

1014-FC  
Biotecnología  
8954  
C.1



**UNIVERSIDAD DE CHILE**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR**

**MEMORIA DE TÍTULO**

**"ANÁLISIS DEL POLIMORFISMO ALA54TRE DE LA PROTEÍNA  
LIGANTE DE ÁCIDOS GRASOS (FABP-2) EN GRUPOS  
AMERINDIOS DE CHILE (MAPUCHE-AYMARA), COMPARACIÓN DE  
FRECUENCIAS Y POSIBLE ASOCIACIÓN CON OBESIDAD Y  
COMPONENTES DEL SÍNDROME METABÓLICO"**

**MARCELA NATALIA FUENTES DÍAZ**

**SANTIAGO - CHILE**

**2003**



**ANÁLISIS DEL POLIMORFISMO ALA54TRE DE LA PROTEÍNA LIGANTE DE  
ÁCIDOS GRASOS (FABP-2) EN GRUPOS AMERINDIOS DE CHILE (Mapuches-Aymara),  
COMPARACIÓN DE FRECUENCIAS Y POSIBLE ASOCIACIÓN CON OBESIDAD Y  
COMPONENTES DEL SÍNDROME METABÓLICO**

Memoria de Título entregada a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Ingeniero en Biotecnología Molecular.

**MARCELA NATALIA FUENTES DÍAZ**

**Director de Memoria de Título**

Dr. Francisco Pérez Bravo

Dra. Cecilia Albala Brevis

Co-Directora

---

**Comisión de Evaluación de la Memoria de Título**

Dr. Tito Ureta Aravena

Presidente Comisión

Dr. Alberto Veloso Martínez

Santiago de Chile, Octubre 2003



*La ignorancia afirma o niega rotundamente; la ciencia duda*

*Voltaire*

*El hombre encuentra a Dios detrás de cada puerta que la ciencia logra abrir*

*Albert Einstein*

# ÍNDICE DE MATERIAS

ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xi
RESUMEN.....	xiii
SUMMARY.....	xv
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1 OBESIDAD.....	1
1.2 DIABETES MELLITUS EN DISTINTAS POBLACIONES.....	3
1.3 SÍNDROME METABÓLICO.....	5
1.4 MARCADORES GENÉTICOS EN OBESIDAD.....	9
1.5 FABP-2.....	14
1.6 POBLACIONES AMERINDIAS DE CHILE.....	15
1.6.1 LA POBLACIÓN AYMARA.....	16
1.6.2 LA POBLACIÓN MAPUCHE.....	18
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>21</b>
2.1 OBJETIVOS GENERALES.....	21
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
<b>3. HIPÓTESIS.....</b>	<b>22</b>
<b>4. MATERIALES.....</b>	<b>23</b>
4.1 MUESTRAS.....	23
4.2 REACTIVOS.....	24
<b>5. MÉTODOS.....</b>	<b>25</b>
5.1 MEDICIONES ANTROPOMÉTRICAS Y METABÓLICAS.....	25
5.2 PESO.....	26
5.3 TALLA.....	26
5.4 IMC.....	26
5.5 ICC.....	28
5.6 TRIGLICÉRIDOS.....	28
5.7 GLICEMIA.....	29
5.8 LEPTINA.....	29
5.9 INSULINA.....	30
5.10 HOMA.....	30
5.11 EXTRACCIÓN DE DNA.....	31
5.11.1 LAVADO CELULAR.....	31
5.11.2 DIGESTIÓN CELULAR.....	32
5.11.3 EXTRACCIÓN FENÓLICA.....	32
5.12 PURIFICCIÓN DEL DNA.....	33
5.13 LECTURA DE CONCENTRACIÓN DE DNA.....	34

5.14 AMPLIFICACIÓN POR PCR Y ANÁLISIS DE LOS POLIMORFISMOS POR DIGESTIÓN ENZIMÁTICA (RFLPS).....	34
5.14.1 AMPLIFICACIÓN POR PCR.....	34
5.14.2 CORTE CON ENZIMA DE RESTRICCIÓN.....	39
<b>6. RESULTADOS.....</b>	<b>41</b>
6.1 DETERMINACIÓN DE LA FRECUENCIA DEL POLIMORFISMO ALA54TRE DE FABP-2 EN POBLACIÓN AYMARA Y MAPUCHE.....	41
6.1.1 AYMARAS.....	41
6.1.2 MAPUCHES.....	42
6.1.3 EQUILIBRIO DE HARDY-WEINBERG.....	42
6.2 COMPARACIÓN ENTRE LAS FRECUENCIAS GÉNICAS OBTENIDAS EN POBLACIÓN AYMARA Y MAPUCHE CON OTRAS POBLACIONES YA ANALIZADAS.....	43
6.3 ANÁLISIS DE LOS INDICADORES DE OBESIDAD Y COMPONENTES DEL SÍNDROME METABÓLICO SEGÚN GENOTIPO FABP-2.....	45
6.3.1 MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS PARA AYMARAS.....	45
6.3.2 MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS PARA MAPUCHES.....	46
6.3.3 CATEGORÍAS IMC PARA AYMARAS SEGÚN GENOTIPO FABP-2.....	47
6.3.4 CATEGORÍAS IMC PARA MAPUCHES SEGÚN GENOTIPO FABP-2.....	49
6.3.5 MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS SEGÚN GENOTIPO FABP-2 Y SEXO ENCONTRADAS EN AYMARAS.....	51
6.3.6 MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS SEGÚN GENOTIPO FABP-2 Y SEXO ENCONTRADAS EN MAPUCHES.....	52
6.3.7 VARIABLES METABÓLICAS PARA EL GRUPO TOTAL DE AYMARAS SEGÚN GENOTIPO FABP-2.....	53
6.3.8 VARIABLES METABÓLICAS SEGÚN GENOTIPO FABP-2 Y SEXO EN AYMARAS.....	54
6.3.9 VARIABLES METABÓLICAS SEGÚN GENOTIPO FABP-2 Y SEGÚN IMC EN AYMARAS.....	56
6.3.10 VARIABLES METABÓLICAS PARA EL GRUPO TOTAL DE MAPUCHES SEGÚN GENOTIPO FABP-2.....	58
6.3.11 VARIABLES METABÓLICAS SEGÚN GENOTIPO FABP-2 Y SEXO EN MAPUCHES.....	59
6.3.12 VARIABLES METABÓLICAS SEGÚN GENOTIPO FABP-2 Y SEGÚN IMC EN MAPUCHES.....	61
<b>7. DISCUSIÓN.....</b>	<b>62</b>
<b>8. REFERENCIAS.....</b>	<b>65</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>
<b>Figura 1</b> Tasa ajustada de prevalencia de diabetes mellitus en adultos para algunos países de las Américas	<b>4</b>
<b>Figura 2</b> Prevalencia estimada de diabetes en las Américas, 2000	<b>4</b>
<b>Figura 3</b> Posición 54 de FABP-2, sitio en donde se encuentra la sustitución que da lugar al aminoácido Treonina en lugar de aminoácido Alanina. Se subraya el sitio de corte de la enzima <i>Hha I</i>	<b>35</b>
<b>Figura 4</b> Gel de Agarosa al 2% en donde se observa el producto amplificado correspondiente al fragmento de 180 bp del gen FABP-2	<b>38</b>
<b>Figura 5</b> Patrón de Restricción para el reconocimiento de la mutación en el gen de FABP-2 en cada sujeto estudiado	<b>40</b>
<b>Figura 6</b> Gel de Agarosa al 4% donde se observa el patrón de restricción (bandeo) al digerir con endonucleasa <i>Hha I</i> y con las cuales es posible determinar el polimorfismo	<b>40</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

	<b>Página</b>
<b>Tabla 1</b> Parámetros propuestos por la OMS para el diagnóstico del SM. Considera criterio diagnóstico a la existencia de al menos uno de los principales criterios y al menos dos de los demás	<b>6</b>
<b>Tabla 2</b> Algoritmo para el diagnóstico del SM propuesto por las guías de ILIB-LA. Para el diagnosticar el SM se requiere la suma de tres o más puntos que se basan en la presencia de los factores mencionados	<b>7</b>
<b>Tabla 3</b> Clasificación de sobrepeso en adultos según el IMC	<b>27</b>
<b>Tabla 4</b> Rangos de glicemia establecidos por la Asociación Americana de Diabetes (ADA) para la determinación de glicemias	<b>29</b>
<b>Tabla 5</b> Detalle de la composición de la mezcla de PCR utilizada en el presente protocolo experimental y programa de ciclos utilizados en la PCR	<b>37</b>
<b>Tabla 6</b> Diagrama de los posibles fragmentos que se pueden encontrar al digerir el producto de PCR y posterior corte en el gen FABP-2	<b>39</b>
<b>Tabla 7</b> Frecuencias encontradas para los tres genotipos de FABP-2 en población Aymara	<b>41</b>
<b>Tabla 8</b> Frecuencias encontradas para los tres genotipos de FABP-2 en población Mapuche	<b>42</b>
<b>Tabla 9</b> Comparación de la frecuencia del polimorfismo FABP-2 en distintas poblaciones del mundo	<b>43</b>
<b>Tabla 10</b> Medidas antropométricas encontradas en población Aymara según genotipo FARBP-2	<b>45</b>

<b>Tabla 11</b>	Medidas antropométricas encontradas en población Mapuche según genotipo FABP-2	<b>46</b>
<b>Tabla 12</b>	Categorías de IMC encontradas en población Aymara según genotipo FABP-2	<b>47</b>
<b>Tabla 13</b>	Categorías de IMC encontradas en población Mapuche según genotipo FABP-2	<b>49</b>
<b>Tabla 14</b>	Medidas antropométricas encontradas en Aymaras y detalladas según sexo y genotipo FABP-2	<b>51</b>
<b>Tabla 15</b>	Medidas antropométricas encontradas en Mapuches y detalladas según sexo y genotipo FABP-2	<b>52</b>
<b>Tabla 16</b>	VARIABLES metabólicas encontradas para el grupo total de Aymaras clasificadas según genotipo FABP-2	<b>53</b>
<b>Tabla 17</b>	VARIABLES metabólicas encontradas en Aymaras, agrupadas por sexo y genotipo FABP-2	<b>54</b>
<b>Tabla 18</b>	VARIABLES metabólicas encontradas en Aymaras y clasificadas según genotipo FABP-2 e IMC	<b>56</b>
<b>Tabla 19</b>	VARIABLES metabólicas encontradas para el grupo total de Mapuches clasificadas según genotipo FABP-2	<b>58</b>
<b>Tabla 20</b>	VARIABLES metabólicas encontradas en Mapuches, agrupadas por sexo y genotipo FABP-2	<b>59</b>
<b>Tabla 21</b>	VARIABLES metabólicas encontradas en Mapuches y clasificadas según genotipo FABP-2 e IMC	<b>61</b>



## **LISTA DE ABREVIATURAS**

bp: Pares de bases

dATP : 2'-deoxiadenosina 5'-trifosfato

dCTP : 2'-deoxicitidina 5'-trifosfato

dGTP : 2'-deoxiguanosina 5'-trifosfato

dTTP : 2'-deoxitimidina 5'-trifosfato

EDTA : Ácido etilendiaminotetraacético

FABP-2 : Fatty Acid Binding Protein-2 (Proteína Ligante de Ácidos Grasos-2)

HDL : Lipoproteínas de alta densidad

HOMA : Homeostatic Model Assesment (Modelo de Valoración Homeostática)

HTA : Hipertensión Arterial

ICC : Índice Cintura Cadera

IMC : Índice de Masa Corporal

IR : Insulino Resistencia

LDL : Lipoproteínas de baja densidad

OMS : Organización Mundial de la Salud

PCR : Polymerase Chain Reaction (Reacción en Cadena de la Polimerasa)

RFLP : Restriction Fragment Lenght Polymorphism (Polimorfismos de Longitud de Fragmentos de Restricción)

SDS : Dodecil Sulfato de Sodio

SM : Síndrome Metabólico

SNP : Single Nucleotide Polymorphism

SSC : Solución amortiguadora citrato trisódico

TAE : Solución amortiguadora tris-acetato EDTA

TE : Tris-EDTA

TG : Triglicéridos

TNF- $\alpha$  : Factor de Necrosis Tumoral alfa

Tris : tris-(hidroximetil)-aminoetano

VLDL : Lipoproteínas de muy baja densidad

## RESUMEN

La obesidad puede ser considerada como un estado de IR, ya que la mayoría de los obesos la presentan. La IR del obeso ha sido considerada el vínculo que conduce a través del tiempo a la diabetes tipo 2, en individuos predispuestos genéticamente.

Hay evidencia de que la IR tiene componentes genéticos y ambientales. Dentro de la gran cantidad de genes candidatos, FABP-2 es uno de los que ha mostrado resultados más consistentes con los fenómenos de acumulación y oxidación de grasa y sensibilidad insulínica. La existencia de variantes genéticas en el locus de FABP-2 podría tener relevancia en el transporte diferencial de ácidos grasos y a través de ello, en la etiología de la IR y la obesidad. El gen de FABP-2 posee un polimorfismo que se caracteriza por una sustitución de treonina por alanina en la posición 54 de este gen (Ala54Tre). Este alelo se ha asociado "in vivo" con altas concentraciones de insulina en ayunas y aumentos considerables en la tasa de oxidación de ácidos grasos.

La obesidad constituye uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de diabetes tipo 2, lo que se confirma por el hecho que más del 80% de los sujetos diabéticos son obesos al momento de su diagnóstico. Conclusiones similares se pueden extraer de los estudios en indios Pima de Arizona, quienes presentan alta prevalencia de obesidad y una de las más altas incidencias de diabetes en el mundo. Sin embargo, en contraposición a este grupo étnico Norteamericano, las poblaciones Aymara y Mapuche de Chile, presentan bajos índices de diabetes, a pesar de presentar altísimos niveles de obesidad.

El propósito de esta investigación fue analizar el papel potencial de la variante genética Ala54Tre del gen FABP-2 en la Obesidad y Componentes del SM en dos poblaciones aborígenes de Chile, las cuales se caracterizan por presentar una alta frecuencia de obesidad y una muy baja prevalencia de diabetes tipo 2. Se utilizó PCR para amplificar el exón 2 del gen FABP-2 mediante el uso de primers específicos y se realizó análisis mediante fragmentos de restricción con la enzima *Hha* I. El análisis estadístico consistió en la estimación de asociaciones causales entre los genotipos FABP-2 y marcadores antropométricos y metabólicos característicos de la obesidad e IR.

Las frecuencias genotípicas para FABP-2 obtenidas en este estudio fueron 0.66 (Ala/Ala), 0.32 (Ala/Tre) y 0.02 (Tre/Tre) en población aymara y 0.47 (Ala/Ala), 0.43 (Ala/Tre) y 0.1 (Tre/Tre) en individuos de etnia mapuche. Con respecto al alelo treonina, la frecuencia encontrada fue de 0.18 para aymaras y 0.31 en mapuches. Los resultados muestran una tendencia al aumento del IMC en mujeres portadoras del alelo treonina. Respecto a las variables metabólicas, lo más significativo fue el aumento en los niveles de TG y en la HTA en ambos grupos étnicos y de glicemia en mapuches, en presencia de treonina. Nuestro estudio no observó una relación directa con parámetros relacionados a IR. Estos resultados sugieren que el alelo Tre 54 en FABP-2 puede tener un papel minoritario en la IR en estos grupos étnicos. Es posible, que en ausencia de otros factores confundentes ambientales y otras variables genéticas, el polimorfismo en FABP-2 tenga un efecto mayor sobre los lípidos postprandiales influenciando de este modo el nivel de TG.

## SUMMARY

Obesity could to be considered as an insulin-resistance (IR) state, in according with the concept that a high percentage of obese patients had IR. The IR in obese subjects has been proposed as link with the type 2 diabetes in genetically susceptible individuals. Certain evidence indicate that IR has genetic and environmental components. Among the vaste candidate genes proposed to IR process, FABP-2 is a gene that shown the more consistent results in association with fat oxidation, fat accumulation and impaired insulin sensitivity. The presence of genetic variants on the FABP-2 locus could to have relevance in the differential transport of fatty acids (FA) and by this way, in the etiology of IR and obesity.

The FABP-2 gene as a genetic polymorphism characterized by a substitution of Treonine (Thr) by Alanine (Ala) at position 54 in the exon 2 of this gene. These allele has been associated "in vivo" with high fasting insulin levels and increase on the FA oxidation rate.

Obesity constitute one of the main risk factors to develop type 2 diabetes, confirm by the high frequency of obesity (over 80%) in the recent diagnosed type 2 diabetic subjects. The better example is the in Pima Indians of Arizona, whom shown a high prevalence of obesity and the more higher type 2 diabetes prevalence around the world. By contrast, the aymara and mapuche population from Chile, shown a very low prevalence of type 2 diabetes, despite of higher levels of obesity.

The aim of this research was to analyze the potential role of the genetic variant Ala54Thr of FABP-2 in the obesity and metabolic syndrome in two aboriginal populations from Chile whom have a high frequency of obesity and low prevalence of type 2 diabetes. We used PCR to amplified the exon 2 of FABP-2 gene using specific primers and Hha I RFLPs analysis. The statistical analysis was focalized to study the causal estimation of association of Ala54Thr genotypic frequency on obesity and IR.

The genotypic frequency obtained in this study were: 0.66 (Ala/Ala), 0.32 (Ala/Thr) and 0.02 (Thr/Thr) in aymara natives and 0.47 (Ala/Ala), 0.43 (Ala/Thr), and 0.10 (Thr/Thr) in mapuche individuals. In relation with the allelic frequency of Thr was 0.18 in aymara population and 0.31 in mapuche subjects. Our results shown an increased tendency of BMI in women carriers to Thr allele. Regarding to others variables, the presence of this allele was related with increased TG level and hypertension in both ethnic groups, and high fasting glucose among mapuche individuals. Our study not observed a direct relationship with IR parameters (fasting insulin or HOMA). These results suggest that the FABP-2 Thr54 allele may have a minor contribution in the IR syndrome in this ethnic groups. Its possible that in absence of confounding factors such as environmental and others genetic variables, the FABP-2 polymorphism has an important effect on postprandial lipids influencing the plasma levels of TG

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 OBESIDAD

En los últimos años, en Chile se ha observado una transición demográfica y epidemiológica debido al cambio en la estructura socioeconómica del país<sup>1</sup>. Uno de los cambios notables que se han experimentado es la disminución en la tasa de mortalidad infantil, la tasa de natalidad y la tasa de mortalidad. Ello ha generado un envejecimiento de la población chilena, donde encontramos que en el año 1960 un 4.3 % de la población era mayor de 65 años, en cambio, en el año 1992 este grupo etario alcanzaba a un 6.6%<sup>2</sup>. Este último grupo es especialmente susceptible en el campo de la salud porque son ellos quienes acumulan la mayor morbi-mortalidad, especialmente asociada a factores de riesgo cardiovascular<sup>3</sup>.

La transición demográfica, junto al mayor desarrollo del país, ha originado un cambio epidemiológico que se evidencia en una disminución de las enfermedades infecto-contagiosas a la vez que se incrementan las enfermedades contagiosas no transmisibles. En la actualidad las principales causas de muerte son las enfermedades cardiovasculares y cáncer, ambas relacionadas en forma directa o indirecta a los hábitos nutricionales en asociación al perfil genético característico de las personas<sup>1,4-6</sup>.

Por último, el país ha estado sometido a un cambio nutricional. En 1975 existía una alta tasa de desnutrición infantil (15.5%), disminuyendo a un valor de 5.0% en el año 1995<sup>7</sup>. Los hábitos nutricionales derivaron a un aumento del

consumo de productos de origen animal, especialmente pollo y productos lácteos y una disminución de cereales y legumbres. A esto se suma la introducción a la dieta chilena de la comida rápida, de alto contenido de grasas, azúcar y sal y muy pobre en nutrientes esenciales, como vitaminas y minerales. Así también, la actividad física mínima, el hábito de fumar y el alto consumo de alcohol ha pasado a ser parte del estilo de vida de la población chilena<sup>8-11</sup>.

En la década de los 90, el problema de la desnutrición desapareció como un problema de nutrición y de salud pública y en su lugar se ha establecido la obesidad, especialmente en mujeres de bajos recursos<sup>4</sup>. La obesidad se puede definir simplemente como una enfermedad en la cual un exceso de grasa se ha acumulado de tal manera que la salud pueda verse adversamente afectada<sup>12</sup>. Diversos estudios epidemiológicos han aportado fuerte evidencia de una asociación directa entre la obesidad y el riesgo cardiovascular. El estudio más importante es el seguimiento por 26 años de una cohorte de más de 5.000 personas en Framingham, donde se demostró que las personas obesas tenían mayor incidencia de enfermedad cardiovascular que los sujetos normales<sup>13</sup>. En otro estudio de más de 100.000 enfermeras norteamericanas, se encontró un mayor riesgo de muerte por enfermedad cardiovascular en obesas comparadas con normales y una fuerte asociación entre el índice de masa corporal y el riesgo de desarrollar diabetes, la comorbilidad más común derivada de la obesidad, así como intolerancia a la glucosa<sup>14</sup>. La obesidad produce alteración del perfil lipídico, como un aumento del colesterol total, TG y disminución del



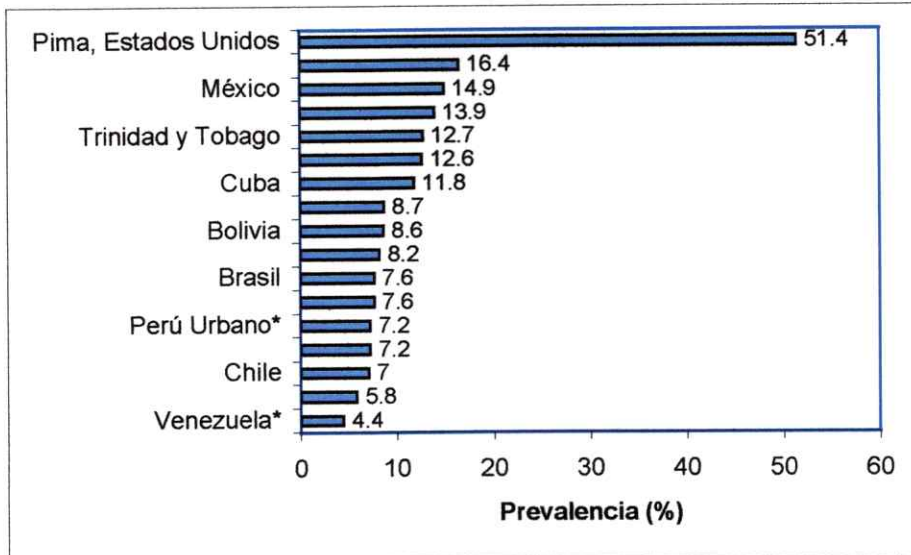
colesterol HDL<sup>15</sup>. En las personas obesas el colesterol LDL es más aterogénico, ya que sus partículas son más pequeñas y densas<sup>16</sup>.

## **1.2 DIABETES MELLITUS EN DISTINTAS POBLACIONES**

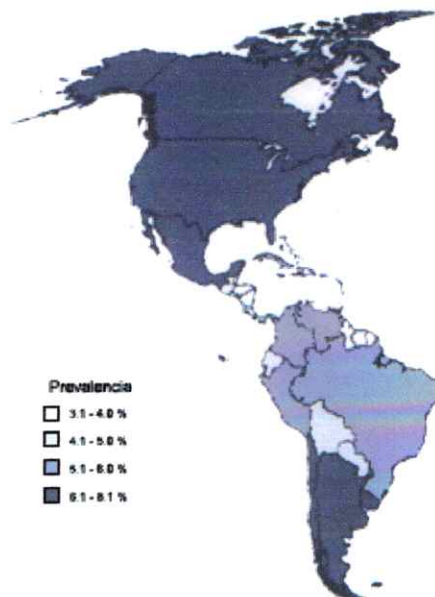
La **Figura 1** muestra resultados de estudios de prevalencia de diabetes en poblaciones adultas de las Américas<sup>17</sup>. La tasa de prevalencia de la diabetes en adultos (fundamentalmente tipo 2) más elevada se ha reportado entre los indios Pima de Arizona, Estados Unidos. En América Latina y el Caribe, la tasa más elevada correspondió a Barbados (16.4%), seguida por Cuba con 14.8%, en tanto que la más baja fue registrada en 1998 entre los indios Aymara de una zona rural de Chile (1.5%)<sup>18</sup> a diferencia del valor de 7.2% que registra la población promedio de Chile. En la mayoría de los países la prevalencia de diabetes es más elevada en las mujeres que en los hombres.

La **Figura 2** muestra la prevalencia estimada de diabetes en poblaciones adultas de las Américas para el 2000, estimada por la Organización Mundial de la Salud. En los Estados Unidos, Canadá, Argentina, Chile y Uruguay la prevalencia se estima entre 6.1 y 8.1% de la población adulta. En Brasil, Perú, Venezuela, Colombia y Cuba la prevalencia de diabetes fue estimada entre 5.1 y 6.0% de los adultos, mientras que en Bolivia, Paraguay, Ecuador, Panamá, Costa Rica y Guatemala fue de entre 4.1 y 5.0% y en Suriname, Guyana, Nicaragua y Honduras de entre 3.1 y 4.0% de la población adulta. Se estimó que las poblaciones urbanas (como son aquellas donde se han realizado la

mayoría de las encuestas de prevalencia) tenían tasas de prevalencia dos veces mayor que las poblaciones que viven en áreas rurales<sup>19</sup>.



**Figura 1: Tasa ajustada<sup>1</sup> de prevalencia de diabetes mellitus en adultos en algunos países de las Américas (%)**  
 (<sup>1</sup> Ajustadas por el método directo usando la población mundial (Segi) como estándar  
 \*Tasa cruda)



**Figura 2: Prevalencia estimada de diabetes en las Américas, 2000.**

Un estudio que evaluó la prevalencia de diabetes en una comunidad rural nativa Mapuche de Chile reportó una prevalencia de 0.4% en hombres y 1.4% en mujeres en 1985<sup>20</sup>, sin embargo la repetición de esta encuesta en 1999, arrojó una prevalencia de diabetes de 3.2 en hombres y 4.5 en mujeres<sup>21</sup>, lo que sugiere que está ocurriendo un proceso de aculturización en esta comunidad rural con incremento en la prevalencia de diabetes y quizás de otras enfermedades crónicas.

### 1.3 SÍNDROME METABÓLICO

El SM fue descrito inicialmente como síndrome X por Reaven hace ya 14 años<sup>22</sup>, aunque antes varios autores venían advirtiendo sobre el riesgo cardiovascular que implicaba tener dislipidemia, obesidad, hipertensión arterial e intolerancia a la glucosa por lo cual se los llamaba "el cuarteto de la muerte" entre otros. Sin embargo fue el grupo de Reaven el que confirmó la asociación de estas alteraciones metabólicas con la resistencia a la insulina inclusive en personas aparentemente sanas y delgadas<sup>23</sup>.

El SM se identifica por la presencia en un mismo paciente de varios de los problemas relacionados con un estado de resistencia a la insulina de origen genético que probablemente es la principal causa del problema. Recientemente la OMS publicó los criterios necesarios para poder hacer el diagnóstico del SM que se enumeran en la **Tabla 1**. Se requiere la presencia de al menos uno de los dos principales y uno o más de los restantes<sup>24</sup>.

Parámetros principales	Definición
Alteración de la regulación de la glucosa	Glicemia ayuno 110 mg/dL y/o 2 horas post-carga 140 mg/dl
Resistencia a la insulina	Captación de glucosa por debajo del percentil 25 en clamp euglicémico-hiperinsulinémico
Otros parámetros	
Hipertensión arterial	TA 140/90 mmHg
Dislipidemia	Triglicéridos 150 mg/dL y/o colesterol HDL <35/39 mg/dL en H/M
Obesidad	Índice cintura/cadera >0.9/0.85 en H/M y/o IMC >30 kg/m <sup>2</sup>
Microalbuminuria	Excreción en primera orina 20 mg/g creatinina

**Tabla 1 : Parámetros propuestos por la OMS para el diagnóstico del SM. Se considera el diagnóstico si existe al menos uno de los principales y al menos dos de los demás.**

La mayor importancia del SM radica en que las personas que lo padecen tienen un riesgo que puede ir entre un 10 y un 20% de desarrollar un evento coronario en un lapso de 10 años, a pesar de que tablas como las de Framingham no lo demuestran. La razón es que varios de los factores de riesgo cardiovascular que componen el SM como la hipertrigliceridemia, la obesidad y la intolerancia a la glucosa no están contemplados en dichas tablas.

Para el diagnóstico del SM como condición de riesgo cardiovascular se muestra la **Tabla 2**.

<b>Factor</b>	<b>Definición</b>	<b>Puntaje</b>
Alteración de la glicemia	Glicemia ayunas 110 mg/dL ó 2 h post-carga de glucosa 140 mg/dL	2
Hipertensión arterial	Tensión arterial >130/85 mmHg	1
Hipertrigliceridemia	Triglicéridos >150 mg/dL	1
Colesterol HDL bajo	cHDL <40 mg/dL en hombres o <50 mg/dL en mujeres	1
Obesidad de predominio abdominal	Relación cintura/cadera >0.9 en hombres y >0.85 en mujeres o IMC>30 kg/m <sup>2</sup>	1

**Tabla 2 : Algoritmo para el diagnóstico del SM propuesto por las guías de ILIB-LA. Para diagnosticar el SM se requiere la suma de tres o más puntos que se basan en la presencia de los factores mencionados.**

El SM también se considera como un factor de riesgo para el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2. Es la condición que más se acerca a la identificación de aquellas personas que tienen una diabetes mellitus tipo 2 en la etapa de normoglicemia, de acuerdo con la nueva clasificación de la diabetes mellitus propuesta por la OMS<sup>24</sup>.

La mayoría de los estudios poblacionales, que son escasos, han utilizado la insulinemia basal y/o 2 horas post-carga de glucosa como marcador de resistencia a la insulina, con una sensibilidad y una especificidad aceptables. El modelo homeostático (HOMA), que consiste en calcular la relación de la insulinemia y la glicemia medidas en condiciones basales y ajustadas por una constante, también ha adquirido bastante popularidad por su sencillez y exactitud.

Los cambios que ocurren en el SM a nivel de los lípidos comprometen al adipocito, donde la resistencia a la insulina da lugar a una lipólisis descontrolada que ocasiona un aumento del flujo de ácidos grasos al hígado, lo

cual va a incrementar la formación de TG y la producción de lipoproteínas VLDL pequeñas y ricas en TG<sup>25</sup>.

El papel de la obesidad todavía se discute. Aunque se ha incorporado como parte del SM y ciertamente se asocia tanto con resistencia a la insulina como con cada uno de sus componentes, la mayoría de los investigadores consideran que la obesidad actúa como detonador porque al empeorar la resistencia, da lugar a que aparezcan sus manifestaciones clínicas, especialmente cuando es de predominio abdominal<sup>26</sup>.

Con relación a la HTA, el problema es un poco más complejo, porque esta asociación entre resistencia a la insulina e HTA no se observa en todas las razas y apenas se puede identificar en menos del 50% de los hipertensos esenciales. Se explica fundamentalmente porque la hiperinsulinemia tiene un efecto retenedor de sodio y sensibilizador de la acción de las catecolaminas, pero probablemente se requiere que el endotelio se encuentre disfuncional<sup>27,28</sup>.

Para que una persona con resistencia a la insulina desarrolle un trastorno de la glicemia no basta con estar sometida a cambios del estilo de vida y al aumento de peso. Se requiere además que tenga un defecto en la producción de insulina por la célula  $\beta$  que probablemente tiene también un origen genético<sup>29</sup>, aunque algunos investigadores piensan que se adquiere por malnutrición intrauterina<sup>30</sup>. Cuando la demanda de insulina aumenta por el empeoramiento de la resistencia a la insulina y las células  $\beta$  fallan en incrementar su producción, sobreviene la hiperglicemia. Recientemente se ha demostrado que la producción endógena de glucosa, probablemente secundaria a la resistencia hepática a la insulina, también juega un papel

importante en las fases iniciales y particularmente en la nueva categoría de glicemia de ayuno alterada<sup>31</sup>. Cuando una persona ya tiene alteraciones de la glicemia, probablemente estamos diagnosticando el SM en una fase tardía. Su diagnóstico temprano es una indicación para un manejo preventivo mediante cambios terapéuticos en el estilo de vida con reducción del peso.

Aún quedan por resolver muchas interrogantes, especialmente las referentes a la etiopatogenia de la resistencia a la insulina a nivel molecular. Se han propuesto varios mecanismos que comprometen defectos en las vías efectoras de la insulina a partir de la activación del sustrato del receptor de insulina (IRS) en sus diferentes isoformas y que pueden estar causados por agentes externos al sistema como TNF- $\alpha$  procedente del tejido adiposo<sup>32</sup>.

#### **1.4 MARCADORES GENÉTICOS EN OBESIDAD**

Con las nuevas ventajas que ofrece la aproximación molecular de la obesidad, han sido múltiples las investigaciones que han enfocado este problema desde diferentes perspectivas. En tal sentido existen diversos órganos blanco que pueden influenciar de una u otra forma el desbalance energético y por lo tanto inducir a corto, mediano o largo plazo la ganancia de peso.

Desde el punto de vista genético la enfermedad debe entenderse como poligénica y multifactorial. Poligénica porque son múltiples los genes involucrados y mencionados como candidatos y multifactorial, dado que la sola presencia de ciertas variantes genéticas no es una condición suficiente para desarrollar la patología, en otras palabras en la mayoría de las veces se

requiere de algún evento ambiental que ponga de manifiesto una determinada expresión de un gen. Entre estos eventos ambientales se distinguen claramente la dieta y el estilo de vida (actividad física y sedentarismo) como reguladores de una amplia gama de variantes genéticas. Es por esta razón que la obesidad, junto a otras patologías similares (diabetes tipo 2, hipertensión, dislipidemias y síndrome de ovario poliquístico) se enmarcan dentro de aquellas enfermedades de interacción génica, claramente las más difíciles de interpretar desde el punto de vista genético, ya que carecen de un marcador molecular único y absoluto<sup>33,34</sup>.

Mirando con detención algunos órganos y tejidos, uno de los más estudiados en los últimos 8 años ha sido el tejido adiposo y en él podemos mencionar importantes moléculas tales como la leptina, TNF- $\alpha$ , resistina, adiponectina y varias citoquinas relevantes. Para la leptina, la amplia investigación de la cual ha sido objeto, ha revelado que es uno de los más importantes reguladores a largo plazo de la ganancia de peso. A pesar del gran impacto que generó el descubrimiento del gen *ob/ob* y los receptores de leptina; el modelo animal *ob/ob* (carente de leptina) o en el modelo animal deficiente en el receptor (*db/db*) donde se puede demostrar casi en su totalidad el fenómeno de la obesidad, en el hombre se presenta una situación inversa, los obesos producen más leptina y se han detectado sólo 8 familias con obesidad mórbida en la cual aparecen mutaciones a nivel de receptores de leptina<sup>35,36</sup>. Es claro que la condición en la cual hay que enfocar a la leptina es bajo el concepto de leptinorresistencia.



Resistina y adiponectina han tomado un curso parecido, las variantes genéticas que se presentan en el modelo animal (rata o ratón) no se presentan en el hombre a pesar de tener una alta homología, siendo ambas moléculas intermediarias de algunas señales generadas a partir del tejido adiposo. En el caso de TNF- $\alpha$ , esta molécula se encuentra aumentada en la obesidad, los obesos muestran altos niveles de TNF- $\alpha$  que a nivel celular juega un papel muy importante en la expresión de glucotransportadores. El gen de TNF- $\alpha$  presenta polimorfismo al igual que el gen que codifica para su receptor<sup>35,37,38</sup>.

Centrando la atención en regulación más fina, claramente las señales que regulan la diferenciación adipocitaria tienen un grado de importancia mayor. Así, factores transcripcionales como PPAR o C-EBP pueden ser cruciales en la maduración y conducción del estado de pre-adipocito a adipocito y por lo tanto su grado de polimorfismo o nivel de expresión adquiere una relevancia notable en el origen de la obesidad<sup>39</sup>, dado que son varias las series que describen la regulación (activación o inhibición) de estos factores nucleares por elementos provenientes de la dieta (por ejemplo PUFA, MUFA, etc).

Al observar el metabolismo lipídico, siendo absolutamente arbitrarios, podemos centrar nuestra atención en varios genes que han sido implicados directa o indirectamente en el proceso de la obesidad. Dentro de estos se encuentran determinadas isoformas de la hormona lipasa termosensible (HLTs), isoformas de la lipasa hepática y tal vez la más importante de las enzimas que regula la hidrólisis de triglicéridos, la lipoproteína lipasa (LPL) la cual posee un amplio grado de polimorfismo y diversas variantes han sido

asociadas en distintas razas y grupos étnicos ya sea con obesidad, hipertrigliceridemia o IR<sup>39</sup>.

La regulación de la ingesta alimentaria no sólo pasa por aquellos órganos y tejidos que nos parecen más evidentes. Gran parte del proceso de modulación de la ingesta debe mirarse a nivel cerebral, centro del cual se generan la mayoría de las órdenes de ingesta o saciedad. Existe una amplia gama de orexinas muy bien definidas que pueden jugar un papel muy relevante en esta regulación a corto plazo de la ingesta. El neuropéptido Y es una de las moléculas que a nivel cerebral, principalmente centros ventromediales y núcleo arcuato regula la ingesta y antagoniza con la leptina en su función<sup>40</sup>.

A nivel del estómago, recientemente se ha descrito a la Gh relina, un péptido de 28 aminoácidos y un importante secretagogo generado en forma abundante por el estómago. Estudios *in vivo* e *in vitro* han puesto en evidencia que Gh relina estimula la liberación de hormona de crecimiento y algunas hormonas tales como la prolactina y la ACTH. Es una molécula que tiene una acción orexigénica. En el modelo animal la administración periférica o intracerebro-ventricular estimula el consumo de alimentos y la utilización de carbohidratos<sup>37</sup>. Gh relina presenta una secreción pulsátil con altos niveles en ayunas. Aparentemente el efecto orexigénico de la Gh relina estaría mediado por los receptores de melanocortina (MC4-R). Recientemente se han reportado 3 polimorfismos para el gen de la Gh relina, encontrándose que dos de estas mutaciones en el gen afectan la secuencia de la pre-pro-ghrelina, siendo tal vez el polimorfismo más informativo el SNP-247.



El páncreas y el intestino son otros dos órganos que también han sido relacionados al fenómeno de la obesidad. A nivel pancreático el polipéptido amiloide parece cumplir alguna función a nivel de homeostasis glucídica. En el intestino, las proteínas transportadoras de ácidos grasos (FABP) también presentan polimorfismo genético y determinadas mutaciones en su gen, principalmente en FABP-2 ha sido correlacionado con incrementos en el IMC y con IR<sup>35</sup>. Es probable que cada isoforma de esta molécula intestinal establezca un tránsito diferencial de ácidos grasos a la circulación, generando por consiguiente un desbalance a nivel de metabolismo lipídico y glucídico.

Por otra parte, no debemos perder de vista aquellos genes involucrados en gasto energético, otra variante que afecta enormemente la ganancia de peso. Entre ellos, tal vez los más estudiados sean receptores beta 2 y beta 3 adrenérgicos (ADRB2 y ADRB3). En el caso de ADRB3 y su mutación Arg64Trp, es el único marcador molecular que presenta asociación con incrementos del IMC en todo el mundo y en todos los grupos étnicos analizados<sup>41</sup>. Por último, dentro de las moléculas involucradas en movilización energética están las proteínas desacoplantes 1, 2 y 3 (UCP-1, 2, 3). A nivel mitocondrial, estas proteínas se encargan del balance de energía y a nivel muscular ciertos polimorfismos del gen UCP-2 y UCP-3 han sido muy bien correlacionados con diferencias notables en el gasto energético de ciertos obesos portadores de algunas variantes específicas que los harían más refractarios a la reducción de peso mediada por ejercicio.

No obstante, los pasos agigantados que da la biología molecular, aún no es posible encontrar un gen mayor que determine sus principales

características. Bajo esta premisa, la contribución de determinadas variantes génicas debe ser tomada con cautela, en el contexto de interacción a la cual obedece la patología y en la cual los eventos ambientales pueden ser de igual o mayor importancia que la variabilidad genética observada en cada población.

## **1.5 FABP-2**

Dentro de la gran cantidad de genes que han sido mencionados como candidatos en el complejo proceso de la obesidad e IR, FABP-2 es uno de los que ha mostrado resultados más consistentes con los fenómenos de acumulación y oxidación de grasa y sensibilidad insulínica. La IR es la condición en la cual una concentración normal de insulina produce un efecto atenuado en términos de homeostasis glucídica. Es la base fisiopatológica de múltiples enfermedades de alta prevalencia, dentro de las cuales se destacan la obesidad, la intolerancia a la glucosa, la diabetes mellitus, la hipertensión arterial y la dislipidemia. El conjunto de estas patologías se conoce como Síndrome Metabólico (SM). Desde el punto de vista genético, FABP-2 está secuenciado y existen diversos estudios in vitro que han aportado información respecto a su papel fisiológico. La proteína se expresa preferentemente en el intestino delgado y está asociada directamente al transporte de ácidos grasos. FABP-2 contiene un sitio simple para la unión del ligando, con una alta afinidad por ácidos grasos de cadena larga, tanto saturados como insaturados. La existencia de variantes genéticas en el locus de FABP-2 podría tener una gran relevancia en el transporte diferencial de ácidos grasos en la etiología de la

obesidad. Lo anterior ha sido establecido tanto en estudios de ligamiento genético, como en estudios de asociación utilizando algunos polimorfismos descritos para FABP-2. Dicha variante genética se caracteriza por una sustitución de treonina por alanina en la posición 54 de este gen (Ala54Tre). El alelo portador de treonina es relativamente común en la población, con una frecuencia cercana al 30%, como lo describen estudios en indios Pima y en caucásicos<sup>42-46</sup>. Este alelo se ha asociado in vivo con altas concentraciones de insulina en ayunas y aumentos considerables en la tasa de oxidación de ácidos grasos. La variante alélica treonina 54 posee una afinidad 2 veces mayor para unir ácidos grasos de cadena larga, que el tipo silvestre alanina. Diversos estudios han indicado que este polimorfismo podría aumentar la absorción y/o procesamiento de ácidos grasos de cadena larga provenientes de la dieta a nivel intestinal, favoreciendo con ello el aumento de la oxidación y competencia con la glucosa, generando una disminución de la acción insulínica, pudiendo este fenómeno tener gran importancia en la obesidad y desarrollo de IR<sup>42</sup>.

## **1.6 POBLACIONES AMERINDIAS DE CHILE**

Debajo de su aparente homogeneidad, Chile es un mosaico de etnias, geografías, ecosistemas y culturas muy diversas<sup>47,48</sup>. La formación más estable de la población chilena estaría formada por tres componentes distintos, los habitantes amerindios (nativos), los colonizadores europeos (principalmente españoles) y los esclavos africanos.

Históricamente los nativos amerindios ocuparon el territorio miles de años antes de la llegada de los españoles, antes de la época colombina el territorio de Chile sufrió invasiones de población Mapuche por el sur y de población Quechua por el norte, de tal modo que la estructura genética de los amerindios era heterogénea antes de la llegada de los españoles.

La actual población chilena que se compone de aproximadamente 17 millones de habitantes, alcanzaría en la actualidad las siguientes proporciones, 60% de origen europeo, 33% de origen amerindio y 7% de origen africano<sup>49</sup>.

### **1.6.1 LA POBLACIÓN AYMARA**

En el presente, los Aymaras de Chile constituyen el segundo grupo étnico del país, que sigue en importancia a los Mapuches. Actualmente, ascienden a un total de 48.477 habitantes (INE 1992), de los cuales 15.461 residen en su hábitat original rural o bien en sectores urbanos de la I Región. Los restantes 33.016 se dispersan en diversas regiones del país.

La migración Aymara en Chile empieza a hacerse notoria en las décadas de 1930 y 1940, cuando era común que llegaran a las oficinas salitreras del norte, pequeñas caravanas de Aymaras provenientes de la precordillera y altiplano de Tarapacá con el propósito principal de hacer trueque o venta de sus diversos productos agropecuarios andinos. Adquirían a su vez nuevos abarrotes y posteriormente regresaban a sus asentamientos andinos con la nueva carga. Algunos de ellos se convirtieron en eficientes obreros de las salitreras. Más tarde, en 1977, con la apertura de caminos los Aymaras

iniciaron su adquisición de vehículos para transportar y vender sin intermediarios sus productos en el mercado urbano. De este modo el pastor jefe de hogar se convirtió en transportista, delegando sus funciones de pastoreo en su esposa e hijos<sup>50-52</sup>. Inevitablemente, se produjo después la migración de familias Aymaras, que tendieron a abandonar sus viviendas y terrenos cordilleranos de pastoreo y cultivo dejándolos a cargo de un cuidador. En el nuevo medio, muchas de dichas familias renunciaban a sus recursos productivos agropastoriles tradicionales, buscando nuevas opciones para mejorar su calidad de vida.

De este modo, se generó un flujo migratorio creciente que incentivó e incrementó el proceso de aculturación, el debilitamiento de los lazos de parentesco con el patrilineaje, y la degradación del ecosistema local altiplánico o precordillerano.

Según las opiniones entregadas por los propios migrantes Aymaras, las principales causas de su proceso migratorio han sido y son la sequía, el conflicto religioso, los problemas educacionales, la presión social, el trabajo, y otros factores misceláneos. Hay consenso en que la sequía y sus efectos destructivos en el hábitat andino y sus recursos productivos han sido el factor causal desencadenante de la migración.

La población Aymara, específicamente la que vive sobre los 2 mil metros de altura, dada su localización aislada, dependen exclusivamente de la agricultura basado en el cultivo de papas, quinoa, cebada y en el consumo de carne de llamas y alpacas.

La prevalencia de diabetes tipo 2 en la población Aymara que vive a altas altitudes en el norte de Chile, es más baja que la de la población urbana caucásica de Santiago, y mucho más baja que la de otros grupos amerindios que han adoptado estilos de vida de las sociedades industriales occidentalizadas. A pesar de una alta prevalencia de IMCs de al menos 30 kg/m<sup>2</sup>, altos niveles de actividad física y bajos valores promedio de HOMA-IR y los niveles de insulina, podrían ser los responsables en parte, de las bajas frecuencias de diabetes tipo 2. Los datos de perfil lipídico alterado observado en este grupo<sup>18</sup> podrían estar asociados a diferencias en la composición de la dieta.

### **1.6.2 LA POBLACIÓN MAPUCHE**

Los Mapuches constituyen una subcultura diferente dentro de la cultura chilena, poseen una lengua autóctona y exhiben características étnicas distintivas. Se agrupan en reducciones, conglomerados de varias familias, en su mayoría unidas por lazos de parentesco, que habitan un territorio determinado y son dirigidas por un jefe común o cacique. La mujer Mapuche, en general, se dedica a las labores del hogar y al cultivo de la huerta. Su vida es bastante sedentaria, ya que por las características de vida y de vivienda las tareas de limpieza son mínimas, la alimentación muy simple y en la comunidad estudiada no existe el cultivo de huertas ni la crianza de animales menores. En cambio el hombre, responsable del sustento económico, frecuentemente



trabaja lejos del hogar recorriendo grandes distancias y realizando labores pesadas.

En el presente, los Mapuches constituyen la población indígena mayoritaria de Chile. Según las cifras aportadas por el censo oficial de Chile (INE 1992), ellos ascienden a 928.060 habitantes. Entre ellos, 337.676 residen en sus respectivas regiones originales del sur del país (VIII, IV y X). Sin embargo, el centro gravitacional principal hacia el cual converge la mayoría de los migrantes Mapuches es Santiago y sus áreas periféricas circundantes. En la actualidad, la población Mapuche urbana asciende a 409.079 habitantes, seguidos muy de lejos por grupos minoritarios de Aymaras (12.308), mientras los restantes 181.305 migrantes Mapuches se dispersan en las demás regiones del país. A lo anterior se suma la migración y radicación de una importante cantidad de Mapuches chilenos en la Patagonia argentina.

Mediante el estudio de los datos demográficos<sup>53</sup>, es posible inferir que en la medida que avanza progresivamente el proceso de desarrollo experimentado en Chile, se produce el incremento de la migración rural-urbana Mapuche focalizada principalmente en la ciudad de Santiago.

En estudios anteriores se ha señalado la alta prevalencia de obesidad y paradójicamente baja prevalencia de diabetes tipo 2 en Mapuches viviendo en ambiente rural, lo que indicaría una influencia genética protectora sobre la diabetes<sup>20</sup>.

Una clave importante para interpretar la mayor prevalencia de obesidad y factores de riesgo lipídico que se presenta en estos grupos podría estar dado por la constitución de los alimentos, si bien se conoce que la dieta Mapuche es

bastante simple, constituida por un gran consumo de carbohidratos (leguminosas y cereales), resulta lógico pensar que este alto consumo de energía, sumado a un bajo gasto metabólico, explique en este grupo étnico el mayor porcentaje de obesidad<sup>10</sup>.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVOS GENERALES**

Estudiar la frecuencia del polimorfismo de FABP-2 en población Aymara y Mapuche de Chile y asociarla con indicadores de obesidad y componentes del Síndrome Metabólico.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

**2.2.1** Determinar la frecuencia del polimorfismo Ala54Tre de FABP-2 en población Aymara y Mapuche.

**2.2.2** Establecer una comparación entre las diferentes frecuencias obtenidas en las poblaciones Aymara y Mapuche, y también con las poblaciones previamente estudiadas y cuyos datos se pueden encontrar en la literatura.

**2.2.3** Estimar si existe asociación entre el polimorfismo Ala54Tre de FABP-2 e indicadores de Obesidad y factores asociados al Síndrome Metabólico.

### 3. HIPÓTESIS

Las poblaciones aborígenes de Chile (Mapuche y Aymara) se caracterizan por compartir dos rasgos epidemiológicos muy particulares : una alta frecuencia de obesidad y una baja prevalencia de diabetes tipo 2, siendo esta una combinación poco común dado que generalmente ambas enfermedades van en aumento . Lo anterior ha permitido especular que estos grupos y otras etnias de Latinoamérica que presentan baja frecuencia de diabetes , podrían estar protegidos desde el punto de vista genético al portar combinaciones alélicas y genotípicas distintas.

Uno de los genes candidatos propuestos en diversos estudios de obesidad y diabetes ha sido el gen FABP-2. Esta proteína tiene un papel esencial en el transporte diferencial de ácidos grasos libres para su posterior oxidación. La variante genética Ala54Tre en FABP-2 ha demostrado modificar este transporte y se han descrito ciertas asociaciones de este polimorfismo con obesidad, diabetes y componentes del SM en varias poblaciones. En este sentido nos hemos planteado la hipótesis de que:

**“ El polimorfismo Ala54Tre está asociado a componentes del SM en estas dos poblaciones con baja prevalencia de diabetes tipo 2”**

## 4. MATERIALES

### 4.1 MUESTRAS

La muestra propuesta para este estudio, fue capturada en dos investigaciones anteriores sobre prevalencia de enfermedades crónicas en grupos autóctonos de Chile (período 1996-1998). La población investigada participó en un estudio de prevalencia y genética de diabetes tipo 2, los individuos asistieron voluntariamente al consultorio, colegio o iglesia donde se realizó una prueba de tolerancia oral a la glucosa en condiciones de ayuno. Participaron de una invitación abierta a la comunidad para individuos mayores de 20 años, firmaron su correspondiente consentimiento informado para esta investigación que fue aprobada por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina (Sede Occidente) de la Universidad de Chile. La muestra fue almacenada a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Todos los conceptos antropológicos que permiten agregar a los grupos humanos en categorías biológicas más o menos homogéneas se prestan al debate teórico y a la discusión ideológica. Sin embargo, en investigaciones como ésta se hace necesario aplicar algún criterio de agrupación que permita fijar la representatividad de la muestra desde el punto de vista étnico. Esto se analizó sobre la base de la residencia al interior de cada poblado, la existencia de ambos apellidos autóctonos, rasgos físicos característicos y clasificación según grupo sanguíneo. El tamaño de la muestra analizada en este proyecto es de 113 individuos mapuches y 100 individuos aymaras.

## 4.2 REACTIVOS

- Sigma: EDTA, Trizma Base (Tris[hidroximetil]aminometano).
- Gibco BRL: *Cfo* I y Reactivo 1.
- Winkler LTDA: Bromuro de Etidio (solución 10 mg/mL), buffer TAE 50X, Alcohol Etilico, Acetato de Sodio, buffer de carga (azul de bromofenol).
- MundoLab: Etanol Absoluto.
- Invitrogen: Agarosa Ultra Pura, enzima de restricción *Hha* I y Reactivo 2, marcador de peso molecular de 100 bp (100 bp DNA ladder), desoxinucleótidos dATP, dTTP, dCTP, dGTP, buffer 10XPCR, MgCl<sub>2</sub>, *Taq* DNA polimerasa, primers y Proteínasa K (PK).
- Linco Research INC: Human Leptin Ria Kit.
- DPC Diagnostic: Kit de Insulina.
- Biometra: Termociclador (Personal Cyclor).
- Pharmacia Biotech: cubeta para mediciones en GeneQuant y equipo de GeneQuant (RNA/DNA Calculator).
- Vilber Lourmat: Cámara con cuarto oscuro y luz UV (Darkroom with camera support for table), software para capturar la imagen (Biocapt MW).
- SONY: Impresora Video Graphic Printer UP-895 MD y papel fotográfico.
- Merck: TRIZMA Base, SDS, Cloruro y Citrato de Sodio.

## **5. MÉTODOS**

### **5.1 Mediciones Antropométricas y Metabólicas**

Se realizaron mediciones antropométricas básicas como: peso, talla, cintura y cadera con el individuo descalzo y con ropa ligera. La presión arterial se determinó con el individuo sentado y en reposo, considerándose el promedio de dos mediciones, una realizada al ingreso y otra después, una vez finalizada la prueba de tolerancia. El protocolo clínico de esta investigación fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital San Juan de Dios (Facultad de Medicina, Universidad de Chile), el cual resguarda la confidencialidad de los participantes y la seguridad de la aplicación de su protocolo clínico estandarizado. La definición de hipertensión arterial (HTA) utilizada corresponde al último consenso mundial que estableció los siguientes puntos de corte para HTA como: presión sistólica mayor 140 y/o presión diastólica mayor 80 mmHg<sup>54</sup>.

La muestra de sangre se obtuvo después de un período de ayuno de 12-14 horas mientras se realizó una prueba de tolerancia a la glucosa para la detección de diabetes tipo 2. Los sujetos diabéticos detectados por esta pesquisa fueron excluidos de esta investigación. Todas las determinaciones bioquímicas se realizaron en la muestra tomada en ayunas. La leptina y la insulina se determinaron en triplicado mediante un radioinmunoanálisis específico en cada caso (Linco Research y DPC Diagnostic).

## **5.2 Peso**

Se utilizó una balanza ubicada sobre un piso duro. La persona se encontraba descalza y con una sola capa de ropa, vale decir, pantalón o falda y blusa o camisa, y sin cargar con cosas pesadas ni joyas. La persona se subió a la báscula, procurando distribuir el peso en ambos pies. El valor de la medición se registró en Kg.

## **5.3 Talla**

La persona estuvo de pie y descalza sobre un lugar donde el piso era duro, firme, plano y sin alfombras. Se pidió a la persona que se parara erguida contra una pared, con los pies y los talones juntos, y que tocara la pared con los pies, las nalgas, la espalda y la cabeza. Se tomó la medida con cinta métrica y el registro se hizo en metros.

## **5.4 Índice de Masa Corporal (IMC)**

IMC es un índice simple de peso-por-altura que es usado comúnmente para clasificar sobrepeso y obesidad en adultos. Es calculado como el peso en kilogramos dividido por el cuadrado de la altura en metros ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ).

La clasificación de sobrepeso y obesidad, de acuerdo al IMC, se muestra en la **Tabla 3**.



<b>Clasificación</b>	<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	<b>Riesgo de co-morbilidad</b>
Bajo-peso	< 18.5	Bajo (pero el riesgo de algunos problemas clínicos aumenta)
Rango Normal	18.5 - 24.9	Promedio
Sobrepeso	≥ 25	
Pre-obeso	25 - 29.9	Incrementado
Obeso clase I	30.0 - 34.9	Moderado
Obeso clase II	35.0 - 39.9	Severo
Obeso clase III	≥ 40.0	Muy severo

**Tabla 3 : Clasificación de sobrepeso en adultos según el IMC**

Es importante notar que los valores de IMC son independientes de la edad y son los mismos para ambos sexos. Sin embargo, el IMC no puede corresponder al mismo grado de gordura entre diferentes poblaciones, debido en parte a las diferentes proporciones corporales.

Esta tabla muestra una relación simplista entre IMC y riesgo de co-morbilidad, el cual puede ser afectado por una serie de factores, incluyendo la naturaleza de la dieta, grupo étnico y nivel de actividad. Los riesgos asociados con incrementos en IMC son continuos y graduales, y empiezan con un IMC de 25. La interpretación de los gradientes de IMC en relación al riesgo de co-morbilidad, puede diferir para diferentes poblaciones.

## **5.5 ICC**

Se midieron los perímetros de cintura y cadera. Para estas mediciones se usó cinta métrica flexible y el registro se hizo en centímetros. Para el perímetro de cintura se buscó la parte más estrecha de la persona entre las costillas y el tope del hueso de la cadera. Se considera factor de riesgo si este valor es mayor de 88 cm en el caso de las mujeres y 102 cm en el caso de los hombres.

El perímetro de cadera se midió en la parte más ancha de las nalgas y cuidando de que la cinta métrica quedara paralela al piso. Se considera factor de riesgo si la relación cintura/cadera (es decir, ICC) es mayor de 0.8 para las mujeres y 1.0 para los hombres, que son aquellos con obesidad abdominal o tipo manzana.

## **5.6 Triglicéridos**

La determinación de triglicéridos plasmáticos se realizó a través de métodos enzimáticos tradicionales, a través de medición automatizada (Photometric 4010, Roche) con un coeficiente de variación < 3 %.

## 5.7 Glicemia

	<b>En Ayunas</b>	<b>2 horas después de comidas</b>
<b>Normal</b>	115 mg/dL	140 mg/dL
<b>Aceptable</b>	140 mg/dL	200 mg/dL
<b>Alto</b>	+ de 200 mg/dL	+ de 235 mg/dL

**Tabla 4: Se pueden ver los rangos de valores establecidos por la Asociación Americana de Diabetes para la determinación de glicemias.**

Las determinaciones se efectuaron mediante técnicas colorimétricas estándares (Método de Glucosa Oxidasa) en una muestra de sangre en ayunas y para glicemia e insulinemia se tomó además una muestra post carga de 75 g de glucosa. El coeficiente de variación estimado fue < 2%.

## 5.8 Leptina

Se midió por radioinmunoensayo directo mediante kit comercial (Linco Research Inc). El límite de sensibilidad para leptina humana fue de 0.5 ng/ml y los coeficientes de variación intra e interensayo fueron del 2,5% y 5% respectivamente.

## 5.9 Insulina

La insulina plasmática se determinó mediante un radio-inmunoanálisis específico (DPC Diagnostics, USA). Con un coeficiente de variación intraensayo del 5% y un coeficiente de variación interensayo del 8%.

## 5.10 HOMA

Es un método para la valoración de la resistencia insulínica basal, determinado en la condición homeostática del ayuno. El modelo presupone que el control de glucemia, insulinemia y péptido C plasmáticos en ayunas es gobernado por el retrocontrol ejercido por el páncreas, hígado y tejidos insulinosensibles e insulinoinsensibles intervinientes en el metabolismo de la glucosa. El modelo puede ser usado para evaluar la secreción de insulina y la insulinosensibilidad de individuos. El HOMA ha sido desarrollado y validado a partir del clamp hiperinsulinémico-euglucémico (para la insulinosensibilidad) y el clamp hiperglucémico (para la secreción de insulina). Aunque el HOMA es el mejor test fisiológico para evaluar la secreción y la sensibilidad a la insulina en estudios poblacionales, su uso en la evaluación clínica individual aún no ha sido validado, debido a su elevado coeficiente de variación<sup>55</sup>.

Para su determinación se utiliza la concentración de insulina basal y la glicemia basal a través de la siguiente fórmula:

$$\text{HOMA}_{\text{IR}} = \frac{\text{Insulina en ayunas } (\mu\text{U/ml}) \times \text{Glicemia en ayunas (mmol/l)}}{22.4}$$

El aumento de la resistencia a la insulina y especialmente la reducción de la secreción de insulina, medidos por el HOMA, han sido asociados con predicción y progresión de diabetes tipo 2.

## **5.11 Extracción de DNA**

La extracción del DNA genómico de la totalidad de las muestras (almacenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$ ) se hizo por el método de la extracción fenólica<sup>56</sup>, el cual se detalla a continuación.

### **5.11.1 Lavado Celular**

- 1) Se colocaron 500  $\mu\text{L}$  de la muestra (sangre) en un tubo eppendorf de 1.5 mL.
- 2) Se preparó en forma paralela 250 mL de solución de lavado (1X SSC) a partir de una solución stock de SSC 20X (buffer salino formado por cloruro y citrato de sodio).
- 3) Se adicionó al tubo con muestra, 800  $\mu\text{L}$  de solución de lavado, se cerró bien el tubo y se agitó en vórtex.
- 4) Se centrifugó la muestra a 12000 rpm durante dos minutos y se eliminó el sobrenadante por inversión directa.
- 5) Se volvió a repetir el paso 4 y 5 en dos oportunidades más. Debe conseguirse visualizar claramente un residuo (pellet) de células blancas y luego eliminar la mayor cantidad de hemoglobina.

### **5.11.2 Digestión Celular**

- 1) Antes de empezar este paso, se graduó la temperatura del incubador a 56°C.
- 2) Se preparó la solución de digestión de la siguiente forma:
  - 375  $\mu$ L de Acetato de Sodio (0.2M)
  - 25  $\mu$ L SDS (10%)
  - 5  $\mu$ L de PK (20 mg/mL)
- 3) Se adicionaron los 405  $\mu$ L de mezcla de digestión a cada tubo eppendorf con las células previamente aisladas.
- 4) Se agitó fuertemente dando golpes con los dedos y en el vórtex hasta homogeneizar las células en el líquido.
- 5) Se incubó el tubo a 56°C durante 1 hora. Cada cierto tiempo (10-15 minutos), se retiró el tubo del incubador y se volvió a agitar ya que las células suelen reagruparse en el fondo del tubo y se tendría una digestión poco efectiva.

### **5.11.3 Extracción Fenólica**

- 1) Cuando se cumplió el tiempo previsto para la digestión, se retiró el tubo del baño y se adicionaron 120  $\mu$ L de mezcla de extracción (fenol:cloroformo:alcohol isoamílico 25:24:1).
- 2) Se cerró el tubo fuertemente y se agitó durante unos 30 segundos. Se centrifugó el tubo a 12000 rpm durante 2 minutos.

- 3) Se retiró con cuidado el tubo de la centrífuga, aquí se diferenciaron dos fases, una líquida (superior) donde se encuentra el DNA y una fase más compacta (inferior) donde se encuentra gran parte de las proteínas que se están eliminando. Se transfirió la fase líquida con mucho cuidado a otro tubo eppendorf, arrastrando lo menos posible de la fase proteica.
- 4) Con la fase acuosa ya en el otro tubo eppendorf, se agregó 1.0 mL de etanol absoluto frío (se encontraba a  $-20^{\circ}\text{C}$ ). Se mezcló por inversión (se observó el DNA). Se colocó el tubo en hielo durante 15 minutos.
- 5) Se centrifugó el tubo a 12000 rpm durante 2 minutos, y se observó dónde quedó el residuo y se descartó todo el sobrenadante. Se eliminó la mayor cantidad de etanol poniendo el tubo invertido sobre toalla nova.
- 6) Una vez evaporado el etanol, se adicionaron 180  $\mu\text{L}$  de TE (pH 7.4).

### **5.12 Purificación del DNA**

- 1) Se temperó a  $37^{\circ}\text{C}$  el DNA durante 15 minutos.
- 2) Se agregaron 20  $\mu\text{L}$  de Acetato de Sodio 2M, y se mezclaron durante 30 segundos por inversión.
- 3) Finalmente se agregaron 500  $\mu\text{L}$  de etanol (80%) frío, se mezcló por inversión y se centrifugó a 12000 rpm por 2 minutos.
- 4) Se eliminó el sobrenadante, se evaporó el etanol y se reconstituyó el DNA en 100  $\mu\text{L}$  de TE (pH 7.4).

### **5.13 Lectura de concentración de DNA (Gene Quant)**

El equipo que se usó para esto es un espectrofotómetro UV (Gene Quant). Para esto se utilizó una cubeta de cuarzo, en donde se agregaron 80  $\mu$ L del DNA que se necesitaba cuantificar. Pero primero, se introdujo la misma cantidad de TE, el cual sirve de blanco, el cual se fija a 260 nm. Luego las muestras se leyeron a 280 nm.

Para DNA genómico 1 O.D.= 50  $\mu$ g de DNA.

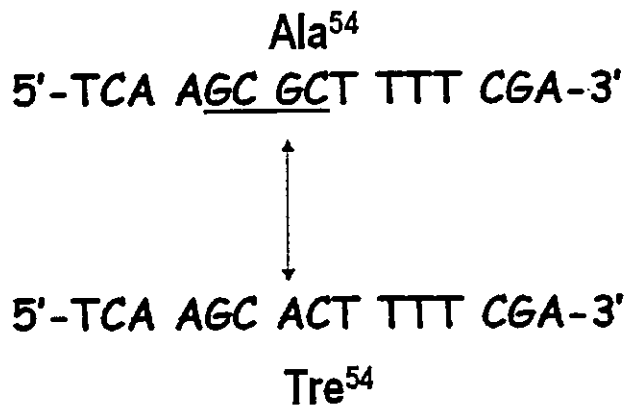
El equipo entrega el valor de la concentración de DNA, de proteína y la relación entre estos valores.

### **5.14 Amplificación por PCR y análisis de los polimorfismos por digestión enzimática (RFLPs)**

#### **5.14.1 Amplificación por PCR**

En este trabajo, la amplificación y digestión por enzima de restricción fueron hechas de acuerdo al método descrito por Baier et al.<sup>42</sup> Después de la extracción de DNA genómico por el método antes mencionado y de haber realizado la medición de su concentración, se procedió a la amplificación mediante PCR del exón 2 del gen de FABP-2, sitio en donde se encuentra la sustitución GCT→ACT (**Figura 3**) que da lugar al aminoácido treonina en reemplazo del aminoácido alanina en la posición 54 (Ala54Tre). Para esto se usaron los siguientes primers 5'-ACAGGTGTTAATATAGTGAAAAG-3' y 5'-TACCCTGAGTTCAGTTCCGTC-3'.





**Figura 3: Posición 54 de FABP-2, sitio en donde se encuentra la sustitución que da lugar al aminoácido Treonina en lugar de aminoácido Alanina. Se subraya el sitio de corte de la enzima *Hha* I.**

Las concentraciones utilizadas fueron de 200 ng de DNA, 1X de buffer PCR, 1.5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM de dNTPs, 5.1 pM de cada primer y 1 U de Taq DNA polimerasa. Se llegó a un volumen final de 20 µL. Cada experimento incorporó un tubo blanco de la reacción, donde se agregaron todos los componentes de un PCR normal, pero se reemplaza el DNA por agua destilada. Se hicieron 30 ciclos de temperatura, de 95°C por 1 minuto, de 55°C por 1 minuto, de 72°C por 2 minutos y un ciclo de extensión final a 72°C por 3 minutos. Con este programa de PCR, logramos amplificar un fragmento de 180 bp que contiene la zona de la mutación. El detalle del programa de PCR se muestra en la **Tabla 5**.

Algunas características de los primers se detallan a continuación.

## **Características de los primers**

### Primer 1

Secuencia (5'-3'): ACA GGT GTT AAT ATA GTG AAA AG

Largo del primer: 23

Peso Molecular ( $\mu\text{g}/\mu\text{mol}$ ): 7160.6

Escala de síntesis: 200 nmol

Coefficiente de Extinción Milimolar ( $\text{OD}/\mu\text{mol}$ ): 287.0

$T_m$  (1 M Na<sup>+</sup>): 65

$T_m$  (50 mM Na<sup>+</sup>): 43

%GC: 30

Eficiencia de acoplamiento: 99%

### Primer 2

Secuencia (5'-3'): TAC CCT GAG TTC AGT TCC GTC

Largo del primer: 21

Peso Molecular ( $\mu\text{g}/\mu\text{mol}$ ): 6349.2

Escala de síntesis: 200 nmol

Coefficiente de Extinción Milimolar ( $\text{OD}/\mu\text{mol}$ ): 210.0

$T_m$  (1 M Na<sup>+</sup>): 71

$T_m$  (50 mM Na<sup>+</sup>): 49

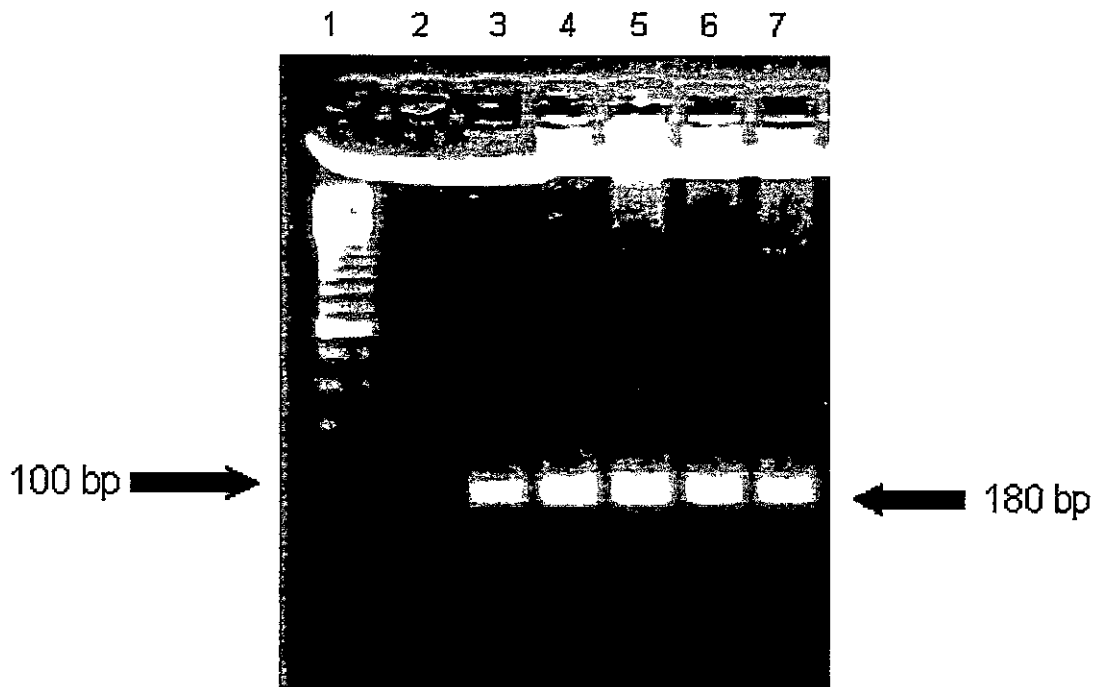
%GC: 52

Eficiencia de acoplamiento: 99%

Composición de mezcla de PCR	Programa de PCR
dNTPS: 0.2 mM (2 10XPCR: 1X MgCl <sub>2</sub> : 1.5 mM Primer 1: 5.1 pM Primer 2: 5.1 pM Taq Polimerasa: 1 U	Denaturación: 95°C por 1 minuto, Annealing: 55°C por 1 minuto, Extensión: 72°C por 2 minutos, Todo esto se repite a lo largo de 30 ciclos. Finalmente hay un último ciclo de extensión final: 72°C por 3 minutos.

**Tabla 5: El detalle de la composición de la mezcla de PCR que se usó en estos experimentos y el programa de PCR que usamos en el termociclador.**

Posteriormente, para poder visualizar los productos de la amplificación se tomaron 8  $\mu$ L de la mezcla de PCR, los que se tiñen con 2  $\mu$ L de buffer de carga (azul de bromofenol) los cuales se dispusieron en un gel de agarosa al 2% con bromuro de etidio, también se cargó en uno de los carriles el estándar de peso molecular de 100 bp. La electroforesis se dejó correr por un período de aproximadamente 1 hora a un voltaje de 90 V y se observó la intensidad de las bandas a través de un transiluminador de luz UV, la cual fue captada por una cámara que iba incluida en un cuarto oscuro y que llevó la imagen a un computador, donde posteriormente fue posible imprimirla o almacenarla **(Figura 4).**



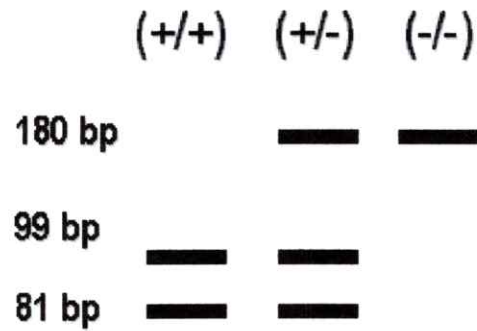
**Figura 4: Gel al 2% en donde se pueden observar los amplificandos correspondientes al fragmento de 180 bp de FABP-2 en los carriles del 3 al 7. En el carril 2 se observa el blanco y en el 1 el Estándar de Peso Molecular (de 100 bp).**

### 5.14.2 Corte con enzima de restricción

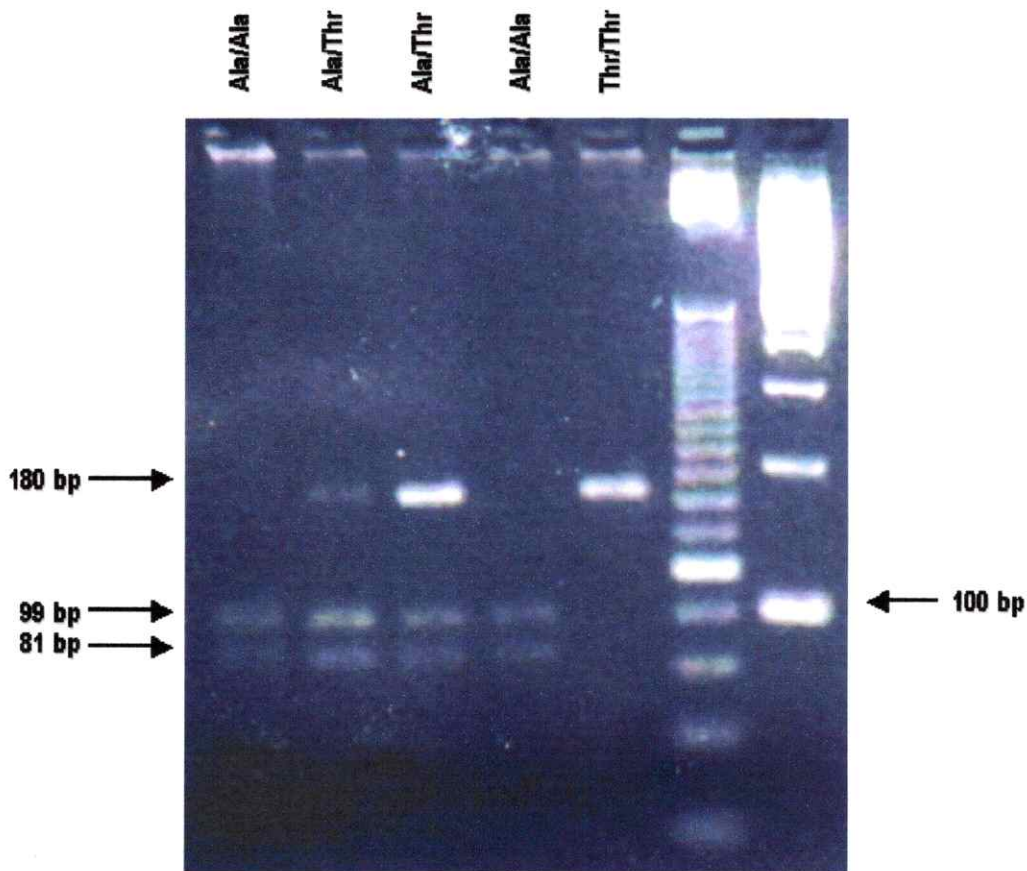
En este estudio fue usada la endonucleasa de restricción *Hha I* para detectar el polimorfismo Ala54Tre, el cual rompe el sitio *Hha I*. El producto de PCR fue digerido con *Hha I* a 37°C por 3.5 horas, o alternativamente a 60°C por 2 horas. Se usaron geles de agarosa al 4% con 1 mg/mL de bromuro de etidio, se hizo electroforesis por 1 hora a 90 V y fotografía bajo luz UV. Los productos de PCR que carecían del sitio *Hha I* migraron a un único fragmento de 180 bp (aquellos que transportan a Tre 54), pero los productos de PCR que contenían el sitio *Hha I* fueron divididos en dos fragmentos (de 99 y 81 bp).

Condición	Tamaño del fragmento
Amplificado por PCR	180 bp
<b>Digestión con Hha I</b>	<b>Tamaño y número de bandas</b>
Homocigoto wt (Ala/Ala)	2 bandas de 99 y 81 bp
Heterocigoto (Ala/Tre)	3 bandas de 180, 99 y 81 bp
Homocigoto Mutante (Tre/Tre)	1 banda de 180 bp

**Tabla 6: Diagrama de los posibles fragmentos que se pueden encontrar al digerir el producto de PCR y posterior corte en el gen de FABP-2**



**Figura 5:** Se pueden ver las bandas que es posible encontrar en los geles después de hacer digestión con enzima de restricción, esto nos permite determinar si hubo o no mutación para FABP-2 en cada sujeto estudiado.



**Figura 6:** Gel al 4% en donde se pueden observar todas las posibles bandas que se pueden obtener al digerir con endonucleasa *Hha* I un fragmento de FABP-2 y con las cuales es posible determinar el polimorfismo.

## 6. RESULTADOS

### 6.1 DETERMINACIÓN DE LA FRECUENCIA DEL POLIMORFISMO Ala54Tre DE FABP-2 EN POBLACIÓN AYMARA Y MAPUCHE

#### 6.1.1 AYMARAS

El total de personas de este grupo fue de 100. El rango de edades de este grupo fue de 21 y 80 años, con una media de  $50.9 \pm 17.2$  años y una mediana de 52 años. De ellos 20 (20%) eran hombres y 80 (80%) eran mujeres. Con los Aymaras fueron obtenidas las siguientes frecuencias genotípicas para el polimorfismo en FABP-2 (**Tabla 7**).

Genotipo	Total	Frecuencias Genotípicas
Ala/Ala	66	0.66
Ala/Tre	32	0.32
Tre/Tre	2	0.02
<b>Total</b>	100	1.00

**Tabla 7: Frecuencias encontradas para los tres genotipos de FABP-2 en población Aymara.**

Se puede observar que sólo se encontraron 2 individuos que presentaban el genotipo homocigoto mutante (Tre/Tre), siendo ésta la frecuencia más baja descrita en la literatura.

### 6.1.2 MAPUCHES

El total de personas de este grupo fue de 113. El rango de edades de este grupo fue de 18 y 68 años, con una media de  $44 \pm 13.97$  años y una mediana de 44 años. De ellos 30 (27%) eran hombres y 83 (73%) eran mujeres (**Tabla 8**).

Genotipo	Total	Frecuencia
Ala/Ala	53	0.47
Ala/Tre	49	0.43
Tre/Tre	11	0.10
<b>Total</b>	<b>113</b>	<b>1.00</b>

**Tabla 8: Frecuencias encontradas para los tres genotipos de FABP-2 en población Mapuche.**

### 6.1.3 EQUILIBRIO DE HARDY-WEINBERG

Ambas poblaciones se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg. El p-value exacto para la distribución de frecuencias genotípicas es de 0.73 en el grupo Aymara y de 0.95 para la población Mapuche analizada. Estos datos se pueden ver en la **Tabla 9**.



**6.2 COMPARACIÓN ENTRE LAS FRECUENCIAS GÉNICAS  
OBTENIDAS EN POBLACIÓN AYMARA Y MAPUCHE CON OTRAS  
POBLACIONES YA ANALIZADAS**

	<b>Ala/Ala</b>	<b>Ala/Tre</b>	<b>Tre/Tre</b>	<b>Ala</b>	<b>Tre</b>	<b>P-value EHW</b>
<b>Santiago (n=425)</b>	0.32	0.45	0.23	0.55	0.45	0.06
<b>Japoneses (n=237)</b>	0.41	0.49	0.11	0.65	0.35	0.39
<b>Suecos (n=59)</b>	0.42	0.46	0.12	0.70	0.30	0.34
<b>Indios Pima (n=457)</b>	0.48	0.45	0.07	0.70	0.30	0.07
<b>Coreanos (n=96)</b>	0.45	0.42	0.13	0.66	0.34	0.45
<b>Mujeres USA (n=60)</b>	0.61	0.30	0.09	0.76	0.24	0.21
<b>Caucásicos USA (n=55)</b>	0.44	0.49	0.07	0.69	0.31	0.33
<b>Aymara (n=100)</b>	0.66	0.32	0.02	0.82	0.18	0.73
<b>Mapuche (n=113)</b>	0.47	0.43	0.10	0.69	0.31	0.95

**Tabla 9: Comparación de la frecuencia del polimorfismo FABP-2 en distintas poblaciones del mundo.**

Hay que separar los resultados en frecuencias alélicas y frecuencias genotípicas. Al fijarse en las frecuencias alélicas, vemos que suecos, Pima, mapuches y caucásicos, son muy similares (frecuencia de Ala entre 0.69 y 0.7). Japoneses y coreanos conforman otro grupo con frecuencias

parecidas (frecuencia de Ala entre 0.65 y 0.66). La población de Santiago y de mujeres de USA, no se parecen a ningún otro grupo (frecuencia de Ala 0.55 y 0.76, respectivamente).

Hay una gran similitud en la distribución de frecuencias genotípicas entre poblaciones de origen asiático (japoneses y coreanos) y la población Mapuche. Aymaras, mujeres de USA también tienen frecuencias muy parecidas. Sin embargo, la población Aymara presenta la frecuencia más baja reportada en la literatura para el genotipo Tre/Tre. La población de Santiago a su vez, no presenta similitud con ninguna otra población.

### 6.3 ANÁLISIS DE LOS INDICADORES DE OBESIDAD Y COMPONENTES DEL SÍNDROME METABÓLICO SEGÚN GENOTIPO FABP-2

#### 6.3.1 MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS PARA AYMARAS

Variable	Ala/Ala (n=66)	Ala/Tre (n=32)	Tre/Tre (n=2)
Peso (Kg)	68.6±13	72.2±11.9	71±4.2
Talla (m)	1.5±0.1	1.5±0.1	1.5±0.1
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	29.4±5.5	30.2±5.6	30.2±5.1
ICC	0.9±0.1	0.9±0.1	0.9±0.1

**Tabla 10: Medidas antropométricas encontradas en población Aymara según genotipo FABP-2.**

En la **Tabla 10** se observa que no hay diferencias estadísticas al comparar variables básicas de antropometría según genotipo portador o no del alelo treonina. De la tabla se puede deducir el alto IMC promedio en este grupo, lo cual se puede complementar según distribución por sexo para este grupo en la **Tabla 14**.

### 6.3.2 MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS PARA MAPUCHES

Variable	Ala/Ala (n=53)	Ala/Tre (n=49)	Tre/Tre (n=11)
Peso (Kg)	73±11	74±14	75±14.2
Talla (m)	1.5±0.1	1.6±0.1	1.6±0.1
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	30±5	30.8±5.9	30.9±5.4
ICC	0.9±0.1	0.9±0.1	0.9±0.1

**Tabla 11: Medidas antropométricas encontradas en población Mapuche según genotipo FABP-2.**

De la **Tabla 11** se deduce que no hay diferencias estadísticas entre las variables comparadas según genotipos FABP-2. Las diferencias son muy leves y en todos los casos informan de una distribución bastante homogénea de las variables antropométricas en esta población, sin influir la presencia o no del alelo mutante treonina. Al igual que en población Aymara, también se observa un elevado IMC promedio, que corresponde a una población en su mayoría obesa. En la **Tabla 15**, se puede ver la distribución por sexo de este mismo grupo.

### 6.3.3 CATEGORÍAS IMC PARA AYMARAS SEGÚN GENOTIPO FABP-2

	Ala/Ala (n=66)	Ala/Tre (n=32)	Tre/Tre (n=2)
Normopeso (17%)	13 (20%)	4 (12%)	0 (0%)
Sobrepeso (47%)	32 (48%)	14 (44%)	1 (50%)
Obeso (36%)	21 (32%)	14 (44%)	1 (50%)

**Tabla 12: Categorías de IMC encontradas en población Aymara según genotipo FABP-2.**

En la **Tabla 12** se puede observar cómo se distribuye la población Aymara según las categorías de IMC y según genotipo FABP-2.

Anteriormente en la **Tabla 3**, se señalaron los rangos de esta clasificación de IMC. No se encontraron personas Bajo-peso, por lo que esta clasificación quedó excluida. En cuanto a la obesidad, está se encontró hasta en los niveles más severos (Obesidad de clase III).

En la **Tabla 12** se observa que la condición Normopeso es mayor en personas Ala/Ala (20%) que en portadores de Tre (12%). En la condición Sobrepeso no se ve una diferencia muy importante entre portadores o no de la mutación (sólo de 48% a 44%). Pero en el nivel de Obesidad aparece una gran diferencia, siendo mucho mayor en los individuos portadores del alelo Tre (44%) que en los no portadores (32%). La frecuencia del heterocigoto Ala/Tre se concentra en forma significativa en los grupos de Sobrepeso y Obesidad

( $p=0.01$ ). La condición Tre/Tre al presentar a sólo dos sujetos, no permite hacer un análisis estadístico riguroso.

### 6.3.4 CATEGORÍAS IMC PARA MAPUCHES SEGÚN GENOTIPO FABP-2

	Ala/Ala (n=53)	Ala/Tre (n=49)	Tre/Tre (n=11)
<b>Normopeso</b> (14%)	7 (13%)	8 (16%)	1 (9%)
<b>Sobrepeso</b> (35%)	21 (40%)	14 (29%)	5 (45.5%)
<b>Obeso</b> (51%)	25 (47%)	27 (55%)	5 (45.5%)

**Tabla 13: Categorías de IMC encontradas en población Mapuche según genotipo FABP-2.**

En la **Tabla 13** se ve la distribución de la población Mapuche según categorías de IMC y según genotipo FABP-2.

Esta clasificación se hizo de la misma manera que en Aymaras, según el criterio dado en la **Tabla 3**. En este grupo tampoco se encontraron personas Bajo-peso. Y también fueron encontrados individuos con obesidad muy severa (Obesidad de clase III).

La condición Normopeso es la que presenta un menor número de individuos respecto al grupo total en cada uno de los tres grupos conformados por los 3 genotipos de FABP-2. Y llama la atención que en el grupo Tre/Tre sólo se encuentra un individuo Normopeso. Al observar la condición Sobrepeso, no se ven grandes diferencias entre individuos Ala/Ala y Tre/Tre (40% y 45.5%), aunque sí entre ambos grupos y el grupo heterocigoto Ala/Tre (29%). En este grupo la frecuencia del heterocigoto Ala/Tre es significativamente mayor en el grupo de Obesidad ( $p=0.03$ ). Respecto a la Obesidad en los tres grupos

presenta números elevados y cercanos al 50%, lo que revela el alto nivel de obesidad que hay en la población Mapuche total.



### 6.3.5 MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS SEGÚN GENOTIPO FABP-2 Y SEXO ENCONTRADAS EN AYMARAS

Variable	HOMBRE A/A (n= 9)	MUJER A/A (n= 57)	HOMBRE A/T (n= 10)	MUJER A/T (n= 22)	HOMBRE T/T (n=1)	MUJER T/T (n=1)
Peso (Kg)	70.1±6.5	68.3±13.8	70±12.8	73.2±11.7	68	74
Talla (m)	1.6±0.1	1.5±0.1	1.6±0.1	1.5±0.1	1.6	1.5
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	26.7±2.3	29.8±5.7	26.9±6	31.9±4.7	26.6	33.8
ICC	0.9±0.1	0.9±0.1	0.9±0.1	0.9±0.1	0.9	0.9

**Tabla 14: Medidas antropométricas encontradas en Aymaras y detalladas según sexo y genotipo FABP-2.**

La **Tabla 14** muestra la distribución del grupo Aymara según sexo y genotipo. De acuerdo a la distribución de masa y estatura, sólo se realizan comparaciones entre hombres X/Tre y hombres Ala/Ala, y entre mujeres X/Tre y mujeres Ala/Ala. De acuerdo a esta clasificación, no se observan diferencias significativas entre ser portador o no del alelo frente a una distribución diferente en el IMC o ICC respecto a la estratificación por sexo. Sólo se observa una leve tendencia al incremento del IMC entre las mujeres portadoras del alelo Tre/Tre. Es importante notar que sólo fueron encontrados 1 hombre y una mujer Tre/Tre.

### 6.3.6 MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS SEGÚN GENOTIPO FABP-2 Y SEXO ENCONTRADAS EN MAPUCHES

Variable	HOMBRE A/A (N=11)	MUJER A/A (N=42)	HOMBRE A/T (N=17)	MUJER A/T (N=32)	HOMBRE T/T (N=2)	MUJER T/T (N=9)
Peso (Kg)	77±9.3	72±11.7	79±14.2	72±13.4	82±0.7	74±15.4
Talla (m)	1.7±0.1	1.5±0.1	1.7±0.1	1.5±0.1	1.7±0.1	1.5±0.1
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	28.1±2.9	30.5±4.8	28.7±5.5	31.9±5.9	29.4±0	31.2±5.9
ICC	0.9±0.1	0.9±0.1	0.9±0.1	0.9±0.1	0.9±0.1	0.9±0.1

**Tabla 15: Medidas antropométricas encontradas en Mapuches y detalladas según sexo y genotipo FABP-2.**

La **Tabla 15** muestra la distribución del grupo Mapuche según sexo y genotipo. Al comparar las distintas variables antropométricas entre individuos de cada sexo, no se encuentran diferencias importantes entre hombres ni entre mujeres de cada genotipo FABP-2. Es decir, al igual que en Aymaras, tampoco se observan diferencias significativas entre ser portador o no del alelo Tre en este grupo. Y también hay una leve tendencia al incremento del IMC entre las mujeres portadoras del alelo Tre ( $p=0.26$ ).

### 6.3.7 VARIABLES METABÓLICAS PARA EL GRUPO TOTAL DE AYMARAS SEGÚN GENOTIPO FABP-2

Variable	Ala/Ala (n=66)	Ala/Tre (n=32)	Tre/Tre (n=2)
Glicemia (mg/dL)	96±46.8	88±30.3	83±0
TG (mg/dL)	121.9±51.1	136.3±82.4	66.5±28.9
PS (mmHg)	115.2±16.8	120.7±13.0	126.0±12.7
PD (mmHg)	71.1±11.2	74.4±6.9	74.0±5.7
Col-HDL (mg/dL)	40.4±7.3	41±7.6	48±16.9
Leptina (ng/mL)	13.1±7.3	12.4±7.4	9.7±4.7
HOMA	3.1±3.7 1.8 (0.39-18.8)	2.9±2.8 2.1 (0.2-11.1)	0.4±0.5 0.4 (0.03-0.8)
Insulina (μUI/mL)	12.6±11.4 10 (1.4-56.3)	14.9±15.2 9.7 (1.2-61.1)	9.5±8.1 9.5 (15.2-3.7)

**Tabla 16: Variables metabólicas encontradas para el grupo total de Aymaras clasificadas según genotipo FABP-2.**

Todas las variables se expresan como promedios y desviación estándar. Para HOMA e Insulina se incluye además, mediana y rango.

La **Tabla 16** nos muestra que al analizar las variables metabólicas asociadas al SM en el grupo total diferenciado por genotipo, en el grupo portador del alelo Tre sólo se observan incrementos no significativos en los Triglicéridos plasmáticos ( $p=0.33$ ) y en HTA ( $p=0.37$ ), aunque ambos parámetros se encuentran dentro de rangos normales. En la **Tabla 17** se puede ver la distribución por sexo para este mismo grupo.

### 6.3.8 VARIABLES METABÓLICAS SEGÚN GENOTIPO FABP-2 Y SEXO EN AYMARAS

Variable	HOMBRE A/A (n=9)	MUJER A/A (n= 57)	HOMBRE A/T (n= 10)	MUJER A/T (n=22)	HOMBRE T/T (n=1)	MUJER T/T (n=1)
Glicemia (mg/dL)	77.8±10.5	98.9±49.6	93.4±50.7	85.5±13.8	83	83
TG (mg/dL)	114±63.5	123.2±49.5	135.2±113.2	136.8±66	46	87
PS (mm Hg)	117.8±18.4	114.7±16.7	123.5±17.7	119.3±10.1	117	135
PD (mmHg)	73.9±9.1	70.7±11.5	73.9±7.7	74.7±6.6	78	70
Col-HDL (mg/dL)	42.2±8.7	40.1±7.1	41.9±8.3	40.6±7.5	60	36
Leptina (ng/mL)	9.9±5.3	13.6±7.5	10.5±8.7	13.4±6.7	6.4	13
HOMA	2.6±1.9 2.2 (0.3-5.7)	3.2±3.9 1.8 (0.3-18.8)	1.8±1.6 1.3 (0.2-5.2)	3.8±3.3 2.3 (0.2-11.1)	0.8	0.03
Insulina (μUI/mL)	13.7±9.7 10 (1.4-30.5)	12.4±11.7 10.1 (1.6-56.3)	7.8±7.3 6.8 (1.2-27.7)	18.3±16.9 11.2 (1.2-61.1)	3.7	15.2

**Tabla 17: Variables metabólicas encontradas en Aymaras, agrupadas por sexo y genotipo FABP-2.**

En la **Tabla 17** se pueden ver las variables metabólicas en población Aymara distribuidas por genotipo y sexo. El análisis estratificado por sexo no muestra grandes diferencias entre portadores y no portadores del alelo Tre. Tanto en hombres como en mujeres del grupo Aymara, la presencia del alelo Tre estuvo asociado a una elevación de los Triglicéridos ( $p=0.52$ ) y un leve incremento en la Presión Sistólica ( $p=0.31$ ). Los datos para Tre/Tre no deben ser usados para mostrar tendencias ni sacar conclusiones ya que corresponden

sólo a un hombre y una mujer. Sin embargo, no se escapan de los rangos encontrados en los otros grupos.

### 6.3.9 VARIABLES METABÓLICAS SEGÚN GENOTIPO FABP-2 Y SEGÚN IMC EN AYMARAS

Variable	Ala/Ala			X/Tre		
	NP (n=13)	SP (n=32)	OB (n=21)	NP (n=4)	SP (n=15)	OB (n=15)
Glicemia (mg/dL)	76.3±8.5	91.8±39.6	114.8±63.2	84±13.2	92.1±45.1	85.1±8.1
TG (mg/dL)	106.2±62.2	124.9±41.9	127±57.0	102.3±79.2	137.9±107.0	143.7±53
PS (mm Hg)	104.4±13.9	115.7±16.4	120.9±16.4	125.8±21.9	115.2±11.2	124.5±10.7
PD (mmHg)	66.1±11.5	70.9±10.4	74.6±11.5	76.4±4.9	71.7±8.1	76.4±5.4
Col-HDL (mg/dL)	43.2±5.3	39.3±6.5	40.3±9.1	39.3±7.4	44.7±7.9	37.9±6.2
Leptina (ng/dL)	10.3±5.5	12.8±6.1	15.3±9.4	15.5±14.1	10.9±4.2	13.1±7.9
HOMA	1.6±0.6 1.5 (0.4-2.6)	2.6±2.9 1.4 (0.3-13.7)	4.8±5.1 3.1 (0.3-18.8)	2.8±2 2.8 (0.2-5.2)	1.7±1.8 1.4 (0.2-7.2)	4.7±3.5 3.1 (1.1-11.1)
Insulina (μUI/mL)	8.8±3.8 8.0 (1.8-15.7)	11.6±11.3 7.6 (1.4-56.3)	16.5±13.8 11.7 (1.6-50.6)	13.9±11.21 13.9 (1.2-27.7)	7.4±7.4 5.7 (1.2-32.3)	22.6±18.4 12.5 (5.5-61.1)

**Tabla 18: Variables metabólicas encontradas en Aymaras y clasificadas según genotipo FABP-2 e IMC.**

En la **Tabla 18** podemos observar a cada variable metabólica y cómo se distribuye según la clasificación de IMC y genotipo FABP-2. Al comparar entre individuos Normopeso se observa un aumento estadísticamente significativo en HTA ( $p=0.032$ ), y una tendencia al incremento para los parámetros: Leptina ( $p=0.273$ ), HOMA ( $p=0.063$ ) e Insulina ( $p=0.068$ ) entre los portadores del alelo treonina. Entre individuos con Sobrepeso hay mayores valores en TG ( $p=0.31$ ) y Colesterol-HDL ( $p=0.017$ ) y un descenso en Insulina ( $p=0.197$ ), en

los individuos X/Tre. Finalmente, en individuos Obesos, los portadores del alelo treonina presentan aumentos en los valores de TG ( $p=0.379$ ), Insulina en ayunas ( $p=0.263$ ) y una disminución del Colesterol-HDL ( $p=0.383$ ).

Lo anterior no debe ser sorprendente, puesto que en la obesidad, es donde se concentra el mayor número de componentes del Síndrome Metabólico.

### 6.3.10 VARIABLES METABÓLICAS PARA EL GRUPO TOTAL DE MAPUCHES SEGÚN GENOTIPO FABP-2

Variable	Ala/Ala (n=53)	Ala/Tre (n=49)	Tre/Tre (n=11)
Glicemia (mg/dL)	72.1±26	97.5±75.4	67.9±10.6
TG (mg/dL)	124.2±66.9	135.7±93.8	87.9±27.5
PS (mm Hg)	124.9±24.9	124.9±21.9	128.4±16.4
PD (mmHg)	72.5±14.3	73.2±11.7	77.9±13.5
Col-HDL (mg/dL)	65.8±63.2	54.1±32.5	61.6±31.4
Leptina (ng/mL)	15.4±7.4	13.3±8.7	16.9±9.2
HOMA	2.0±1.7 1.3 (0.1-6.3)	2.5±3.7 1.3 (0.2-16.5)	2.1±2.5 0.8 (0.2-8.1)
Insulina (μUI/mL)	11.7±10 9 (1.1-42)	9.1±6.8 7.5 (1.6-32)	11.6±12.3 5(1.2-38)

**Tabla 19: Variables metabólicas encontradas para el grupo total de Mapuches clasificadas según genotipo FABP-2.**

La **Tabla 19** muestra las variables metabólicas en el grupo total de Mapuches diferenciado por genotipo.

La información más relevante que se extrae de la tabla, es un aumento de glicemia y TG en el grupo heterocigoto y un aumento de la Presión Sistólica en los homocigotos treonina. El resto de los valores es bastante homogéneo para los tres grupos.

Se pueden complementar estos resultados con los de la **Tabla 20**, donde se ve la distribución por sexo de este mismo grupo.



### 6.3.11 VARIABLES METABÓLICAS SEGÚN GENOTIPO FABP-2 Y SEXO EN MAPUCHES

Variable	HOMBRE A/A (N=11)	MUJER A/A (N=42)	HOMBRE A/T (N=17)	MUJER A/T (N=32)	HOMBRE T/T (N=2)	MUJER T/T (N=9)
Glicemia (mg/dL)	78±43.2	71±19.7	101±83.9	95±71.8	62±2.8	69±11.4
TG (mg/dL)	117.4±84.6	125.9±62.6	117.8±132.4	113.3±55.4	109.0±46.7	83.2±23.2
PS (mmHg)	129.3±18.0	123.7±26.5	122.4±21.4	126.3±22.3	123±19.8	129.6±16.6
PD (mmHg)	74.4±13.1	72.0±14.7	74.4±11.9	72.5±11.8	73±12.7	79±14.2
Col-HDL (mg/dL)	50.89±17.22	56.1±31.2	45.7±15.4	58.7±38.1	62.5±35.0	61.4±35.0
Leptina (ng/mL)	7.1±5.2	17.6±6.3	7.4±4.9	16.4±8.7	15.3±18.2	17.3±7.9
HOMA	2±1.9 1.0 (0.1-6)	2±1.7 1.4 (0.2-6.3)	2±3.9 1.3 (0.4-16.5)	3±3.8 1.3 (0.2-6.5)	2±3.2 2.5 (0.2-48)	2.0±2.5 0.8 (0.4-8.1)
Insulina (μUI/mL)	11.5±12.4 7.5 (1.1-42)	11.7±9.5 9.2 (1.2-42)	8.0±5.9 5.4 (1.8-18)	9.7±7.3 7.8 (1.6-32)	15.6±20.4 15.6 (1.2-30)	10.8±11.5 5 (1.9-38)

**Tabla 20: Variables metabólicas encontradas en Mapuches, agrupadas por sexo y genotipo FABP-2.**

En la **Tabla 20** se pueden ver las variables metabólicas en población Mapuche distribuidas por genotipo y sexo.

Esta tabla muestra pocas diferencias entre individuos del mismo sexo. Al comparar entre hombres de los tres genotipos, se ven valores muy distintos en Glicemia (el valor más alto lo tienen los heterocigotos) y Colesterol-HDL. Hombres Tre/Tre tienen el valor más alto de Leptina, HOMA e Insulina, sin observarse significancia estadística dada la amplitud de la desviación estándar. En cuanto a las mujeres, hay un ligero aumento de HTA en Mapuches

portadoras del alelo Tre. Mujeres Ala/Tre son, al igual que los hombres de ese mismo grupo, las que tienen el más alto valor de Glicemia y las mujeres Tre/Tre el menor valor de TG.

### 6.3.12 VARIABLES METABÓLICAS SEGÚN GENOTIPO FABP-2 Y SEGÚN IMC EN MAPUCHES

Variable	Ala/Ala		Ala/Tre		Tre/Tre		
	NP(n=7)	OB(n=21)	NP(n=8)	SP(n=14)	NP(n=1)	SP(n=5)	OB(n=5)
Glicemia (mg/dL)	64±15	70±32	65±12	101±94	72	94±53	65±10.9
TG (mg/dL)	94±42	116±68	106±36	109±53	114	159±115	80±23.6
PS(mmHg)	103±6	129±22	127±24	131±23	146	122±21	128±16.5
PD(mmHg)	71±24	74±15	71±11	78±11	66	71±12	83±17.6
Col-HDL (mg/dL)	52±12	54±18	48±12	60±32	58	53±37	64±47.9
Leptina (ng/mL)	11±6	14±8	5±2	12±7	6.3	17±9	19±6.9
HOMA	1±1	2±2	3±5	3±5	1.3	2±2	1+1.3
	0.6 (0.1-1.7)	1.4 (0.2-3.4)	1.3 (0.6-16.5)	0.9 (0.2-6.3)		1.8 (0.3-6.5)	0.7 (0.6-3.5)
Insulina (μUI/mL)	4+3	12+12	8+4	8+7	7.5	10+7	7+6.1
	4.2 (1.1-10)	9.3 (1.2-42)	7.5 (3.2-18)	5 (1.6-24)		8.5 (1.6-32)	4.6 (3.8-18)

Tabla 21: Variables metabólicas encontradas en mapuches y clasificadas según genotipo FABP-2 e IMC.

En la **Tabla 21** se observa a cada variable metabólica y cómo se distribuye según la clasificación de IMC y genotipo FABP-2, en población mapuche.

Al mirar a los individuos Normopeso, se ve claramente que X/Tre tienen una significativamente mayor HTA ( $p=0.024$ ), menor Leptina ( $p=0.019$ ), y mayor Insulina ( $p=0.05$ ). Entre individuos con Sobrepeso, Ala/Tre tienen la mayor Glicemia y la menor Insulina. Finalmente, entre Obesos, Ala/Tre tienen la mayor glicemia. Tre/Tre los más bajos valores de TG y los menores HOMA e Insulina. Ala/Ala tienen el mayor nivel de Col-HDL.

## 7. DISCUSIÓN

En el estudio de la proteína FABP-2 y sus variantes genéticas, es la sustitución Ala54Tre la más conocida. Esta sustitución ha sido estudiada en distintas poblaciones del mundo y se han encontrado diversas asociaciones con diferentes componentes del Síndrome Metabólico, en algunos casos positivas y en otros negativas. Así también se han observado variaciones en su frecuencia, siendo un 30% el número en que se encuentra esta sustitución en mayor cantidad de poblaciones. Es importante notar que en poblaciones que están emparentadas, estos porcentajes y asociaciones son similares.

En este estudio, las frecuencias encontradas para la presencia del alelo treonina (que reemplaza a alanina) fueron 0.18 para Aymaras y 0.31 para Mapuches. De estos datos el encontrado para Aymaras es muy sorprendente, puesto que se aleja mucho del valor que es habitualmente encontrado. Aún más, la presencia del homocigoto Tre/Tre nos revela un dato más increíble, puesto que la frecuencia en la que aparece (0.02) es la más baja de todas las que han sido reportadas a la fecha. En cambio en el grupo Mapuche se mantiene en el rango esperado del 30% para el alelo treonina.

Según los resultados obtenidos en este estudio, es posible sacar algunas conclusiones y también hacer algunas comparaciones respecto a los muchos estudios poblacionales que se han hecho en el mundo respecto a este polimorfismo. Es importante señalar que ambas poblaciones están en equilibrio de Hardy-Weinberg.

En este estudio no se encontró una asociación clara entre las medidas antropométricas y la presencia del alelo treonina. Sin embargo, se observó una leve tendencia al aumento del IMC en mujeres portadoras del alelo treonina. También se observó que la obesidad es mayor en el grupo mapuche (51%) que en aymaras (36%) y que ambas poblaciones tienen severos problemas de sobrepeso y obesidad y que el ICC presentó niveles peligrosos en mujeres de ambas etnias, pues fue mayor que 0.8.

La no asociación entre estas variables y el genotipo, contrasta con lo encontrado, por ejemplo, en aborígenes canadienses<sup>57</sup>, en los cuales se encontró una clara asociación entre el genotipo y el IMC y porcentaje de grasa corporal.

En Aymaras se observan leves aumentos en TG y en HTA al estar presente el alelo treonina.

En Mapuches se observa algo similar, con la diferencia que los valores más altos de Glicemia y TG se encuentran en los heterocigotos, encontrándose aumentada la HTA en los homocigotos Tre.

En otros estudios se ha visto que ante la sustitución Ala54Tre, el nivel de TG aumenta en aborígenes canadienses<sup>57</sup> y en población indígena de México<sup>58</sup>. Glicemia se vio disminuida en población obesa de Finlandia<sup>45</sup>. HTA disminuye en población japonesa<sup>46</sup>.

Finalmente, no se ven diferencias en los niveles de Insulina, por lo que tampoco se podría relacionar a Ala54Tre con diabetes en ninguna de las dos poblaciones aquí estudiadas.



Esto coincide con estudios en población inglesa<sup>59</sup>, japoneses<sup>60</sup>, población aborigen canadiense<sup>61</sup> y población afroamericana<sup>62</sup>.

Hay un dato que preocupa y es que en la población mapuche los niveles de obesidad y diabetes han aumentado, lo que reflejaría cambios alimenticios y en el estilo de vida, tales como el sedentarismo y la sobreingesta, propios de la vida occidentalizada de la actual civilización. Sin embargo, estos valores de diabetes siguen estando por debajo respecto a la mayoría de la población chilena.

Las conclusiones obtenidas por este estudio, si bien no son definitivas, debido al bajo número de individuos incluidos (100 aymaras y 113 mapuches), deben considerarse como una aproximación dado que la tendencia observada puede servir para acercarnos al conocimiento de estas poblaciones aborígenes que participaron en el origen de la población chilena.

Hasta el día de hoy se mantienen como etnias claramente diferenciables que por años han mantenido un patrón de morbilidad de enfermedades crónicas distinto al de la población mixta de Chile, y que sin embargo han comenzado a presentar paulatinamente un cambio en las cifras de prevalencia de ciertas enfermedades.

## 8. REFERENCIAS

1. **ALBALA C, VIO F, KAIN J** 1998 Obesity, un unresolved problem in Chile. Rev Méd Chile 126:1001-1009

2. **Instituto Nacional de estadísticas. Anuario de Demografía** 1999. Ministerio de Salud, Santiago, Chile

3. **VALIENTE S, JIMENEZ M, VALIENTE G, TRUFELLO I, ALBALA C** 1993 Diet and malnutrition in chilean elderly. En Food and Nutrition Policies and Programs in Chile: A successful experience. Artículo 19, pp 179-194

4. **ROZOWSKI J., ARTEAGA, A** 1997 The problem of obesity in Chile: some shocking characteristics. Rev Méd Chile 125: 1217-1224

5. **ALBALA C, VIO F, KAIN J** 1998 Obesidad: un desafío pendiente en Chile. Rev Méd Chile 126:1001-1009

6. **BERRIOS X** 1997 Tendencia temporal de los factores de riesgo de enfermedades crónicas: ¿la antesala silenciosa de una epidemia que viene? Rev Méd Chile 125:1405-1407

7. **Ministerio de Salud, División de Programas de Salud, Departamento de Programas de las Personas, Unidad de Nutrición** 1995 Prioridades en Problemas de Salud relacionadas con la alimentación y Nutrición. Chile

8. **VEGA J, JADUE L, ESCOBAR MC, JALIL J, ESPEJO F, DELGADO I, GARRIDO C, LASTRA P, PERUGA A** 1999 Prevalence of hypertension in Valparaiso. Results of the base survey of CARMEN project. Rev Méd Chile 127: 729-738

9. **JADUE L, VEGA J, ESCOBAR MC, DELGADO I, GARRIDO C, LASTRA M, ESPEJO F, PERUGA A** 1999 Risk factors for chronic non communicable diseases: Methods and results of CARMEN program basal survey

**10. PÉREZ F., CARRASCO E., SANTOS J.L., CALVILLAN M., ALBALA C** 1999: Obesity and serum lipid profiles in Chilean aboriginal communities. *Rev Méd Chile* 127: 1169-1175

**11. ATALAH E** 1993 Analysis of the nutrimental situation of the population from Santiago. *Rev Méd Chile* 121: 819-826

**12. GARROW J.S. Health** 1998 Implications of obesity. En "Obesity and related diseases" Londres, Churchill Livingstone 1-16

**13. HUBERT HB, FEINLEB M, MCNAMARA PM** 1983 Obesity as an independent risk for cardiovascular disease: a 26 years follow up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation* 67: 968-77

**14. COLDITZ GA, WILLET WC, ROTNITZKY A** 1995 Weight gain as a risk factor for clinical diabetes mellitus in women. *Ann Intern Med* 122:481-487

**15. WILLET, W.C., MANSON, J.E, STAMPFER, M.J, COLDITZ G.A, ROSNER, B, SPEIZER F.E.** 1995 Weight change and coronary heart disease in women: risk within the normal weight range. *JAMA* 273: 461-465

**16. AUSTIN M.A, BRESLOW, J.L, HENNEKENS, CH, BURING, J.E, WILLET W.C, KRAUSS, R.M** 2000 Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *JAMA* 1917-1921

**17. BARCELÓ A** 2001 La Diabetes en las Américas. *Boletín Epidemiológico OPS* 22(2):1-3

**18. SANTOS JL, PÉREZ F, CARRASCO E, CALVILLÁN M, ALBALA C** 2001 Low prevalence of type 2 diabetes despite a high average body mass index in the aymara natives from Chile. *Nutrition* 17(4):305-309

**19. KING H, AUBERT RE, HERMAN WH** 1998 Global Burden of Diabetes, 1995-2025. *Diabetes Care* 21:1414-1431

**20. LARENAS G, ARIAS G, ESPINOZA O, CHARLES M, LANDAETA O, VILLANUEVA S, ESPINOZA A** 1985 Prevalencia de diabetes mellitus en una comunidad mapuche de la IX Región, Chile. *Rev Méd Chile* 113:1121-1125



**21. PÉREZ F, CARRASCO E, SANTOS JL, CALVILLÁN M, LARENAS G, ALBALA C** 2001 Prevalence of type 2 diabetes and obesity in rural mapuche population from Chile. *Nutrition* 17(3):236-238

**22. REAVEN GM** 1988 Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37:1595-1607

**23. ZAVARONI I, BONORA E, PAGLIARA M** 1989 Risk factors for coronary artery disease in healthy persons with hyperinsulinemia and normal glucose tolerance. *N Engl J Med* 320:702-706

**24. WHO Consultation** 1999 Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. *WHO/NCD/NCS/99.2*:31-33

**25. STEINER G, LEWIS GF** 1996 Hyperinsulinemia and triglyceride-rich lipoproteins. *Diabetes* 45:S24-S26

**26. LUDVIK B, NOLAN JJ, BALOGA J, SACKS D, OLEFSKY J** 1995 Effect of obesity on insulin resistance in normal subjects and patients with NIDDM. *Diabetes* 44:1121-1125

**27. REAVEN GM** 1991 Insulin resistance, hyperinsulinemia, and hypertriglyceridemia in the etiology and clinical course of hypertension. *Am J Med* 90(suppl2A):7S-12S

**28. OSEI K** 1999 Insulin resistance and systemic hypertension. *Am J Cardiol* 84:33J-36J

**29. DE FRONZO RA, BONADONNA RC, FERRANINI E** 1992 Pathogenesis of NIDDM: a balanced overview. *Diab Care* 15:318-368

**30. BARKER DJP, HALES CN, FALL CHD** 1993 Type 2 (non-insulin dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. *Diabetologia* 36:62-67

**31. WEYER C, BOGARDUS C, PRATLEY RE** 1999 Metabolic characteristics of individuals with impaired fasting glucose and/or impaired glucose tolerance. *Diabetes* 48:2197-2203

**32. FERNÁNDEZ-REAL JM, RICART W** 1999 Insulin resistance and inflammation in an evolutionary perspective: the contribution of cytokine genotype/phenotype to thriftiness. *Diabetologia* 42:1367-1374

**33. CLEMENT K, BOUTIN P, FROGUEL P** 2002 Genetics of obesity. *Am J Pharmacogenomics* 2(3):177-87

**34. ARNER P** 2000 Hunting for human obesity genes? Look in the adipose tissue! *International Journal of Obesity* 24(4):S57-S62)

**35. WOODS SC, SEELEY RJ** 2000 Adiposity signals and the control of energy homeostasis. *Nutrition* 16:894-902

**36. SUMMERS SA, WHITEMAN EL AND BIRNBAUM MJ** 2000 Insulin signaling in the adipocyte. *International Journal of Obesity* 24(4): S67-S70

**37. SAAD MF, BERNABA B, HWU CHII-MIN, JINAGOUDA S, FAHMI S, KOGOSOV E AND BOYADJIAN R** 2002 Insulin regulates plasma Ghrelin concentration. *The Journal of Clinical & Metabolism* 87(8):3997-4000

**38. MAEDA N, SHIMOMURA I, KISHIDA K, NISHIZAWA H, MATSUDA M, NAGARETANI H, FURUYAMA N, KONDO H** 2002 Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nature Medicine* 8(7): 731-737

**39. UNGER RH AND ORCI L** 2001 Diseases of liporegulation: new perspective on obesity and related disorders. *The FASEB Journal* 15: 3

**40. WILDING JPH** 2002 Neuropeptides and appetite control. *Diabetes Medicine* 19:619-627

**41. ARNER P** 1999 Catecholamine-Induced lipolysis in obesity. *Int. J Obes Relat Metab Disord* 23:10S-13-S

**42. BAIER L, SACCHETTINI J, KNOWLER W, EADS J, PAOLISSO G, TATARANNI P, MOCHIZUKI H, BENNETT P, BOGARDUS C, PROCHAZKA M** 1995 An amino acid substitution in the human intestinal fatty acid binding protein is associated with increased fatty acid binding, increased fat oxidation, and insuline resistance. *J Clin Inv* 95:1281-1287

**43. MITCHELL B, KAMMERER C, O'CONNELL P, HARRISON CH, MANIRE M, SHIPMAN P, MOYER M, STERN M, FRAZIER M** 1995 Evidence for linkage of postchallenge insulin levels with intestinal fatty acid binding protein (FABP2) in Mexican-Americans. *Diabetes* 44:1046-1053

**44. YAMADA K, YUAN X, ISHIYAMA S, KOYAMA K, ICHIKAWA F, KOYANAGI A, KOYAMA W, NONAKA K** 1997 Association between Ala54Thr substitution of the fatty acid binding protein 2 gene with insuline resistance and intra-abdominal fat thickness in Japanese men. *Diabetologia* 40:706-710

**45. SIPIILÄINEN R, UUSITUPA M, HEIKKINEN S, RISSANEN A, LAAKSO M** 1997 Variants in the human intestinal fatty acid binding protein 2 gene in obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 82(8):2629-2632

**46. HAYAKAWA T, NAGAI Y, NOHARA E, YAMASHITA H, TAKAMURA T, ABE T, NOMURA G, KOBAYASHI K** 1999 Variation of the fatty acid binding protein 2 gene is not associated with obesity and insulin resistance in Japanese subjects. *Metabolism* 48(5):655-657

**47. THAYER OL** 1919 Elementos étnicos que han intervenido en la población de Chile. En: *Imprenta, litografía y encuadernación La Ilustración* eds. Santiago, Chile

**48. VALENZUELA CY, ROTHAMMER F, CHAKRABORTY R** 1978 Sex dimorphism in adult stature in four chilean population. *Ann Hum Biol* 5:533-538

**49. CRUZ-COKE R** 1976 Características genéticas de la población chilena. *Rev Med Chile* 104:365-370

**50. GREBE M ESTER** 1983 Migración, Cambio Cultural y Transformaciones Simbólicas en la Primera Región de Chile. *Primer Encuentro Científico sobre el Medio Ambiente Chileno (Versiones Abreviadas)*. La Serena, CIPMA, II:1-3

**51. GREBE M ESTER** 1984 Efectos socioculturales en cadena en el pastoreo de puna del norte de Chile. Medio Ambiente y Desarrollo (CIPMA), I,1:127-131

**52. GREBE M ESTER** 1986 Migración, identidad y cultura Aymara: Puntos de vista del actor. Chungará (Universidad de Tarapacá) 16-17:205-223

**53. OYARCE A, ROMAGGI M, VIDAL A** 1989 ¿Cómo viven los mapuches? Análisis del Censo de Población de Chile de 1982. Santiago, PAESMI

**54. ZANCHETTI A** 2001 Consenso Latinoamericano sobre Hipertensión Arterial. Journal of Hipertensión 6(2):1-28

**55. TAVERNA M** 2002 Homeostatic Model Assessment (HOMA) Asociación latinoamericana de diabetes 10(1):8-17

**56. MILLER SA, DIKES DD, POLESKY HF** 1988 A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acid Res 16:1215

**57. HEGELE RA, HARRIS SB, HANLEY AJ, SADIKIAN S, CONNELLY PW, ZINMAN B** 1996 Genetic variation of intestinal fatty acid-binding protein associated with variation in body mass in aboriginal Canadians. J Clin Endocrinol Metab 81:4334-4337

**58. CHIU K, CHUANG L, YOON C** 2001 The A54T polymorphism at the intestinal fatty acid binding protein 2 is associated with insulin resistance in glucose tolerant Caucasians. [www.biomedcentral.com/1471-2156/2/7](http://www.biomedcentral.com/1471-2156/2/7)

**59. HUMPHREYS P, MCCARTHY M, TUOMILEHTO J, TUOMILEHTO-WOLF E, STRATTON I, MORGAN R** 1994 Chromosome 4q locus associated with insulin resistance in Pima Indians. Studies in three European NIDDM populations. Diabetes 43:800-4

**60. YAGI T, NISHI S, MURAKAMI M, YOSHIMI T** 1996 A population association study of four candidate genes (hexokinase II, glucagon-like peptide-I receptor, fatty acid binding protein-2, and apolipoprotein C-II) with type 2 diabetes and impaired glucose tolerance in Japanese subjects. *Diabet Med* 13:902-7

**61. HEGELE RA, CONNELLY PW, HANLEY AJ, SUN F, HARRIS SB, ZINMAN B** 1997 Common genomic variants associated with variation in plasma lipoproteins in young aboriginal Canadians. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17:1060-6

**62. LEI HH, CORESH J, SHULDINER AR, BOERWINKLE E, BRANCATI FL** 1999 Variants of the insulin receptor substrate-I and fatty acid binding protein. 2 genes and the risk of type 2 diabetes, obesity, and hyperinsulinemia in African-Americans: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Diabetes* 48:1868-1872