	0.692
<i>IRS1</i>	Mensual/Semanal	0.8 (0.1-5.5)	0.851
<i>GLUT4</i>	Mensual/Semanal	0.4 (0.1-2.6)	0.372
	-Consumo de huevo		
<i>INS</i>	Mensual/Semanal	2.2 (0.2-22.2)	0.470
<i>IRS1</i>	Mensual/Semanal	0.6 (0.1-3.1)	0.504
<i>GLUT4</i>	Mensual/Semanal	0.2 (0.03-0.9)	0.036*
	Grupo de lácteos		
	-Consumo de queso		
<i>INS</i>	Mensual/Semanal	1.2 (0.1-12.6)	0.883
<i>IRS1</i>	Mensual/Semanal	0.6 (0.1-4.1)	0.610
<i>GLUT4</i>	Mensual/Semanal	0.3 (0.1-1.9)	0.204
	-Consumo de leche		
<i>INS</i>	Mensual/Semanal	4 (0.7-26.1)	0.151
<i>IRS1</i>	Mensual/Semanal	-	-
<i>GLUT4</i>	Mensual/Semanal	1.7 (0.3-9.4)	0.546
	Grupo de azúcares		
	-Consumo de una cucharadita de azúcar		
<i>INS</i>	Semanal/Mensual	0.9 (0.2-5.1)	0.964
<i>IRS1</i>	Semanal/Mensual	0.6(0.2-2.8)	0.557
<i>GLUT4</i>	Semanal/Mensual	2 (0.4-9.5)	0.360
	-Consumo de un plato de mole		
<i>INS</i>	Semanal/Mensual	0.6 (0.1-3.5)	0.546
<i>IRS1</i>	Semanal/Mensual	6.1 (1.3-29.7)	0.018*
<i>GLUT4</i>	Semanal/Mensual	1.9 (0.4-8.2)	0.388
	-Consumo de un vaso de agua de fruta		
<i>INS</i>	Semanal/Mensual	1.3 (0.2-7.9)	0.766
<i>IRS1</i>	Semanal/Mensual	2.4 (0.4-13.7)	0.285

Gen	Variable Categoría/referencia	OR (95%IC)	Valor p
<i>GLUT4</i>	Semanal/Mensual -Consumo de una taza de café	2.4 (0.4-13.7)	0.285
<i>INS</i>	Mensual/Semanal	1.6 (0.3-8.5)	0.566
<i>IRS1</i>	Mensual/Semanal	2.4 (0.4-13.7)	0.351
<i>GLUT4</i>	Mensual/Semanal -Consumo de un vaso de refresco	2.4 (0.4-13.7)	0.351
<i>INS</i>	Semanal/ Mensual	0.3 (0.1-1.6)	0.166
<i>IRS1</i>	Semanal/ Mensual	2.5 (0.4-14.5)	0.255
<i>GLUT4</i>	Semanal/ Mensual -Ingesta de azúcar proveniente de refresco	2.5 (0.4-14.5)	0.255
<i>INS</i>	>50 g./ <50 g.	0.4 (0.1-4.2)	0.450
<i>IRS1</i>	>50 g./ <50 g.	1.4 (0.3-6.9)	0.677
<i>GLUT4</i>	>50 g./ <50 g. Grupo bebidas alcohólicas -Ingesta de alcohol	1.4 (0.3-6.9)	0.677
<i>INS</i>	Consume alcohol/ No consume alcohol	1 (0.1-7.1)	1.000
<i>IRS1</i>	Consume alcohol/ No consume alcohol	1 (0.2-7.1)	1.000
<i>GLUT4</i>	Consume alcohol/ No consume alcohol	0.4 (0.1-2.4)	0.301

OR, odd ratios; IC, intervalo de confianza; *Valor significativo, $p < 0.05$.

6.8 Modelo de riesgo aditivo de los genes *INS*, *IRS1* y *GLUT4*.

El modelo de la interacción entre los diferentes patrones de metilación de los genes *GLUT4* e *INS* y las categorías de desnutrición, sobrepeso y obesidad del IMCE tiene una precisión del 82%, una significancia de $p=0.0004$ y una validación cruzada de 9/10. (Tabla 27). Este modelo aditivo de riesgo determinó que los individuos que presenten un patrón de metilación de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 en dos genes simultáneamente con una categoría de malnutrición del índice de masa corporal para la edad tienen 20 veces más riesgo de diabetes mellitus tipo 2.

Asimismo, se encontró que la combinación de los diferentes patrones de metilación de los genes *GLUT4*, *INS* e *IRS1* conjuntamente con las categorías de desnutrición, sobrepeso y obesidad del IMCE tiene una precisión del 83%, una significancia de

$p=0.0001$ y una validación cruzada de 10/10. (Tabla 27). El riesgo aditivo de este modelo indica que los individuos que tengan un patrón de metilación de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 en los tres genes de estudio conjuntamente con una categoría de malnutrición del índice de masa corporal para la edad tienen 28 veces más riesgo de diabetes mellitus tipo 2.

Tabla 27. Estimación de OR-multivariada de las interacciones genéticas de los genes biomarcadores de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 por clasificación del IMCE.

Nº de patrones de metilación de riesgo de DMT2	Modelos	Prueba de precisión equilibrada	CVC	OR-MDR	IC 95%	Valor p de la prueba de X^2
2	<i>GLUT4-INS</i>	0.815	9/10	20.1	(3.0-134.1)	0.0004***
3	<i>GLUT4-INS-IRS1</i>	0.833	10/10	28.0	(3.9-202.3)	0.0001***

Abreviaturas: CVC, constancia de validación cruzada; OR-MDR, odd ratio-reducción de dimensionalidad multifactorial; IC 95%, intervalo de confianza del 95%.

*Valores significativos.

6.8.2 Entropía genética.

El análisis de la entropía de la interacción de los genes y el factor ambiental, se refiere a cuanta entropía en el estado de los casos y controles se elimina al considerar el metiloma. El gráfico presente visualiza una fuerte interacción entre el gen *INS* e *IRS1*, ya que la distancia de la línea que los conecta es corta y el color azul de esta línea indica correlación entre estos dos genes. (Figura 8).

Asimismo, se muestra que ninguno de los tres genes funciona de manera independiente, los genes *INS* e *IRS1* están funcionando de manera conjunta, es decir, si uno tiene un defecto el otro actúa de forma compensatoria, también, actúan sinérgicamente pudiendo actuar al mismo tiempo, mientras que *GLUT4* depende de la acción de los dos genes. Estas interacciones encontradas con el análisis de MDR

apoyan la explicación biológica de los tres genes biomarcadores de riesgo de diabetes mellitus tipo 2, ya que las proteínas INS, IRS1 y GLUT4 participan en la vía de señalización canónica de la insulina, donde INS e IRS1 están funcionando de manera conjunta desencadenando la cascada de señalización que permite a GLUT4 ejercer su función.

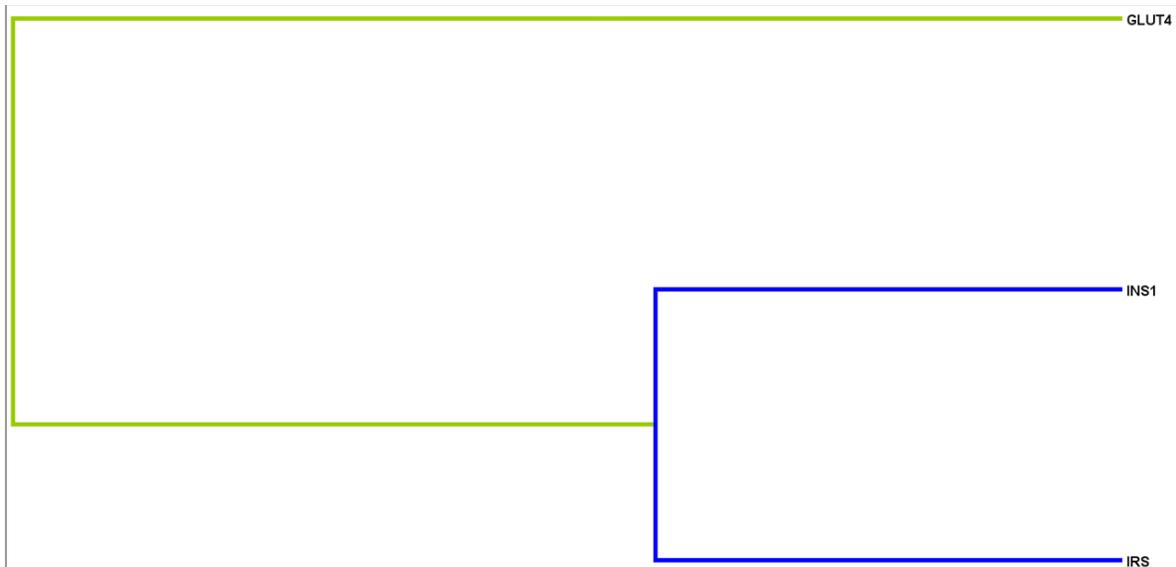


Figura 8. Entropía genética de los biomarcadores de riesgo de diabetes mellitus tipo 2: *INS*, *IRS1* y *GLUT4*.

7.DISCUSIÓN.

La forma de nacimiento más común entre los adolescentes de estudio fue el parto cuya prevalencia (59.4%) es levemente superior a la prevalencia de nacimiento por parto del estado de Morelos. La lactancia materna exclusiva fue la forma de alimentación de primera infancia más predominante, lo que confiere protección frente a las enfermedades crónicas no transmisibles incluyendo la diabetes mellitus tipo 2. Cerca de la mitad de los adolescentes que conforman la muestra de estudio tiene algún familiar de primer grado con diabetes mellitus tipo 2.

La prevalencia de fumadores en este estudio fue del 20.5% cidra que es menor a la encontrada en un estudio realizado en 490 estudiantes de un Colegio de Bachilleres de Morelos en el que se informó que la prevalencia de fumadores fue del 27.3%

siendo las edades donde existió mayor número de adolescentes fumadores entre 14 y 15 años ^[83].

Por otro lado, la prevalencia de los adolescentes que beben alcohol es del 40% siendo este valor más bajo a la prevalencia de consumo de alcohol de los adolescentes mexicanos del 2010, el cual corresponde al 59% ^[84].

Respecto a la actividad física, los adolescentes de estudio que siguen la recomendación de la OMS sobre actividad física conforman el 40%, comparando esta frecuencia con la informada por la ENSANUT de medio camino 2016 es mucho menor que corresponde al 60.5% de los adolescentes a nivel nacional. La mayoría de los adolescentes que realizaron actividad física fueron hombres, información que coincide con la información de la ENSANUT de medio camino 2016 ^[14]. La actividad física es un factor que previamente ha sido reportado como factor protector contra la DMT2, en este proyecto se encontró que para modificar el riesgo de presentar el patrón de metilación de riesgo de DMT2 de *INS* es necesario realizar actividad física por más de una hora diariamente a diferencia de los resultados de *IRS1* y *GLUT4* los cuales son sensibles a cambios en el riesgo de presentar este tipo de patrón cuando se realiza actividad física por 30 minutos durante 3 días a la semana, este hallazgo puede explicarse porque *IRS1* y *GLUT4* se expresan ampliamente en el tejido muscular y adiposo ^[63,67].

En cuanto a la composición corporal, la prevalencia de sobrepeso y obesidad combinada de ambos sexos de la población estudiantil de la secundaria de Huitzilac corresponde a 34.9% mientras que la prevalencia de sobrepeso y obesidad combinada a nivel nacional para este grupo etario es del 36.3% proporción que muy similar a la reportada en este proyecto ^[14]. Encontramos que la mayoría de los adolescentes con sobrepeso ocurrió en los hombres con el 15.8% contra el 11.8% de las mujeres, en cambio, a nivel nacional, las mujeres tuvieron la mayor prevalencia con el 26.4% ^[14]. Por otro lado, la prevalencia de obesidad de la población estudiantil de Huitzilac fue del 7.2%, esta prevalencia es menor a la reportada a nivel nacional la cual corresponde al 12.8% ^[14]. La mayoría de los adolescentes con obesidad fueron mujeres con una prevalencia del 3.9% frente al 3.3% de los hombres, por lo que no se observó gran diferencia por sexo.

Por lo que podemos observar, el 41.4% de la población estudiantil de la secundaria de Huitzilac tiene un problema de malnutrición, observando en esto resultados la paradoja de la composición corporal que se observa en el país, ya que tenemos ambos extremos de los problemas nutricionales: desnutrición y obesidad. Respecto con los resultados de metilación del DNA de los genes de estudio, se encontró una relación estadísticamente significativa entre la desnutrición según IMCE y la mediana del porcentaje de metilación de *GLUT4* en comparación con el grupo de normalidad, resultado que esperaba encontrarse debido a la teoría de Barker y a que la máxima expresión de este gen tiene lugar en el tejido muscular. También porque el tejido muscular ejerce un efecto regulador en la síntesis y liberación de la insulina, el deterioro muscular está relacionado con una menor capacidad mitocondrial oxidativa y anaplerótica, lo que lleva a un aumento de lípidos intracelulares con efectos perjudiciales sobre la señalización de la insulina y el metabolismo de glucosa [31].

Las diferencias encontradas entre las prevalencias de adolescentes con riesgo cardiometabólico según perímetro de cintura de acuerdo con la edad o índice cintura-talla se deben a que el índice PcT posee mayor sensibilidad y especificidad para detectar este tipo de riesgo, al considerar la medición de la talla como punto de comparación personal. También el indicador PcT es ampliamente aceptado para diagnosticar obesidad central y síndrome metabólico en niños y adolescentes [78].

El diagnóstico hematológico más grave sucedió en una mujer adolescente que presenta obesidad central a su vez presentó depleción muscular grave, riesgo cardiometabólico elevado, RBC con niveles bajos e hipometilación de *IRS1*. Los adolescentes que presentaron como diagnóstico hematológico la poliglobulia ocurrió en dos adolescentes hombres de la muestra de estudio uno de ellos presenta desnutrición, no tiene el hábito de fumar e indicó no consumir huevo, carne de res, carne de pollo, queso ni verduras. La otra persona presenta sobrepeso, ha fumado desde los 10 años, tiene riesgo de prehipertensión, tiene un alto consumo de azúcar proveniente de la ingesta de refresco y tiene un patrón de hipometilación de *GLUT4* por tanto mayor riesgo epigenético de DMT2.

La depleción muscular en cualquiera de sus tres grados (leve, moderada o severa) según recuento de linfocitos totales en sangre fue relacionada significativamente con el porcentaje de metilación de *IRS1* encontrando que los adolescentes con depleción muscular tuvieron un patrón de hipometilación. Observación corroborada una prueba de comparación entre grupos, donde los adolescentes con normalidad según recuento linfocitario tienen mayores niveles de metilación de *IRS1* que los adolescentes con depleción leve, siendo estadísticamente significativo. El patrón de metilación de los genes de *IRS1* pueden ser relacionados con los indicadores de la biometría hemática porque la malnutrición puede alterar la estructura de la membrana celular de los glóbulos rojos, el número celular, provoca fragilidad anormal de la membrana y un estado de inmunodepresión por menor cantidad de linfocitos totales. También produce una baja afinidad de los receptores de insulina a los eritrocitos, por lo que acorde a nuestros resultados, es probable se presente un el patrón de hipometilación para expresar más proteínas de *IRS1* como efecto compensatorio ^[85].

El patrón de hipometilación de *INS* tiene relación significativa con una presión arterial sistólica baja, en comparación con los patrones de normalidad y de hipermetilación del gen, sin embargo, hacen falta estudios que esclarezcan el riesgo del patrón de hipermetilación de *INS*.

Referente a la alimentación, los alimentos de mayor frecuencia de consumo en ambos sexos son alimentos de la canasta básica mexicana como la tortilla, el arroz y la leche, seguido por bebidas azucaradas y cereales con grasa. Estos resultados son similares a los encontrados a nivel nacional donde el 80% de los adolescentes consumen bebidas azucaradas y el 60% consume cereales con grasa como frituras y postres ^[14]. La diferencia entre los grupos de alimentos de mayor consumo según sexo radica en que los hombres prefieren un mayor consumo de alimentos ricos en grasas bien sean cereales o azúcares mientras que las mujeres prefieren un mayor consumo de azúcares sin grasa y leguminosas, así como también presentan una menor frecuencia de consumo de carne de distintos animales. En el presente proyecto se encontró un bajo consumo de verduras y frutas, similar a lo reportado a nivel nacional donde el consumo de verduras de los adolescentes evaluados fue del

26.9%^[14]. El consumo mensual de tortilla presenta un menor nivel de metilación de *IRS1* en comparación con el nivel de metilación del grupo de consumo diario, sin embargo, ambos niveles de metilación se consideran de normalidad, siendo esta relación estadísticamente significativa. El no consumo de arroz tiene relación un patrón de hipermetilación de *INS* mientras que el consumo frecuente de arroz a nivel mensual, semanal o diariamente está relacionado con un patrón normal de *INS*, estas asociaciones tuvieron significancia estadística. Los adolescentes que habitúan el consumo semanal de pan blanco tuvieron una mediana de metilación que se cumple con los parámetros del patrón de hipometilación de *GLUT4*, sin embargo, esta relación no fue significativa. Por el contrario, el consumo mensual de pan blanco tiene relación con un mayor nivel de metilación *IRS1*. El consumo mensual de leche presenta un menor nivel de metilación de *IRS1* en comparación con los adolescentes que consumen leche diariamente, existiendo una diferencia estadísticamente significativa. También se observó que no consumir leche se relaciona el patrón de hipometilación del gen *INS*, siendo estadísticamente significativo. Cabe mencionar que se observó que el grupo que consume leche al menos una vez al mes tienen un patrón de hipermetilación, mientras que un consumo más frecuente al menos una vez a la semana tienen niveles de metilación normales. Los adolescentes que informaron tener un consumo semanal de huevo tuvieron una mediana de metilación de *GLUT4* que puede ser considerada como patrón de hipometilación, sin embargo, no tuvo significancia estadística. Una ingesta de azúcar contabilizada de la ingesta de refresco del día anterior a la prueba, se encontró relacionada significativamente con el porcentaje de metilación de *INS* observando una media de metilación mayor en quienes tiene una ingesta menor a 50 gramos de azúcar, sin embargo, ambas medias del porcentaje de metilación se encuentran dentro del patrón normal de *INS*, pero quienes tienen un consumo mayor de 50 gramos presentan como media 51% de metilación el cual es limítrofe para ser determinado como hipometilación del gen *INS*.

La hipermetilación de *INS* se ha relacionado con un incremento del riesgo de DMT2, en una investigación efectuada con pacientes diabéticos, en comparación con los no diabéticos⁴⁵. En el presente estudio se observó el incremento del porcentaje de

metilación en el grupo de desnutrición y obesidad, ambos extremos contrarios del estado nutricional, es bien conocido que la adiposidad central es un factor de riesgo de DMT2, por lo que podemos deducir que este factor ambiental tiene una relación epigenética con la DMT2. Por otro lado, la desnutrición también está asociada con el riesgo de DMT2 en la adultez sobre todo si se presenta en etapas temprana de la vida ⁴⁶. Asimismo, si encontramos un estado de hipermetilación en este gen podría disminuir la vía de señalización de la insulina por fosfatidilinositol-3-cinasa resultado en resistencia a la insulina ^{6,7}, por lo que podemos deducir que nuestros resultados tienen sentido biológico.

En el siguiente caso, *IRS1* es biomarcador de diabetes mellitus tipo 2, también se ha asociado con obesidad puesto que se expresa ampliamente en tejido adiposo ⁴⁷. Se ha descrito que la hipermetilación en este gen es patrón de riesgo de DMT2 ⁴⁸. Sin embargo, en el presente proyecto no se encontró una asociación estadísticamente significativa entre el porcentaje de metilación de *IRS1* y el estado nutricional, nuestros datos obtenidos son similares al porcentaje de metilación en población china sana ⁴⁹. La falta de significancia estadística también puede deberse al tamaño pequeño de la población ya que fueron analizadas 10 muestras de DNA por cada categoría del IMCE, lo cual disminuye el poder estadístico de los resultados, además es muy probable que se haya encontrado la metilación basal del gen *IRS1*.

En el caso del gen *GLUT4* nuestros resultados mostraron menor metilación de en el grupo de obesidad, este hallazgo contrasta con los encontrados en un estudio realizado en 248 mujeres coreanas, donde se analizó el porcentaje de metilación del DNA del promotor del gen *GLUT4* a partir de una muestra sanguínea por MSPCR y el estado nutricional, encontrando que en mujeres con un IMC normal tenían aproximadamente un 18% de metilación, mujeres con sobrepeso el 25% y mujeres con obesidad un 35% mostrando un patrón de hipermetilación relacionado con el incremento del IMC, sin embargo, esta asociación no fue estadísticamente significativa ⁵⁰. Por otra parte, en nuestra investigación se observó un patrón de metilación diferente al del grupo de obesidad, en este caso fue un estado de hipermetilación en el grupo con desnutrición, esto hallazgo es similar a lo observado

en un estudio sobre programación fetal realizado en animales, donde se encontró que la desnutrición materna genera hipermetilación del DNA del promotor del *GLUT4* en las crías, provocando concentraciones séricas de glucosa e insulina más altas las cuales puede mantener un estado de insulinoresistencia en la edad adulta por disminución en la expresión del gen *GLUT4* en el músculo esquelético ⁵¹.

Con respecto a la prevalencia del patrón de metilación de riesgo de diabetes mellitus tipo 2, los más frecuentes fueron los genes *IRS1* y *GLUT4* mostrando igual proporción de frecuencia. Asimismo, en varios los resultados estos dos genes mostraron el mismo número de individuos mostrando dependencia inferencia que es respaldada por el dendograma de interacción de MDR.

Una de las limitaciones del presente estudio es que el actual estatus del patrón de metilación de riesgo de DMT2 es examinado en relación a su nivel actual de exposición de las variables antropométricas, bioquímicas, clínicas y dietéticas, siendo determinado por la frecuencia con que ocurren estos en la población seleccionada. El tamaño de la muestra es pequeño, limitado por la frecuencia con que se presentaron las categorías de desnutrición y obesidad según IMCE en la población de estudio, por esta razón para mitigar el sesgo utilizamos un método de pareo mediante las variables sexo, edad e IMCE, cabe mencionar que varios estudios sobre metilación del DNA de ciertos genes también presentan muestras compuestas por menos de 50 individuos. Asimismo, el tamaño de la muestra según cada variable es distinto debido a que algunos adolescentes participantes no contestaron todas las preguntas. Por lo tanto, siempre se tuvo en consideración el tamaño de la muestra al momento desde el momento de la planeación hasta el procesamiento estadístico, ya que las pruebas estadísticas efectuadas en este proyecto fueron no paramétricas para mitigar el sesgo por el tamaño de la muestra. Por otro lado, la frecuencia de consumo del cuestionario fue acotado debido al tiempo permitido que la dirección de la escuela determinó para la recolección de información con los estudiantes. La frecuencia de consumo permitió presentar el análisis sobre el porcentaje de consumidores de alimentos con base en la frecuencia de consumo mensual, pero no en términos cuantitativos de gramos de alimento consumido. Sin embargo, el análisis estadístico permitió clasificar y analizar la

frecuencia de consumo de los alimentos y bebidas en consumo de riesgo o no riesgo epigenético de los genes biomarcadores de riesgo de DMT2: *INS*, *IRS1* y *GLUT4*. Cabe mencionar que una de la fortaleza del presente estudio radica en la caracterización de los patrones de metilación de los genes biomarcadores de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 *INS*, *IRS1* y *GLUT4* de una muestra de adolescentes mexicanos mediante el método de tratamiento del DNA con bisulfito de sodio, Gold Standard para la determinación de la metilación del DNA de un gen. Asimismo, se aportó un modelo de riesgo aditivo epigenético de diabetes mellitus tipo 2, el cual considera los patrones de interacción entre los patrones de metilación de los tres genes biomarcadores de estudio y el factor de riesgo IMCE. Cabe resaltar, la determinación de la frecuencia de consumo de riesgo epigenético de los genes biomarcadores de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 en la alimentación de una muestra de adolescentes de la región centro de México. Además, los dos cuestionarios empleados en este proyecto se han aplicado durante tres años consecutivos en otras investigaciones, han sido desarrollados y modificados acorde a los factores de riesgo de la población de Morelos. También, determinamos la relación de los patrones de metilación de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 y/o el porcentaje de metilación de los genes biomarcadores *INS*, *IRS1*, *GLUT4* y los distintos indicadores nutricionales de índole antropométrica, bioquímica, clínica y dietética, así como también de algunos factores de riesgo sociodemográficos importantes de diabetes mellitus tipo 2. Estos resultados que son de suma importancia debido a que no existen estudios sobre la asociación o relación de los patrones de metilación de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 de los genes biomarcadores de esta patología *INS*, *IRS1*, *GLUT4* y los indicadores nutricionales en población mexicana.

8. CONCLUSIONES.

Los estudiantes de la secundaria técnica #16 de Huitzilac, Morelos son una población de riesgo de diabetes mellitus tipo 2, debido a la alta frecuencia de al menos un patrón de metilación de riesgo de los genes biomarcadores de riesgo de diabetes mellitus tipo 2, al alto riesgo aditivo por la interacción de los patrones de metilación de riesgo de DMT2 con la desnutrición y la obesidad según el IMCE, la

alta prevalencia de malnutrición observada, la alta prevalencia del sedentarismo, la baja ingesta de verduras verdes y frutas, el alto consumo semanal de azúcar y el hábito de fumar un cigarro.

El patrón de metilación de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 del gen *INS* tiene asociación y relación con el indicador antropométrico índice de masa corporal para la edad, el indicador clínico presión arterial sistólica, el indicador dietético frecuencia de consumo de verduras verdes, de arroz, de leche y de azúcar, las variables sociodemográficas actividad física, tiempo y frecuencia de actividad física y con los días que fumaron un cigarro.

El patrón de metilación de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 del gen *IRS1* tiene relación con el indicador antropométrico índice de masa corporal para la edad, indicador bioquímico recuento de linfocitos totales en sangre, el indicador dietético frecuencia de consumo de tortilla, de leche, de mole y de pan blanco.

El patrón de metilación de riesgo de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 del gen *GLUT4* tiene relación con el indicador antropométrico índice de masa corporal para la edad, perímetro abdominal, con el indicador dietético frecuencia de consumo de pan blanco y de huevo.

Se sugiere realizar estudios epigenéticos sobre los patrones de metilación de biomarcadores de riesgo de diabetes mellitus tipo 2, *INS*, *IRS1*, *GLUT4* y los indicadores nutricionales en una muestra más grande para caracterizar el patrón de metilación de la población mexicana, determinar correlaciones y asociaciones de causalidad entre estas variables, establecer las porciones de riesgo epigenético de diabetes mellitus tipo 2 de los alimentos más consumidos en esta población y determinar su asociación con otros indicadores bioquímicos y clínicos. Puesto que existen diferencias epigenéticas según la etnia, también es importante caracterizar el riesgo de los patrones de hipometilación de *INS* e *IRS1*, así como también del patrón de hipermetilación de *GLUT4* con respecto al riesgo de diabetes mellitus tipo 2 en población mexicana.

9.REFERENCIAS

1. Hannon, T. S., & Arslanian, S. A. *The changing face of diabetes in youth: lessons learned from studies of type 2 diabetes*. Annals of the New York Academy of Sciences. 2015; 1353(1), 113–137. Disponible en: <http://doi.org/10.1111/nyas.12939>
2. International Diabetes Federation. *Diabetes Atlas de la FID*. 2017; (8) 150. Disponible en: www.diabetesatlas.org
3. Rojas, J. et al. *Insulinorresistencia e hiperinsulinemia como factores de riesgo para enfermedad cardiovascular*. Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica. 2008; 45(1), 30-40.
4. Ling, J. C. *Determinants of High Fasting Insulin and Insulin Resistance Among Overweight/Obese Adolescents*. Sci Rep. 2016; 36270 (6) Disponible en: <http://doi.org/10.1038/srep36270>.
5. Kautzky-Willer, A., Harreiter, J., & Pacini, G. *Sex and Gender Differences in Risk, Pathophysiology and Complications of Type 2 Diabetes Mellitus*. Endocrine reviews. 2016; 37(3), 278-316.
6. Gutiérrez Rodelo C. *Mecanismos Moleculares de la Resistencia a la Insulina: Una Actualización*. Gac Med Mex. 2017;153, 214-28.
7. Valdés Ramos, Eduardo, & Camps Arjona, María del C. *Características clínicas y frecuencia de complicaciones crónicas en personas con diabetes mellitus tipo 2 de diagnóstico reciente*. Revista Cubana de Medicina General Integral. 2013; 29(2), 121-131.
Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252013000200003&lng=es&tlng=es.
8. NORMA Oficial Mexicana NOM-043-SSA2-2012, Servicios básicos de salud. Promoción y educación para la salud en materia alimentaria. Criterios para brindar orientación.
9. Urquiaga Inés, Echeverría Guadalupe, Dussailant Catalina, Rigotti Attilio. *Origen, componentes y posibles mecanismos de acción de la dieta mediterránea*. Rev. méd. Chile [Internet]. 2017 Ene [citado 2019 Ene 22]; 145(1): 85-95. Disponible en:

https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872017000100012&lng=es.

10. Prados-Bo A, Gómez-Martínez S, Nova E, Marcos A. El papel de los probióticos en el manejo de la obesidad. *Nutr Hosp*. 2015; 31(Supl. 1):10-18. doi:10.3305/nh.2015.31.sup1.8702.
11. Apovian CM, Okemah J, O'Neil PM. *Body Weight Considerations in the Management of Type 2 Diabetes*. *Adv Ther*. 2019 Jan; 36(1):44-58. PMID: 30465123.
12. Duclos M. *Actividad física en la diabetes tipo 2*. EMC - Tratado de medicina 2018;22(2):1-10 [Artículo E – 3-0815]. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/S1636-5410\(18\)89307-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1636-5410(18)89307-2)
13. Arikoglu, H., Aksoy Hepdogru, M., Erkoç Kaya, D., Asik, A., Ipekci, S. H., & Iscioglu, F. *IRS1 gene polymorphisms Gly972Arg and Ala513Pro are not associated with insulin resistance and type 2 diabetes risk in non-obese Turkish population*. *Meta Gene*, 2, 2014; 579–585. Disponible en: <http://doi.org/10.1016/j.mgene.2014.07.008>
14. Gutiérrez J, Rivera D, Shamah L, et al. Encuesta nacional de salud y nutrición a medio camino 2016. Resultados nacionales. México: Instituto Nacional de Salud Pública, 2016;108.
15. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. [Defunciones generales totales por principales causas de mortalidad, 2014]. México: INEGI; [actualizada en mayo 2016; acceso 17 de junio de 2016]. Disponible en: <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/sisept/Default.aspx?t=mdemo107&s=est&c=23587>
16. Gutiérrez J, Rivera D, Shamah L, et al. *Encuesta nacional de salud y nutrición 2012. Resultados por entidad federativa*. México: Instituto Nacional de Salud Pública, 2012; 59.
17. Marín-Peñalver JJ et al. *Update on the treatment of type 2 diabetes mellitus*. *World J Diabetes*, 2016; 7(17): 354-395.

18. Guzmán-Priego CG y cols. *Glucosa y perfil lipídico en escolares y adolescentes con sobrepeso y obesidad en una comunidad rural del estado de Tabasco, México*. ATEN FAM, 2016;23(4)
19. Investigación de morelos escolares
20. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. [Principales causas de mortalidad por residencia habitual, grupos de edad y sexo del fallecido, 2014]. México: INEGI; [actualizada en mayo 2016; acceso 17 de junio de 2016]. Disponible en: <http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/registros/vitales/mortalidad/tabulados/ConsultaMortalidad.asp>
21. Servicios de Salud de Morelos. Mortalidad 2011. Boletín estadístico n° 15, (agosto de 2013).
22. Hannon, T. S., & Arslanian, S. A. The changing face of diabetes in youth: lessons learned from studies of type 2 diabetes. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2015; 1353(1), 113–137. Disponible en: <http://doi.org/10.1111/nyas.12939>
23. Ebe D'Adamo, Sonia Caprio. Type 2 Diabetes in Youth: Epidemiology and Pathophysiology. *Diabetes Care*. 2011; 34(2): 61–165. doi: 10.2337/dc11-s212
24. Brufani, Claudia & Ciampalini, Paolo & Grossi, Armando & Fiori, Rossana & Fintini, Danilo & Tozzi, Alberto & Cappa, Marco & Barbetti, Fabrizio. (2009). Glucose tolerance status in 510 children and adolescents attending an obesity clinic in Central Italy. *Pediatric diabetes*. 11. 47-54. 10.1111/j.1399-5448.2009.00527.x.
25. Type 2 Diabetes Mellitus in Children Hanna Xu, MD, A 26-week, randomized trial of insulin detemir versus NPH insulin in children and adolescents with type 2 diabetes (iDEAt2)
26. Alejandro, E. U., Gregg, B., Blandino-Rosano, M., Cras-Méneur, C., & Bernal-Mizrachi, E. (2015). Natural history of β -cell adaptation and failure in type 2 diabetes. *Molecular Aspects of Medicine*, 42, 19–41. <http://doi.org/10.1016/j.mam.2014.12.002>

27. Gutiérrez-Pliego et al. *Dietary patterns associated with body mass index (BMI) and lifestyle in Mexican adolescents*. BMC Public Health (2016) 16:850
28. R. Barrera Reyesa, L.A. Fernández Carrocerab. Programación metabólica fetal. *Perinatol Reprod Hum*. 2015;29(3):99-105
29. Patrícia F. Pereira, Rita de Cássia G. Alfenas, Raquel Maria A. Araújo Does breastfeeding influence the risk of developing diabetes mellitus in children? A review of current evidence *Jornal de Pediatria (Versão em Português)*, Volume 90, Issue 1, January–February 2014, Pages 7-15
30. C. Wang, J. Li, H. Xue, Y. Li, J. Huang, J. Mai, J. Chen, J. Cao, X. Wu, D. Guo, L. Yu, D. Gu, Type 2 Diabetes Mellitus incidence in Chinese: contributions of overweight and obesity, *Diabetes Research and Clinical Practice*, 2014 Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2014.09.059>
31. Zoppi, C., Silveira, L., Oliveira, C., Boscherio, A., Curi, R., & Carneiro, E. Insulin release, peripheral insulin resistance and muscle function in protein malnutrition: A role of tricarboxylic acid cycle anaplerosis. *Br. J. Nutr.* 2010: 103(9), 1237-1250. Disponible en: <https://www.cambridge.org/core/journals/british-journal-of-nutrition/article/insulin-release-peripheral-insulin-resistance-and-muscle-function-in-protein-malnutrition-a-role-of-tricarboxylic-acid-cycle-anaplerosis/4033561DDCE102B2DFF7B4EEB71D054F>
32. Apovian CM, Okemah J, O'Neil PM. *Body Weight Considerations in the Management of Type 2 Diabetes*. *Adv Ther.* 2019 Jan; 36(1):44-58. PMID: 30465123.
33. Bellou, V., Belbasis, L., Tzoulaki, I., & Evangelou, E. (2018). Risk factors for type 2 diabetes mellitus: An exposure-wide umbrella review of meta-analyses. *PloS one*, 13(3), e0194127. doi:10.1371/journal.pone.0194127
34. Guerrero-Romero, F., & Rodríguez-Moran, M. (2012). Metabolically obese normal-weight children. *World journal of clinical pediatrics*, 1(4), 37-9. doi:10.5409/wjcp.v1.i4.37

35. Thiering E, Heinrich J. Epidemiology of air pollution and diabetes. *Trends Endocrinol Metab.* 2015 Jul;26(7):384-94. doi: 10.1016/j.tem.2015.05.002.
36. Hackett RA. Type 2 diabetes mellitus and psychological stress - a modifiable risk factor. *Nat Rev Endocrinol.* 2017;13(9):547-560. doi: 10.1038/nrendo.2017.64.
37. de la Cerda Ojeda F, Herrero Hernando C. Hipertensión arterial en niños y adolescentes. *Protoc diagn ter pediatr.* 2014; 1:171-89
38. Bellou, V., Belbasis, L., Tzoulaki, I., & Evangelou, E. (2018). Risk factors for type 2 diabetes mellitus: An exposure-wide umbrella review of meta-analyses. *PloS one*, 13(3), e0194127. doi:10.1371/journal.pone.0194127
39. Risk Factors and Implications of Childhood Obesity Susann Weihrauch-Blüher
40. Height at Ages 7–13 Years in Relation to Developing Type 2 Diabetes Throughout Adult Life Lise G. Bjerregaard
41. Temboury Molina M.C. Desarrollo puberal normal: Pubertad precoz. *Rev Pediatr Aten Primaria [Internet].* 2009 Oct [citado 2018 Nov 30] ; 11(Suppl 16): 127-142. Disponible en:
http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1139-76322009000600002&lng=es.
42. Koskinen, J., Magnussen, C. G., Sinaiko, A., Woo, J., Urbina, E., Jacobs, D. R., Steinberger, J., Prineas, R., Sabin, M. A., Burns, T., Berenson, G., Bazzano, L., Venn, A., Viikari, J., Hutri-Kähönen, N., Raitakari, O., Dwyer, T., ... Juonala, M. (2017). Childhood Age and Associations Between Childhood Metabolic Syndrome and Adult Risk for Metabolic Syndrome, Type 2 Diabetes Mellitus and Carotid Intima Media Thickness: The International Childhood Cardiovascular Cohort Consortium. *Journal of the American Heart Association*, 6(8), e005632. doi:10.1161/JAHA.117.005632
43. Kautzky-Willer, A., Harreiter, J., & Pacini, G. (2016). Sex and Gender Differences in Risk, Pathophysiology and Complications of Type 2 Diabetes Mellitus. *Endocrine reviews*, 37(3), 278-316.

44. Bellou, V., Belbasis, L., Tzoulaki, I., & Evangelou, E. (2018). Risk factors for type 2 diabetes mellitus: An exposure-wide umbrella review of meta-analyses. *PloS one*, 13(3), e0194127. doi:10.1371/journal.pone.0194127
45. Prevalence and Changes in Preexisting Diabetes and Gestational Diabetes Among Women Who Had a Live Birth — United States, 2012–2016
46. Methyl nutrients, DNA methylation, and cardiovascular disease
47. Ganguly P, Alam SF. Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease. *Nutr J*. 2015;14:6. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4326479/>
48. Reig, German, & Concha, Miguel L. (2012). Impronta Genómica y Desarrollo Embrionario. *International Journal of Morphology*, 30(4), 1453-1457. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022012000400029>
49. Barker DJ.P. *The fetal and infant origins of adult disease*.1990; (301)
50. Ganguly, P., & Alam, S. F. (2015). Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease. *Nutrition journal*, 14, 6. doi:10.1186/1475-2891-14-6
51. Homocysteine-Induced Endothelial Dysfunction Wai Keung Christopher Lai
52. Merlo, Héctor Claudio, & De Paula, Silvia Mónica. (2017). Pruebas bioquímicas para el diagnóstico de anemia megaloblástica. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*, 51(3), 349-359. Recuperado en 28 de octubre de 2018, de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572017000300010&lng=es&tlng=es.
53. perspectiva de sx de down
54. Effect of homocysteine on pregnancy: A systematic review
55. Vitaminas B y homocisteína en la insuficiencia renal crónica C. Sánchez; Association between percent decline in serum total homocysteine and risk of first stroke
56. Implication of homocysteine in diabetes and impact of folate and vitamin B12 in diabetic population M. Tahir Mursleen
57. Harper, estudio folato 1999

58. Reyes-Hernández, et al. *Folatos: su síntesis, metabolismo, transporte y papel en el desarrollo de plantas*. REB, 2015; 32(2): 39-48
59. Bourges H, Casanueva E, Rosado J. L. *Recomendaciones de ingestión de nutrimentos para la población mexicana*. Editorial Médica Panamericana, 2005; 163-174.
60. Anaya-Prado R, Godínez-Rubí JM, Valle-Anaya MG, Tello-Barba IM, Castelltort-Cervantes LF, Guzmán-Pantoja JE. La expresión génica de las vitaminas hidrosolubles. *Cirugía y Cirujanos*. 2016; 84:43-50.
61. Ishikawa, K., Tsunekawa, S., Ikeniwa, M., Izumoto, T., Iida, A., Ogata, H., ... Oiso, Y. (2015). Long-Term Pancreatic Beta Cell Exposure to High Levels of Glucose but Not Palmitate Induces DNA Methylation within the Insulin Gene Promoter and Represses Transcriptional Activity. *PLoS ONE*, 10(2), e0115350. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0115350>
62. Dayeh, T., Volkov, P., Salö, S., Hall, E., Nilsson, E., Olsson, A. H., ... Ling, C. (2014). Genome-Wide DNA Methylation Analysis of Human Pancreatic Islets from Type 2 Diabetic and Non-Diabetic Donors Identifies Candidate Genes That Influence Insulin Secretion. *PLoS Genetics*, 10(3), e1004160. <http://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004160>
63. Kovacs P, Hanson RL, Lee YH, Yang X, Kobes S, Permana PA, Bogardus C & Baier LJ 2003 *The role of insulin receptor substrate-1 gene (IRS1) in type 2 diabetes in Pima Indians*. *Diabetes* 52 3005–3009. (doi:10.2337/diabetes.52.12.3005).
64. Eriksson, et al. Impact of age, BMI and HbA1c levels on the genome-wide DNA methylation and mRNA expression patterns in human adipose tissue and identification of epigenetic biomarkers in blood. *Hum Mol Genet*. 2015 Jul 1; 24(13): 3792–3813. Published online 2015 Apr 10. doi: 10.1093/hmg/ddv124
65. Shasha Zheng, Michelle Rollet, Yuan-Xiang Pan. Protein restriction during gestation alters histone modifications at the glucose transporter 4 (GLUT4) promoter region and induces GLUT4 expression in skeletal muscle of female

- rat offspring. *J Nutr Biochem*. 2012 Sep; 23(9): 1064–1071. Published online 2011 Nov 12. doi: 10.1016/j.jnutbio.2011.05.013
66. N. Yokomori, M. Tawata, T. Onaya. DNA demethylation during the differentiation of 3T3-L1 cells affects the expression of the mouse GLUT4 gene. *Diabetes*. 1999 Apr; 48(4): 685–690.
67. Ho, P.-C., Lin, Y.-W., Tsui, Y.-C., Gupta, P., & Wei, L.-N. (2009). A negative regulatory pathway of GLUT4 trafficking in adipocyte: new function of RIP140 in the cytoplasm via AS160. *Cell Metabolism*, 10(6), 516–523. <http://doi.org/10.1016/j.cmet.2009.09.012>
68. Haua, K., & Suverza, A. (2010). Introducción a la evaluación del estado de nutrición. En ABCD de la evaluación del estado de nutrición (1-10). México: McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES.
69. Pérez Lizaur, A., Palacios González, B., Castro Becerra., Flores Galicia (2013) Sistema mexicano de alimentos equivalentes. 4ta edición. Editorial: Cuadernos de Nutrición. Fomento de Nutrición y Salud.
70. Organización Mundial de la Salud. Recomendaciones mundiales sobre actividad física para la salud. Ginebra: OMS, 2010.
71. World Health Organization. Growth reference data for 5-19 years. Ginebra, 2007. Disponible en: <http://www.who.int/growthref/en/> [acceso: octubre de 2017].
72. Organización Mundial de la Salud. Curso de Capacitación sobre la evaluación del crecimiento del niño. Ginebra: OMS, 2008.
73. Fernández J.R., Redden D.T., Pietrobelli A., Allison D.B. Waist circumference percentiles in nationally representative samples of african-american, european- american, and mexican-american children and adolescents. *J Pediatr*. 2004; 145: 439-444.
74. Maffeis C, Banzato C, Talamini G, et al. Waist-to-height ratio, a useful index to identify high metabolic risk in overweight children. *J Pediatr* 2008;152:207-213.
75. NORMA Oficial Mexicana NOM-047-SSA2-2015, Para la atención a la salud del Grupo Etario de 10 a 19 años de edad.

76. Shakuntla P., Chandra R.K. Regulación nutricional de la resistencia del huésped y valor predictivo de las pruebas inmunológicas en la evaluación del resultado final. *Clin Pediatr NA*, 1985; 2: 529-545.
77. U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute. The fourth report on the diagnosis, evaluation, and treatment of High Blood Pressure in Children and Adolescents. Revised May 2005. Disponible en: http://www.nhlbi.nih.gov/health/prof/heart/hbp/hbp_ped.pdf [acceso: octubre de 2017].
78. Organización Mundial de la Salud. Nota informática sobre la ingesta de azúcares recomendada en la directriz de la OMS para adultos y niños. Ginebra: OMS, 2015.
79. Haula, K., & Suverza, A. (2010). Introducción a la evaluación del estado de nutrición. En *ABCD de la evaluación del estado de nutrición (1-10)*. México: McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES.
80. Lahiri, D. K., & Nurnberger, J. I. (1991). A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Research*, 19(19), 5444.
81. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat), Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC) & Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (UAM-I). Extracción y purificación de DNA En: Cornejo A, Serrato A, Rendón B, Rocha-Munive MG, editores. *Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos*. México: SEMANART; 2014. p.14-15.
82. Search - MethBank [Internet]. Bigd.big.ac.cn. 2018 [cited 30 May 2018]. Available from: <http://bigd.big.ac.cn/methbank/search>
83. Arenas Monreal L., et al. *Prevalencia de tabaquismo en adolescentes de un colegio de bachilleres del estado de Morelos, México*. *Rev. Inst. Nal. Enf. Resp. Mex*, 2004; 17(1): 22-26. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-75852004000100004&lng=es.

84. Vargas-Valle, Eunice Danitza, Martínez Canizales, Georgina, *La relación entre el abuso del alcohol y la religión en adolescentes mexicanos. Población y Salud en Mesoamérica* [en línea] 2015, 12 (enero-Junio): [Fecha de consulta: 28 de enero de 2019] Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=44633024008>
85. Payne-Robinson HM, Brown R. *The effect of malnutrition on insulin binding to rat erythrocytes*. Br J Nutr, 1992; 67: 279 –286. Disponible en: <https://www.cambridge.org/core/journals/british-journal-of-nutrition/article/effect-of-malnutrition-on-insulin-binding-to-rat-erythrocytes/4382B3FFB320BBD1ABC1DE5D6CA34B9D>

10. ANEXOS

Anexo 1.

Tabla 28. Fuentes alimentarias de folatos.

Alimento	Porción	Cantidad de folatos µg
Verduras		
Alcachofa mediana cocida	1 pieza	42.7
Apio crudo	1 ½ taza	48.5
Acelgas crudas	2 tazas	16.8
Arúgula cruda	4 taza	77.6
Bledos crudos	2 tazas	80.3
Brócoli cocido	½ taza	46.0
Brócoli crudo	1 taza	50.2
Cebollita cambray sin raíz	3 piezas	46.1
Chayote crudo	½ pieza	93.5
Chicoria cruda	140 g.	171
Cilantro picado crudo	2 tazas	74.4
Col cruda picada	2 tazas	63.8
Coliflor cocida	1 taza	55.0
Coliflor cruda	2 tazas	45.6
Ejotes	½ taza	20.8
Endivia cruda	3 tazas	183.2
Espárragos crudos	6 pieza	131
Espinaca cocida	½ taza	131
Espinaca cruda picada	2 tazas	232.8
Flor de calabaza cocida	1 taza	54
Flor de calabaza cruda picada	4 tazas	76
Lechuga	3 tazas	184.1
Perejil crudo picado	1 taza	91.2

Alimento	Porción	Cantidad de folatos µg
Frutas		
Fresa entera	17 piezas medianas	49
Fresa rebanada	1 taza	39.8
Gajos de naranja	1 taza	45
Kiwi	1 ½ pieza	43.3
Mango	1 taza	74.3
Naranja	2 piezas	45.7
Naranja valenciana	2 piezas	63
Plátano	½ pieza	14.4
Papaya hawaina	½ pieza pequeña	43.3
Papaya picada	1 taza	53.2
Uva	18 piezas	22.7
Cereales		
Amaranto cocido	2 ½ taza	185
Arroz inflado con cocoa	½ taza	58.2
Hojuelas de maíz	¾ taza	109.3
Hojuelas de maíz azucaradas	1/3 taza	106.5
Papa picada	¾ taza	2.5
Pan integral de trigo	1 rebanada	7
Leguminosas		
Frijoles blancos	½ taza	313
Frijoles negros	½ taza	382
Frijoles pintos	½ taza	452
Frijoles rojos	½ taza	339
Habas	½ taza	52.7
Lentejas	½ taza	126
Garbanzos	½ taza	457
Soya	57 gramos	214

Alimento	Porción	Cantidad de folatos µg
Alimentos de origen animal		
Hígado de pollo	30 gramos	177
Huevo	1 pieza	23
Boquerón crudo	45 gramos	4
Lácteos		
Leche	1 taza	12
Yogur	1 taza	16
Grasas sin proteína		
Aguacate	1/3 piezas	47
Grasas con proteína		
Cacahuate	13 piezas	29



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



Anexo 2.

Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Facultad de Enfermería Facultad de Nutrición Facultad de Farmacia

Cuerpo Académico “Enfermería: Educación, cuidado y salud”.

Coordinan el proyecto de investigación

**“Valoración de la salud en adolescentes estudiantes de secundaria en
Huitzilac, Morelos”**

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Estimado padre de familia:

Le agradecemos su atención y le invitamos a autorizar la participación de su(s) hijo(s) o hija(s) en el estudio que se explica en esta carta, en el que se incluirá a estudiantes inscritos a la secundaria técnica #16 de Huitzilac, Morelos.

El objetivo de este estudio es:

Analizar la percepción de estilos de vida saludables, así como aspectos nutricionales tales como marcadores genéticos, microbiota, hemoglobina y glucosa, así como otros factores de riesgo relacionados, en adolescentes estudiantes de secundaria en el estado de Morelos en el período 2016-2017

En que nos apoyará:

- | | |
|--|--|
| ✓ <i>Responder un cuestionario</i> | <i>sanguínea, polimorfismos en genes y otros marcadores.</i> |
| ✓ <i>Permitirnos obtener una muestra de sangre (9 ml) el equivalente a una cucharada, de la que obtendremos:</i> | ✓ <i>Muestra de copro</i> |
| <i>Biometría hemática, química</i> | ✓ <i>Antropometría: Peso y estatura</i> |
| | ✓ <i>Presión arterial</i> |

¿Por qué hacemos el estudio?

La diabetes, el sobrepeso, la obesidad y la hipertensión han llegado a niveles muy elevados en todos los grupos, de la población. Con base en la ENSANUT 2012, la diabetes mellitus afecta actualmente al 9.2% de la población del país, lo que representa un incremento del 2.2 puntos porcentuales respecto del 2006. Dado su papel como causa de enfermedad, la obesidad aumenta la demanda por servicios de salud y afecta el desarrollo económico y social de la población.

Existen diversos factores de riesgo para padecer Diabetes Mellitus tipo 2, destacando el estilo de vida y los factores génicos. Hay estudios en los que se asocian a distintas poblaciones con algunos polimorfismos en genes (*TCF7L2*, *HHEX*, *EXT2*, *SLC30A8*, *PPAR-Y2*, *UCP-3* Y *ADIPO*), sin embargo, no existen estudios en población infantil mexicana donde se realicen asociaciones con modelos aditivos para determinar si existen asociaciones entre variantes alélicas de alguno o de todos los genes antes mencionados con la diabetes mellitus tipo 2.

La microbiota intestinal se define como el conjunto de microorganismos vivos que colonizan el intestino y se ha considerado un órgano más, integrado en la fisiología del individuo. Estudios recientes han demostrado que diversas enfermedades que tienen poca relación aparente con el intestino conllevan a cambios notables en la microbiota, como la obesidad, la diabetes tipo 2, enfermedades cardiovasculares, encefalopatía hepática y más recientemente la esquizofrenia y el autismo, debido a que se han encontrado interacciones entre la microbiota intestinal y el sistema nervioso central.

¿Cuáles son los riesgos y beneficios de participar en el estudio?

Riesgos:

En general no se corre ningún riesgo, salvo que algún niño sea intolerante a los materiales que se utilizan para el equipo médico.

Beneficios:

Directamente, el único beneficio que obtendrá el participante será el obtener sin costo alguno sus análisis de sangre (biometría hemática de 6 elementos y química sanguínea, glucosa en sangre), de igual manera tendrá la valoración indirecta de una nutrióloga.

Cualquier duda que tenga, los investigadores del proyecto se darán a la tarea de resolverla.

Contribuirá con el incremento en el conocimiento ya que los resultados serán utilizados con fines de investigación, por lo que serán publicados en alguna revista de reconocido prestigio.

Consideraciones éticas.

La información obtenida será vigilada por los investigadores con estricta confidencialidad, por lo que los nombres de sus hijos serán eliminados de la base de datos y solo serán identificados por un folio identificador.

Se respetarán los principios éticos de Beneficencia, Justicia y Respeto por las personas, por lo que los niños solo serán valorados si ellos lo autorizan (asentimiento informado) y solo se invitará a aquellos cuyos padres autoricen su participación (consentimiento informado), además, podrán retirar su información del estudio en cualquier momento sin temor de actitudes represivas por parte de las autoridades escolares ni del personal de salud.

Muchas gracias por su participación.

Para cualquier duda, comentario o sugerencia, por favor comuníquese:

De lunes a viernes de 9:00 am a 15:00 hrs

Dra. María Alejandra Terrazas Meraz o

M. en C. Paola Adanari Ortega Ceballos, Profesoras Investigadoras de Tiempo completo de la Facultad de Enfermería de la UAEM

Teléfonos: (777) 329 7000 ext. 3335 (777) 322-9632

Correo electrónico maria.alejandra@uaem.mx

O acudir a Calle Pico de Orizaba N°. 2, Colonia Los Volcanes,
C.P. 62350, Cuernavaca, Mor.

A través de esta carta de consentimiento informado, **autorizo** que mi (s) hijo (a/s)

Participen en el proyecto de investigación, haciendo constar que leí y entendí esta carta cuyo contenido es el mismo del tríptico que se me entregó, que se me explicaron los objetivos del estudio y que se me resolvieron las dudas planteadas; en el entendido de que se utilizará la información obtenida exclusivamente para fines de investigación y de que se me entregará copia de los resultados clínicos (BH y QS) que se obtengan.

FIRMAS.

Nombre: _____

MADRE, PADRE O TUTOR

Nombre del (de los) niños que autorizo

MTRA. FLAVIA URQUIZA MONDRAGÓN
DIRECTORA DE LA ESCUELA SECUNDARIA TÉCNICA
#16, HUITZILAC, MORELOS

Dra. María Alejandra Terrazas Meraz

Investigador responsable del proyecto

Folio:

Cuernavaca, Morelos a 13 de abril del 2016