



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

**INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD
ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN**

**EXPRESIÓN DEL GEN DE LA PARAOXONASA 1
(PON1) EN RATAS WISTAR DIABÉTICAS INDUCIDAS
POR ESTREPTOZOTOCINA Y ALIMENTADAS CON
DIFERENTES DIETAS**

Tesis

Que para obtener el Título de
Licenciada En Nutrición

P R E S E N T A

P.L.N. Cruz Mayorga Dalila

No. Cuenta: C02566

Bajo la Dirección de:
Dr. Betanzos Cabrera Gabriel



Pachuca, Hgo. Mayo 2010.



Este trabajo se realizó en el laboratorio de Nutrición Molecular del Instituto de Ciencias de la Salud (ICSA) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (U.A.E.H.) Bajo la Dirección Del Dr. Gabriel Betanzos Cabrera. Proyecto parcialmente financiado por el CONACYT (46537), PAI 2006 y AMMFEN.



DEDICATORIA

A tí Díos que me díste fe, fortaleza, salud y esperanza que llegaría el día de terminar este trabajo.

A mis padres quienes me enseñaron desde pequeña a luchar para alcanzar mis metas ¡Este triunfo también es de ustedes!

Quisiera dedicar este trabajo de tesis especialmente a un gran Hombre a quien Díos puso en mi camino a mí esposo y amigo Ebed, por estar conmigo en aquellos momentos de estudio y trabajo que ocuparon mi tiempo y esfuerzo, por ser parte importante en mi vida y en el logro de mis metas profesionales, gracias por haber sido mi fuente de inspiración en mi deseo de titulación.

Gracias por brindarme tu amor, cariño, comprensión, apoyo incondicional y constante, por ser paciente en este largo proceso y mi estímulo para poder terminar, es evidencia de tu gran amor. Que sin esperar nada a cambio, me has brindado felicidad y confianza, has sido un pilar en mi camino y así, formar parte de este logro que nos abre puertas inimaginables en nuestro desarrollo profesional.

A quien agradezco su paciencia y su apoyo incondicional, a quien me ha enseñado a ver la vida diferente. Quien se ha convertido en la base de mi vida gracias por atreverte a confiar en mí, realmente no hay palabras para poder agradecerte todo lo que has creado en mí.

*“Tener virtudes, es una bendición de Díos,
Tener oportunidades y saberlas a provechar, es querer ser una persona exitosa”.*

AGRADECIMIENTOS

Hoy es un día especial para mí porque hoy culminó un Éxito mas en mi vida, un camino largo y difícil, lleno de tropiezos y aciertos, de los cuales he aprendido y crecido personal, espiritual y profesionalmente.

Doy gracias primeramente a Dios, La Virgencita y San Juditas Tadeo por darme la oportunidad de vivir este momento, por darme salud, paciencia e inteligencia para lograrlo.

Gracias a mis papitos Alberto y Estebana de quienes me siento muy orgullosa, quienes con su esfuerzo y trabajo me brindaron su apoyo incondicional para salir adelante y culminar mi carrera, gracias por sus consejos, cariño, amor y por darme la vida.

Gracias a mis hermanos Edder y Marlen por estar conmigo, por su apoyo moral, económico y por estar conmigo, que aun estando lejos siempre los sentí tan cerca. Edgar y David los quiero mucho.

Gracias tía Lulú por ser mi segunda madre; quien me escuchó, me comprendió, me aconsejó, confió en mí y mejor aun me brindó un techo donde vivir a lo largo de la carrera.

Gracias especialmente al Dr. Gabriel Betanzos Cabrera, por aceptarme, confiar en mí y darme la oportunidad de trabajar a su lado, compartir sus conocimientos y enseñanzas conmigo, guiarme y apoyarme a lo largo de este proyecto y culminarlo satisfactoriamente.

*A mi cuñis y a mis Suegros por su apoyo, confianza, cariño y compañía Gracias.
Y a toda la gente que confió en mí durante este largo y arduo trabajo gracias.*

Mi principal agradecimiento a quien en estos últimos meses de trabajo me ha escuchado, apoyado, comprendido, que con su amor y cuidados me ha dado fuerza y confianza para luchar y lograr esta meta, quien con su paciencia y confianza me ha alentado para terminar satisfactoriamente este proyecto, quien ha sido mi ejemplo y de quien me siento muy orgullosa; gracias por los momentos inolvidables que me has permitido vivir a tu lado. Gracias amor TE AMO.

Gracias a todos ustedes; quienes junto conmigo comparten hoy la alegría de realizarme profesionalmente de manera exitosa que Diosito me los bendiga siempre.

ÍNDICE

	Página
Glosario	
Abreviaturas	
Resumen.....	1
Abstract.....	2
1. Marco Teórico.....	3
1.1 Flujo de la Información Genética.....	3
Figura 1. Flujo de la información genética.....	4
Figura 2. Replicación de la información genética.....	5
Figura 3. Transcripción de la información genética.....	6
Figura 4. Traducción o síntesis de proteínas.....	8
1.2 Nutrigenómica.....	8
1.3 Nutrigenómica y Obesidad.....	10
1.3.1 Obesidad y Desordenes Relacionados.....	10
1.4 Impacto de la dieta en la expresión genética y enfermedad.....	11
1.5 Diabetes Mellitus.....	14
1.5.1 Clasificación según la ADA.....	14
1.5.2 Complicaciones.....	14
1.6 Diabetes y Enfermedad Coronaria.....	15
1.7 Diabetes y Aterosclerosis.....	16
Figura 5. Proceso de evolución de la aterosclerosis.....	16
1.8 Paraoxonasa1(PON1).....	17
1.8.1 Propiedades y características.....	18
1.9 PON1 y Enfermedad Cardiovascular.....	18
2. Problema de investigación.....	22
3. Justificación.....	24
4. Objetivos de la investigación.....	26
4.1 Objetivo General.....	26
4.2 Objetivos Específicos.....	26
5. Hipótesis.....	26

6. Materiales y Métodos.....	27
Figura 7. Diseño metodológico de la investigación.....	27
6.1 Animales de experimentación.....	28
6.2 Animales y Dietas.....	28
Tabla 1. Composición nutrimental de las diferentes dietas	29
6.3 Diabetización por Estreptozotocina.....	29
6.4 Expresión del gen de la PON1.....	29
6.4.1 Aislamiento del ARN total.....	30
6.4.2 Perfil de Expresión de RT-PCR.....	30
Tabla 2. Secuencia de oligonucleótidos iniciadores para amplificar por PCR los genes Actgamma2 y PON1 de rata.....	31
6.4.3 Reacción en Cadena Polimerasa (PCR).....	31
6.5 Electroforesis.....	32
6.6 Análisis Estadístico.....	32
7. Resultados.....	33
Figura 8. Amplificación de los genes de rata β -actina gamma2 PON1.....	33
7.1 Expresión relativa de PON1/ β -Actina en los diferentes tratamientos.....	33
Figura 9. Expresión Relativa de la PON1/ β -actina para el grupo Control con los grupos experimentales.....	34
Figura 10. Expresión relativa PON1/ β -actina para el grupo diabético (STZ)...	35
Figura 11. Expresión Relativa de la PON1/ β -actina para el grupo diabético- obeso (STZ-OB).....	36
Figura 12. Expresión Relativa de la PON1/ β -actina para el grupo obeso (OB).....	36
Figura 13. Expresión Relativa de la PON1/ β -actina para el grupo bajo en proteína (BP).....	37
8. Discusión.....	38
9. Conclusiones.....	42
10. Referencias bibliográficas.....	43

GLOSARIO

Ad libitum: para referirse al libre acceso de un animal a agua o alimento, dejando que sean las necesidades biológicas de éste, las que regulen el consumo.

ADN: Acido desoxirribonucleico. Molécula polimérica formada por la combinación de cuatro nucleótidos denominados; adenina, guanina, citocina y uracilo; su estructura esta formada por dos cadenas helicoidales antiparalelas de polinucleótidos enrolladas a lo largo de un eje común, que contiene la información genética.

ARN: Acido ribonucleico. Formado por nucleótidos en los que el azúcar es una ribosa y los nucleótidos son: adenina, guanina, citocina y uracilo. Actúa como intermediario y complemento de las instrucciones genéticas codificadas en el ADN.

ARNm: molécula de ARN que porta la información genética desde el gen hasta los ribosomas, en los cuales se lleva a cabo la traducción de proteínas.

Aterogénico: alteraciones que permiten la aparición de un depósito de lípidos en la pared arterial, que finalmente se formará en una placa de calcificación y facilitara la pérdida de elasticidad arterial y otros trastornos vasculares.

Aterosclerosis: es un proceso patológico multifactorial, que se define morfológicamente como el endurecimiento de las arterias por la formación de acúmulos lipídicos (placa ateromatosa) en la pared vascular. La placa ateromatosa es el resultado de la acumulación progresiva de material graso en la capa íntima de la pared arterial concomitantemente con el crecimiento de la capa muscular lisa y una respuesta inflamatoria localizada.

Cebador: pequeña cadena de nucleótidos a partir de la cual la ADN polimerasa inicia la síntesis de una molécula nueva de ADN.

Diabetes: es un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia resultado del defecto en la secreción o acción de la insulina o ambos.

Electroforesis: método de separación de moléculas a partir de una disolución, según su capacidad de desplazarse en el seno de un campo eléctrico.

Enzima: catalizador biológico (normalmente una proteína), que media y promueve un proceso químico, vinculado a una reacción específica.

Expresión genética: proceso en que la expresión codificada por un gen se convierte en las estructuras constituyentes y funcionales de la célula.

Fenotipo: expresión externa de un genotipo modificado por el medio.

Genoma: conjunto de todo el material genético de un individuo o de una especie.

Genómica: ciencia que estudia los genomas completos de los organismos vivos.

Genotipo: Información genética total de un organismo.

***in vitro*:** Significa hacer el cultivo investigado y manipulado fuera del organismo vivo, en un medio artificial en el laboratorio bajo condiciones asépticas.

Metaboloma: Conjunto completo de metabolitos orgánicos que se producen dentro de una célula bajo la dirección del genoma. Tecnología enfocada en el análisis de los metabolitos.

Molde: se refiere a una secuencia estructural de ADN que proporciona el patrón para la síntesis de otra molécula de ADN de secuencia complementaria.

Nutrigenómica: es una rama de la genómica que quiere proporcionar un conocimiento molecular sobre los componentes de la dieta que contribuyen a la salud, mediante la alteración de la expresión y/o las estructuras, según la constitución genética individual.

Obesidad: es una enfermedad caracterizada por el exceso de tejido adiposo en el organismo. Se determina la existencia de obesidad en adultos cuando existe un Índice de masa corporal (IMC) mayor a 27 y en población de talla baja mayor de 25 según la Norma oficial mexicana para el manejo integral de la obesidad.

Paraoxonasa 1 (PON1): paraoxonasa sérica humana (arildialkilfosfatasa), es una glicoproteína dependiente de calcio, que contiene 354 residuos de aminoácidos, es responsable de la inhibición del proceso oxidativo de las LDL y contribuye a la protección antioxidante de las HDL.

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa, amplificación exponencial *in vitro* de moléculas de ADN a través de múltiples ciclos de desnaturalización, hibridación de oligonucleótidos y síntesis de ADN.

Promotor: Región de ADN que contiene diferentes dominios de unión a factores de transcripción y que determina el lugar donde la ARN polimerasa comienza la transcripción de un gen.

Proteoma: conjunto total de proteínas expresadas por un genoma completo, incluyendo las modificaciones después de la traducción. Tecnología enfocada en el análisis de proteínas y sus interacciones.

Replicación: síntesis de 2 cadenas de ADN nuevas a partir de una molécula de ADN en que se utiliza como molde cada una de sus hebras.

Traducción: proceso en el cual la secuencia nucleotídica del ARNm que contiene el mensaje genético determina el orden de los aminoácidos, de acuerdo con el código genético, para la formación de la cadena polipeptídica.

Transcripción: lectura del mensaje codificado por el ADN que produce la síntesis de una cadena de ARN mensajero, ribosomal o de transferencia. Este proceso requiere

señales regulatorias que permitan el inicio (promotores) y el fin de la transcripción (terminadores).

Transcriptoma: estudio de los perfiles de expresión de todos los genes presentes en el genoma. Tecnología enfocada al análisis de miles de moléculas de ARNm; al mismo tiempo.

ABREVIATURAS

µl: microlitros

ADA: Asociación Americana de Diabetes

ADN: Ácido desoxirribonucleico

AG: ácidos grasos

AGPI: ácidos grasos poliinsaturados

AGS: ácidos grasos saturados

AMD: Asociación Mexicana de Diabetes

ARN: Ácido ribonucleico

BP: Bajo en proteínas

C: Control

DMG: Diabetes mellitus gestacional

DT1: Diabetes Tipo 1

DT2: Diabetes Tipo 2

ECV: Enfermedades cardiovasculares

ENSANUT: Encuesta Nacional de Salud y Nutrición

g: gramos

HDL: Lipoproteínas de alta densidad

LDL: Lipoproteínas de baja densidad

min: minutos

ml: mililitros

° C: grados centígrados

OB: obeso

OPS: Organización Panamericana de la Salud

p. ej.: por ejemplo

pb: pares de bases

PCR: Reacción en Cadena Polimerasa

PON1: paraoxonasa 1

STZ: diabético inducido por estreptozotocina

STZ-OB: combinación de diabético inducido y obeso

TG: Triglicéridos

V: voltios

VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad

RESUMEN

Paraoxonasa 1 (PON1) es una enzima localizada sobre la superficie de las HDL; está ampliamente distribuida en los animales y puede estar en diversos tejidos tales como: hígado, riñón, intestino delgado y plasma. Hay reportes que demuestran que la enzima protege a las LDL contra la lipoperoxidación, eliminando fosfolípidos oxidados de su superficie, destruyendo moléculas proinflamatorias involucradas en la iniciación y progreso de la aterosclerosis. Es conocido que la actividad enzimática en pacientes con diabetes está disminuida, pero no está bien estudiado cómo influye el tipo de dieta en la expresión del gen de la PON1. El objetivo de este estudio, fue determinar en ratas, el efecto del tipo de dieta sobre la expresión del gen de la PON1. 150 ratas Wistar macho, se dividieron en 5 grupos como sigue: 1) control (C); 2) diabético estreptozotocina-inducido (STZ), ambos alimentados con alimento comercial para roedores (Harlan Teklad, 18% proteína); 3) obeso (OB) y 4) diabético-obeso (STZ-OB) estos dos alimentados con alimentos obesigénicos tales como: mantequilla, manteca de cerdo entre otros y 5) bajo en proteínas (6%). La expresión de la PON1 se determinó en hígado por RT-PCR, usando como gen de referencia a la β -actina. Los resultados muestran que fue mayor en el tercer mes para los grupos STZ ($p < 0.001$), STZ-OB ($p = 0.005$), OB ($p < 0.001$) y BP ($p < 0.001$), para el cuarto mes, STZ ($p = 0.001$) y STZ-OB ($p = 0.008$); y para el quinto mes, sólo el grupo OB ($p = 0.006$). Ninguno de los tratamientos mostró un patrón de expresión en relación al tiempo del experimento, probablemente a la complejidad en la composición de las dietas y/o el efecto combinado por la presencia de diabetes, esto indica que algunos nutrimentos inhiben pero otros inducen la expresión del gen de la PON1. Estos resultados confirman el papel que juegan los nutrimentos en la expresión de genes.

Palabras clave: PON1, diabetes, nutrimentos, aterosclerosis, expresión del gen, RT-PCR.

ABSTRACT

Paraoxonase 1 (PON1) is an enzyme located on HDL surface; it is widely distributed in animals and can be in diverse tissues such as: liver, kidney, thin intestine and plasma. There are reports that demonstrate that the enzyme protects to LDL against lipoperoxidation, eliminating oxidized phospholipids from its surface, destroying proinflammatory molecules involved in the initiation and progression of atherosclerosis. It is known that the enzymatic activity in diabetic patients is decreased, but how the type of feeding influences on *PON1* gene expression is not well studied. The aim of this study was to determine the effect of the type of feeding on the expression of the *PON1* gene in rats. One hundred Fifty male rats Wistar, were divided in 5 five groups as follows: 1) control (C); 2) streptozotocin-induced diabetic (STZ), these two fed with commercial food for rodents (Harlan Teklad, 18% protein); 3) obese (OB) and 4) diabetic-obese (STZ-OB) these two fed with obesigenic foods such butter, lard and others., and 5) low in proteins (6%). The expression of PON1 was determined in liver by RT-PCR by using β -actin as housekeeping. The results show that the expression was greater on month 3 for groups STZ ($p<0.001$), STZ-OB ($p=0.005$), OB ($p<0.001$) and BP ($p<0.001$), for the month 4, STZ ($p=0.001$) and STZ-OB ($p=0.008$) and month 5 only the OB group ($p=0.006$). No one showed an expression pattern according to time, probably to the complexity in diets composition and/or the combined effect by the presence of diabetes, this indicates that some nutrients induce but other inhibit the *PON1* gene expression. These results confirm the role that the nutrients can play in the genes expression.

Palabras clave: PON1, diabetes, nutrimentos, atherosclerosis, gene expression, RT-PCR.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 FLUJO DE LA INFORMACIÓN GENÉTICA

La información genética es el conjunto de mensajes codificados en los ácidos nucleicos, originada por la expresión de los caracteres hereditarios en los seres vivos mediante reacciones químicas. El ácido nucleico de los cromosomas (ADN), codifica la información genética de la célula (Passarge, 2001).

Las células contienen dos formas de ácidos nucleicos, el ácido desoxirribonucleico (ADN) y el ácido ribonucleico (ARN). La expresión tiene lugar a través de intermediarios de ARN, para el ADN y la síntesis de proteínas los tres tipos más comunes de ARN son; ARN de transferencia (ARNt), ARN mensajero (ARNm) y ARN ribosomal (ARNr), todos comprometidos en la síntesis de proteínas (Passarge, 2001).

Las relaciones del ADN con el ARN y con las proteínas condujeron al “dogma central” de la genética molecular, propuesto por Watson y Crick en 1958 y establecía que el flujo de la información genética en el sentido ADN-ARN- proteínas, no puede invertirse. Sin embargo, el descubrimiento de las ADN polimerasas y ARN dependientes (*transcriptasas inversas*) obligaron a revisar en 1970 el dogma central y adaptarlo a la forma como se muestra en la figura 1:

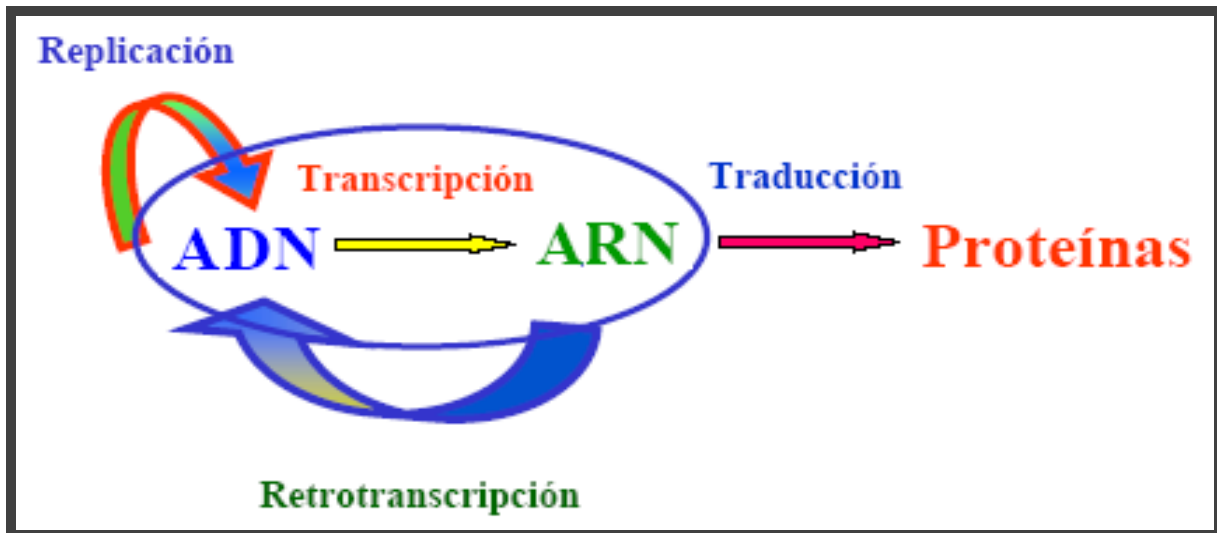


Figura 1. Flujo de la información genética. Es unidireccional y consta principalmente de la transcripción (1) y la traducción (2). La información de la secuencia codificante de un gen es transcrita a una molécula intermediaria de ARN cuya secuencia es sintetizada en forma complementaria a la de la cadena codificante de ADN (1). La secuencia de la información en la molécula de ARN mensajero (ARNm) es traducida a una secuencia de aminoácidos (2). Tomado de: Gorostiza, 2008.

Los procesos que establecen la conservación y transmisión de la información genética son:

1. Replicación; proceso en el que las moléculas de ADN se replican en el núcleo de las células, para formar moléculas hijas idénticas a la descendencia. La replicación es muy compleja, actúan 3 proteínas que se encargan de desenrollar y mantener separadas las 2 cadenas del ADN original como se ve en la figura 2.

Inicia la ADN topoisomerasa que rompe un enlace éster de una de las cadenas y permite el giro de la cadena que permaneció intacta. Seguida de las helicasas que desenrollan al ADN y las proteínas fijadoras y desestabilizantes del ADN, se unen a una cadena del ADN e impiden que se una con la complementaria, de esta manera se mantienen separadas las 2 cadenas del ADN formando una horquilla de replicación que es el lugar donde se está llevando a cabo la replicación por la ADN polimerasa. Posteriormente la ADN polimerasa cataliza la incorporación de los desoxirribonucleósidos trifosfato usando como molde una de las cadenas, todas las ADN polimerasas añaden nucleótidos al extremo 3' de un cebador existente. La cadena conductora (líder) se duplica en un modelo continuo, en dirección 5' → 3'; la

cadena retardada, duplicada en fragmentos de Okazaki sigue la dirección contraria a la de replicación (Pacheco, 2000).

Tanto la cadena continua como la discontinua utilizan un ARN cebador para iniciar la síntesis de ADN. El ARN cebador es eliminado del ADN después de su síntesis por acción de la ADN polimerasa I, que posee actividad de nucleasa (para degradar al ARN) y actividad polimerasa (que sintetiza el ADN complementario). La unión de los fragmentos de ADN lo lleva a cabo una ADN ligasa. La enzima que sintetiza el corto segmento de ARN es la primasa (Pacheco, *et al*, 2000).

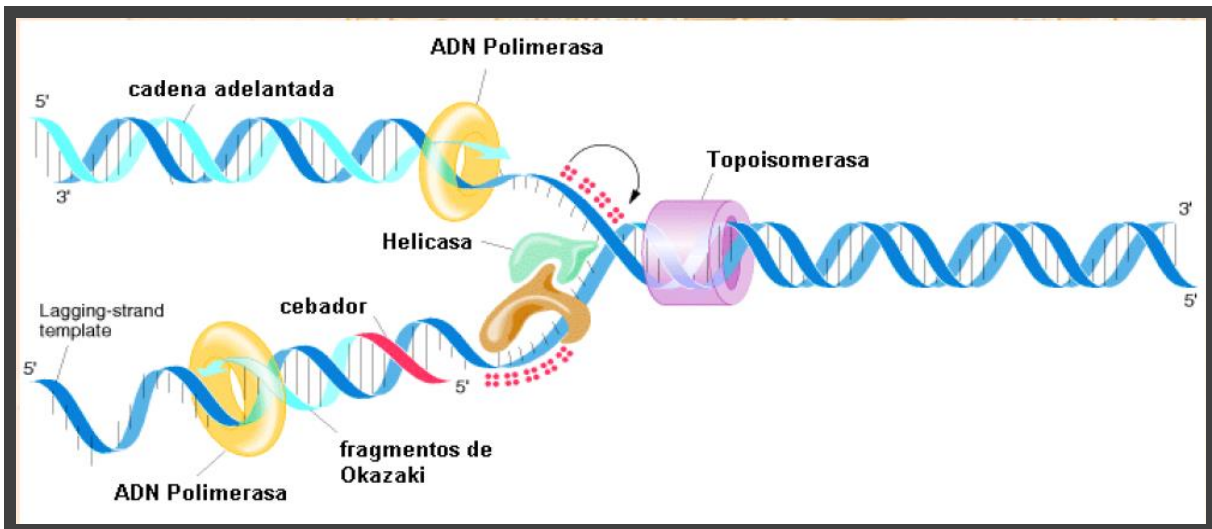


Figura 2. Replicación de la Información Genética: Proceso mediante el cual se pueden generar dos copias completas y precisas de una información genética en particular. Existe el desdoblamiento de la doble hélice del ADN, para que siga el apareamiento de las bases de los nucleótidos, se sintetizan nuevas moléculas hijas del ADN original cuyas cadenas son complementarias y conservan la mitad de la molécula del ADN madre. Tomado de: Gorostiza, 2008.

2. Transcripción; proceso de elaboración de cadenas de ARN a partir de un molde de ADN. Dando lugar a una copia de ARN con secuencia complementaria y antiparalela, a partir de una secuencia molde en una de las hebras del ADN (Figura 3).

La transcripción comienza cuando la ARN polimerasa I, interacciona con secuencias específicas llamadas promotores. La doble hélice se desenrolla y la enzima queda

firmemente unida al ADN para la síntesis de ARN, de tal manera que sólo una de las 2 cadenas es la que transcribe la información al ARN. Debe existir una “cadena molde” y una complementaria o “cadena codificante”, idénticas en secuencia de bases al ARN transcrito excepto que la timina es sustituida por el uracilo. Los ribonucleótidos trifosfato existentes en el fluido celular son: ATP, GTP, CTP y UTP, que por medio de la ARN polimerasa se unen a la parte desenrollada de la doble hélice del ADN situándose allí para complementar la cadena (T=A, A=U, C≡G). Cuando estos nucleótidos están situados adecuadamente se unen entre sí, por acción de la enzima ARN polimerasa en sentido 5′ → 3′, finalmente el ARN se separa y el ADN recupera la estructura de doble hélice (Passarge, 2001).

Así el ARN mensajero (ARNm) formado, sufre modificaciones postranscripcionales, en eucariotas se eliminan los intrones de forma secuencial (secuencia del genoma no codificante) por corte y empalme (splicing), dejando solamente los exones (secuencia del genoma codificante) dando lugar de esta manera al ARNm maduro que se está traduciendo a proteínas (Horacio, *et al*, 2000).

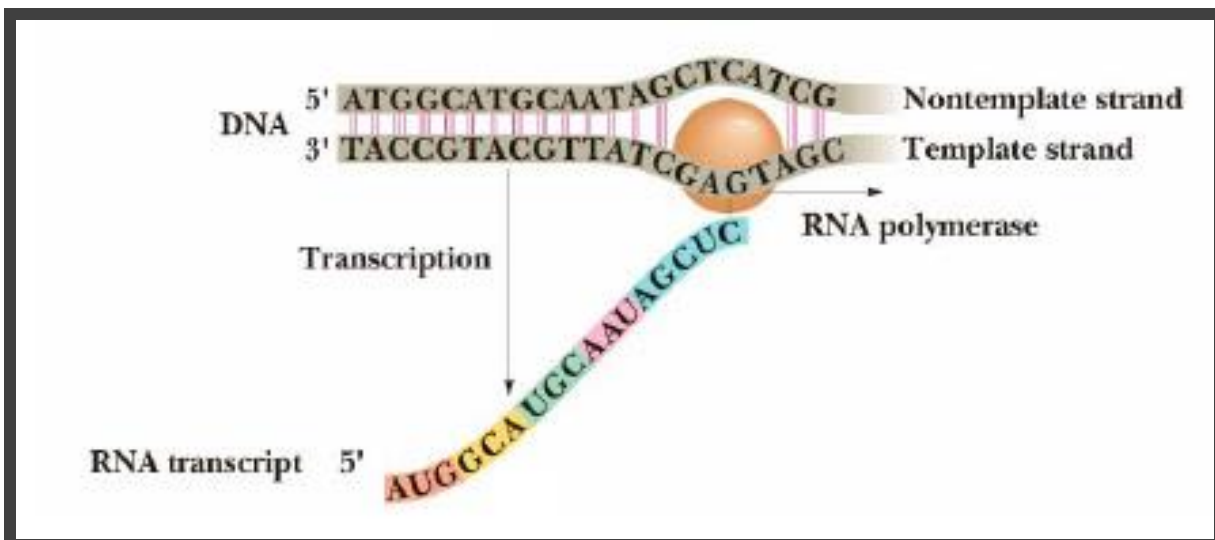


Figura 3. Transcripción de la información genética. De una molécula de ADN a ARN, se observan los pares de bases formados por el ADN molde y como va incorporando los desoxirribonucleótidos y los ribonucleótidos al ARN. Fuente: www.whfreeman.com/life/update/

3. Traducción; proceso por el cual la información genética contenida en el ARNm se expresa en una proteína. La información es llevada a los ribosomas donde el ARNm actúa como molde, dirige la secuencia específica de aminoácidos durante la biosíntesis de proteínas como muestra la figura 4 (Pacheco, *et al*, 2000).

Utilizando una secuencia específica de 3 bases del ARNm “tripletes de bases o codones” cada aminoácido está codificado de por lo menos de un triplete. El proceso de traducción está formado por 3 estadios:

1) Iniciación. Comienza con la unión de una molécula de metionina (Met) a un ARNt^{Met} por medio de un aminoacil-ARNt-sintetasa específica. Hay dos tipos de ARNt^{Met}; uno designado al inicio de la síntesis de proteínas y otro que puede incorporar metionina al péptido en crecimiento. La enzima metionil ARNt sintetasa, puede agregar metionina a ambos ARNt, pero solamente el metionil ARNt^{Met} puede unirse a la subunidad menor del ribosoma y comenzar el proceso de síntesis de proteínas, el Met-ARNt^{Met}, en presencia de un complejo proteína GTP y una subunidad ribosómica menor se une a un sitio específico de ARNm localizado cerca del codón de iniciación AUG. La unidad ribosómica es ayudada por un grupo de proteínas llamadas factores de iniciación (IF) a hallar el sitio de comienzo de la síntesis. Sin estas proteínas, no se forma el complejo ARNm, Met-ARNt^{Met} y la subunidad menor del ribosoma.

2) Elongación. En el ribosoma hay 2 sitios de fijación del ARNt; uno de llegada sitio A (por aminoacil-ARNt) y un sitio P (por peptidil-ARNt) donde es translocado el nuevo peptidil-ARNt formada con cada unión peptídica sucesiva. El Met-ARNt^{Met} ingresa en el sitio P, el segundo aminoácido de la cadena es arginina y llega como arginil-ARNt^{Arg} que se une al sitio A en presencia de GTP y factores de elongación (EF) formando una unión peptídica entre el grupo carboxilo de la metionina y el grupo amino de la Arg-ARNt^{Arg} dando lugar al péptido metionilarginil-ARNt^{Arg} en donde el ARNt^{Arg} se mueve del sitio A al P desplazando al ARNt^{Met} ahora inactivado. Así la hidrólisis de GTP provee la energía necesaria para la translocación de los sitios.

3) Terminación. Las 3 bases que siguen al codón de leucina son UAA, UGA o UAG, los cuales señalan la liberación del complejo peptidil-ARNt al ser reconocidos por los factores de terminación o liberación (TF), simultáneamente el complejo se divide en un ARNt libre, sin estar ligado a un aminoácido y a una cadena de proteína recientemente sintetizada. Después de liberar su peptidil-ARNt los ribosomas se desenganchan del ARNm y se divide en sus 2 subunidades, listas para comenzar otra síntesis.

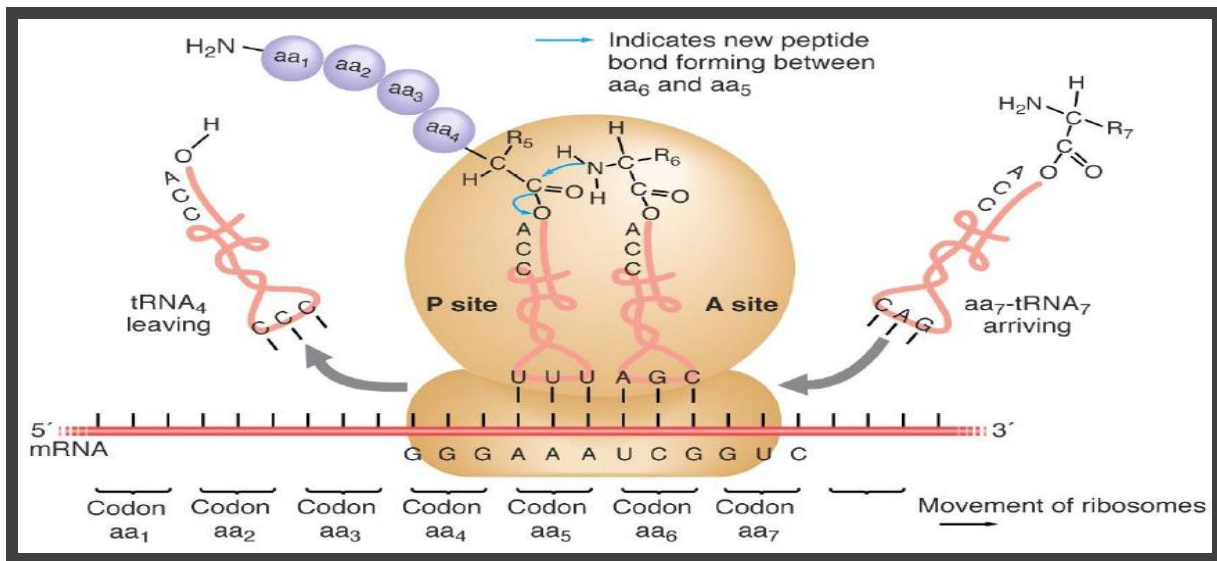


Figura 4. Traducción o síntesis de proteínas. En este proceso se consideran 3 etapas, iniciación, elongación y terminación. Tomado de Gorostiza, 2008.

1.2 NUTRIGENÓMICA

Es una rama de la genómica que estudia los efectos de la nutrición y los componentes de la dieta sobre el transcriptoma de las células que componen los diferentes tejidos (Lau, *et al*, 2008).

Esta rama de la ciencia genómica pretende proporcionar un conocimiento molecular sobre los componentes de la dieta que contribuyen a la salud y enfermedad, mediante la alteración de la expresión y/o las estructuras, según la constitución genética individual (Gómez, 2007). Se centra en el efecto de los nutrientes sobre el genoma, el proteoma y el metaboloma (Van-Lenten, *et al*, 2004; Trayhurn, 2003).

Acumulando evidencias que han indicado que los componentes de la dieta, no solamente abastecen al cuerpo, sino que también participa en la modulación de la expresión de genes (Corthésy-Theulaz, *et al*, 2005). Por consiguiente la nutrigenómica representa el futuro de la investigación nutricional. Uno de los urgentes trabajos para la población, estudiados por la investigación nutricional es la obesidad. Debido a que la nutrigenómica se enfoca a la investigación de la obesidad y los datos de cada uno de estos estudios proporcionan nuevas visiones en los mecanismos de interacción gen-nutriente (Elliott, *et al*, 2007).

Se acepta que los nutrientes (macronutrientes, micronutrientes) e incluso los antinutrientes alteran los procesos moleculares tales como la estructura del ADN, la expresión genética, el metabolismo y cada uno a su vez puede alterar el inicio desarrollo o progresión de la enfermedad. Las variaciones genéticas individuales pueden alterar el modo en que los nutrientes son asimilados, metabolizados, almacenados o excretados por parte del organismo (Marti, *et al*, 2005).

El concepto de interacción gen-dieta describe el efecto de un componente dietético sobre un fenotipo específico (p. ej., la concentración plasmática de lípidos, la obesidad o la diabetes) por un polimorfismo genético. De manera alternativa, el conocimiento se refiere a la modificación dietética del efecto de las variaciones genéticas sobre un rasgo fenotípico. En términos de interacciones gen-dieta para enfermedades comunes y multifactoriales, el desarrollo se ha dado en los riesgos a enfermedades cardiovasculares, que puede cuantificarse midiendo, las concentraciones de colesterol plasmático (Muller, *et al*, 2003).

Las interacciones dieta genotipo y fenotipo se deben observar en la determinación de lípidos plasmáticos, obesidad, diabetes y enfermedades cardiovasculares (Ordóvas, *et al*, 2003).

La genómica nutricional ha generado recientemente un gran interés y un alto grado de expectativa, algunos investigadores han advertido de que el perfilado genómico como medio para estudiar las interacciones entre el genoma y los factores ambientales, como la dieta, no está todavía lo suficientemente desarrollado (Haga, *et al*, 2003). Es cierto que todavía no se disponen datos, que confirmen los beneficios específicos para la salud, ya que se necesitan estudios epidemiológicos y evaluaciones clínicas de intervenciones dietéticas recomendadas, basadas en el genotipo y estén perfectamente bien diseñados para la obtención de resultados confiables y así considerar este enfoque válido y clínicamente útil (Gutiérrez, *et al*, 2006).

1.3 NUTRIGENÓMICA Y OBESIDAD

La obesidad, ya sea en ratas o en humanos, es el resultado de una alteración en el balance entre el consumo y el uso de energías. Este desequilibrio se ha vinculado a alteraciones en el sistema de señales de la leptina e insulina que origina un exceso de peso y DT2 respectivamente (Rui-Liangyou, 2007).

La obesidad es el resultado de la expresión de ciertos genes y condiciones ambientales como; el ejercicio, el estilo de vida y principalmente la dieta, quienes determinan la magnitud del problema. Actualmente la obesidad es una enfermedad hereditaria, al igual que la DT2 (Hernández, 2004).

La alimentación es el componente central que contribuye a la obesidad. A lo largo del tiempo el estilo de vida cambia en cuanto a la dieta y el ejercicio (Lau, *et al*, 2008).

1.3.1 Obesidad y desordenes relacionados

Las consecuencias de la obesidad son aquellas que significativamente disminuyen la calidad y expectativa de vida, mientras que aumentan el riesgo a un gran número de enfermedades relacionadas al incremento de la morbi y mortalidad (Gutiérrez, *et al*, 2006).

El desafío de la obesidad esta asociada con el amplio espectro de los desordenes metabólicos como: la DT2, enfermedad cardiaca, hipertensión arterial, enfermedad cerebrovascular y la dislipidemia principales enfermedades asociadas a la obesidad. La obesidad es un factor con mayor riesgo a padecer enfermedades cardiacas, sin embargo, aun es incierto si la obesidad sin complicaciones es un factor de riesgo independiente de la enfermedad arterial coronaria en ausencia de estados de morbilidad asociada, como diabetes, hiperlipidemia e hipertensión. Muchos estudios han observado una asociación positiva entre la concentración sérica de triglicéridos, de colesterol y el incremento del grado de obesidad: donde la concentración de colesterol HDL, suele ser menor en individuos obesos (Morgan, *et al*, 2000). El perfil lipídico de un obeso esta dado por aumento de las LDL, VLDL, TG y disminución de las HDL lo que nos muestra que es muy aterogénico (Boveris, *et al*, 2005).

1.4 Impacto de la dieta en la expresión genética y enfermedad

Desde hace décadas es conocida la existencia de una respuesta inter-individual a la misma dieta. Sin embargo los factores implicados, en esta diferente respuesta, no son bien conocidos hipotizándose una importante modulación en la expresión genética. Los nuevos conocimientos derivados de la secuencia del genoma humano y toda la tecnología asociada, posibilitan su integración en la nutrición clásica dando auge a la nutrigenómica, que promete una mayor personalización de las dietas (Ordovás, *et al*, 2008).

En la actualidad se considera que muchos efectos de la dieta se deben a modulación de la expresión génica, debido a los componentes de la dieta. Muchos estudios han revisado la interacción de nutriente-genética en la respuesta a la concentración de lípidos y lipoproteínas debido a cambios dietéticos particularmente del contenido de colesterol y ácidos grasos saturados (AGS). Estos estudios analizan genes que expresan receptores, enzimas apolipoproteicas cuya acción es clave en el metabolismo proteico. Entre los más estudiados destacan el gen APO E (que interviene en el catabolismo de la proteínas, ricas en TG y en la homeostasis del

colesterol) y otros relacionados con la expresión de la PON1 que parece jugar un papel importante, no solo en los niveles de lipoproteínas sino también de otros factores p. ej., peroxidación o respuesta antioxidante (Tomás-Moya, *et al*, 2007).

La estimulación de la expresión genética se ve mediada por diferentes nutrientes en la dieta principalmente ácidos grasos. Así, el aumento o la disminución de la expresión genética depende del grado de saturación de la cadena, p.ej., los ácidos grasos de la dieta, en especial los del tipo poliinsaturados son capaces de modificar las rutas metabólicas mediante la represión o estimulación de diversos genes involucrados en el metabolismo de lípidos principalmente los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) en hígado y tejido adiposo. Modelos animales muestran en hígado que esta acción represora inhibe una variedad de enzimas lipogénicas en etapa transcripcional, tal es el caso de la acetil CoA carboxilasa, desaturasas delta y sintetasa de ácidos grasos y la glucosa 6 fosfato deshidrogenasa, son inhibidas a nivel postranscripcional (Gutiérrez, *et al*, 2006). Esto se evidencia en estudios donde los pacientes obesos en comparación a los sujetos normales presentan cambios en el metabolismo de nutrientes luego de ser alimentados con dietas ricas en AGPI, hecho que está determinado por la menor expresión genética de algunas proteínas (proteínas mitocondriales desacoplantes UCP) en los obesos. Otro aspecto diferente es que la represión genética mediada por los AGPI en tejido adiposo relacionada a la producción de eicosanoides ejercen una modificación sobre el ARNm de varias enzimas como la sintetasa de ácidos grasos (Pegórier, *et al*, 2004 y Sampath, *et al*, 2005).

Los AG de la dieta pueden reprimir o estimular la expresión genética de diversos genes que codifican enzimas importantes en las rutas oxidativas o anabólicas y son capaces de modificar las rutas metabólicas mediante el aumento o disminución de diversos genes involucrados en el metabolismo de los nutrientes principalmente de lípidos. Estas acciones son específicas y necesarias para la adaptación a largo plazo ante diversos tipos de dieta, acción que depende de las necesidades metabólicas de

los individuos y el tipo de dieta que ingieren (Bachmann, *et al*, 2003 y Simpoulus, *et al*, 2004).

En diversos estudios se observan respuestas diferentes en los individuos tras el consumo de diferentes tipos de dietas o incluso de alimentos diferentes. La relación entre la dieta y algunas enfermedades como: aterosclerosis esta mediada fundamentalmente por la influencia de aquella sobre la composición de las lipoproteínas plasmáticas y el estrés oxidativo. Sobre las implicaciones nutricionales que tienen las grasas y los aceites. La interacción entre gen-dieta y salud es el resultado entre la interacción del genoma y factores desencadenantes como; alimentación, enfermedad, actividad física y factores ambientales. En este lenguaje celular actúa, alterando la expresión génica en diferentes lugares, modificando la síntesis proteica y la función de muchos órganos y sistemas (Corella, *et al*, 2007 y Corella, *et al*, 2005).

Los efectos genéticos de los alimentos son más complejos, ya que se modifican a partir de las diferencias en las secuencias de ADN entre individuos llamadas polimorfismos. La mejor comprensión de estos fenómenos genéticos en el futuro harán posible que el tratamiento de enfermedades como; la obesidad, diabetes, ECV involucren la identificación de mejores pautas de tratamiento dietético y farmacológico a partir de las diferencias genéticas individuales (Gutiérrez, *et al*, 2006).

La evidencia experimental en modelos animales contribuye a la hipótesis de la respuesta a la dieta y riesgo de enfermedad principalmente obesidad y diabetes (Ordovás, *et al*, 2008).

1.5 DIABETES MELLITUS

La diabetes es un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia resultado del defecto en la secreción o acción de la insulina o ambos (ADA, 2010).

Comprende a un grupo heterogéneo de enfermedades sistémicas, crónicas, de causa desconocida, con grados variables de predisposición hereditaria y la participación de diversos factores ambientales como: tabaquismo, sedentarismo, hipertensión, dieta, obesidad entre otros (Olaiz-Fernández, *et al*, 2006).

1.5.1 Clasificación según la ADA:

La clasificación de diabetes incluye cuatro clases clínicas (ADA, 2010).

- a) **Diabetes Tipo 1 (DT1):** Es la destrucción de las células- β del páncreas, usualmente conduciendo a una deficiencia absoluta de insulina.
- b) **Diabetes Tipo 2 (DT2):** Predomina la resistencia a la insulina, con relativa deficiencia y defectos en la secreción de la insulina.
- c) **Otros tipos específicos de diabetes por defectos genéticos en las células β :** por defectos genéticos de la función en las células- β del páncreas, defectos genéticos en la acción de la insulina, enfermedad del páncreas exócrino, endocrinopatías, inducido por medicamentos o productos químicos e infecciones.
- d) **Diabetes mellitus gestacional (DMG):** Alteración del metabolismo de los hidratos de carbono, de severidad variable, que se inicia o se reconoce por primera vez durante el embarazo.

1.5.2 Complicaciones

La diabetes es un síndrome de repercusión multisistémica que afecta la microcirculación y la macrocirculación (Quiroz, 2003). La Asociación Mexicana de Diabetes (AMD) clasifica las complicaciones según las investigaciones realizadas, en agudas y crónicas (AMD, 2008).

- a) **Agudas.** Se presentan intempestivamente.
- Hipoglucemia
 - Cetoacidosis diabética
 - Coma hiperosmolar
- b) **Crónicas.** Ocurren después de haber tenido elevada la glucosa en sangre después de periodos prolongados (años).
- Retinopatía diabética
 - Nefropatía diabética
 - Neuropatía diabética
 - Complicaciones cardiovasculares

1.6 Diabetes y enfermedad coronaria

La diabetes se considera un factor de riesgo coronario y un antecedente de enfermedad cardiovascular (ECV), ya que los pacientes que padecen diabetes tienen mayor riesgo a desarrollar infarto agudo del miocardio con menor supervivencia tanto a corto como a largo plazo, así como, dislipidemias por disminución de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y aumento de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) favoreciendo así la aterosclerosis y un estado procoagulante (Boichuk, *et al*, 2005).

La insuficiencia cardíaca que presenta el paciente diabético es causada por la cardiopatía isquémica principalmente, pero también por la miocardiopatía llegando en estadios avanzados a la disfunción diastólica y sistólica (Hipertensión) (Boichuk, *et al*, 2005).

Otros factores de riesgo frecuentes en la enfermedad cardiovascular son el síndrome metabólico, la hipertensión y la dislipidemia y con alto grado de severidad en la persona con diabetes (OPS, 2008).

1.7 Diabetes y aterosclerosis

La aterosclerosis es un proceso patológico multifactorial, que se define morfológicamente como el endurecimiento de las arterias por la formación de acúmulos lipídicos (placa ateromatosa) en la pared vascular. La placa ateromatosa es el resultado de la acumulación progresiva de material graso en la capa íntima de la pared arterial concomitantemente con el crecimiento de la capa muscular lisa y una respuesta inflamatoria localizada (Figura 5) (Calderón, *et al*, 2008).

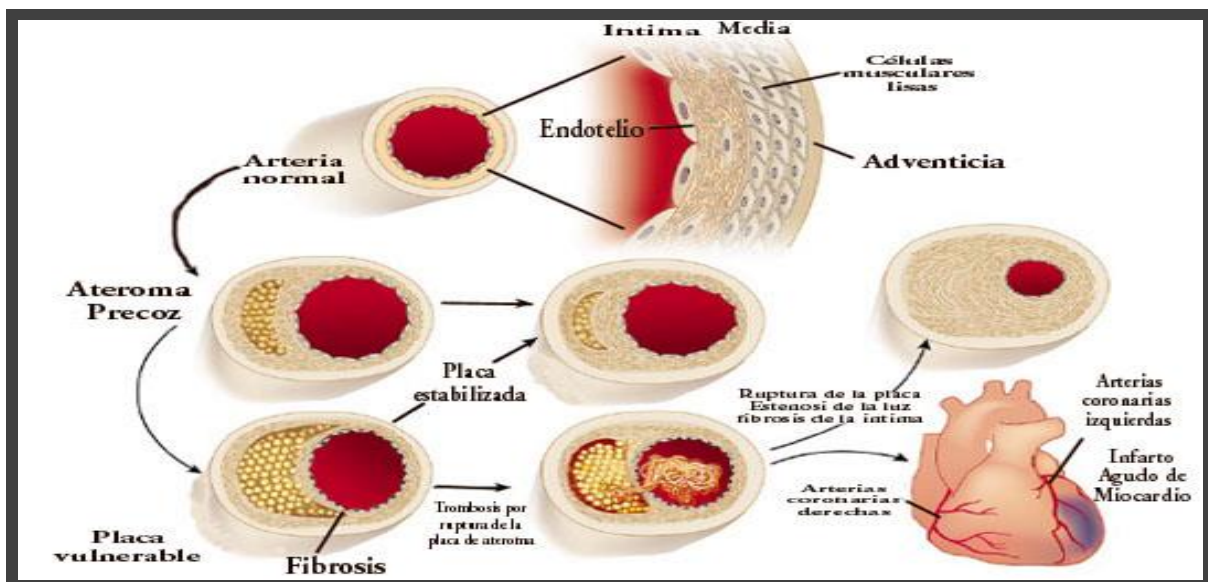


Figura 5. Proceso de evolución de la aterosclerosis. La aterosclerosis puede manifestarse cuando los depósitos de colesterol y de placa se acumulan y desgarran el revestimiento interno de la arteria. A medida que los depósitos se endurecen y ocluyen el lumen o luz arterial, disminuye la irrigación sanguínea a tejidos distantes y se puede alojar un coágulo, causando la obstrucción total de la arteria. Fuente: ADAM. Comisión Norteamericana de Certificación de la Atención Médica, 2008.

La asociación de la aterosclerosis con diferentes factores de riesgo, entre ellos valores elevados de lipoproteínas de baja densidad (LDL), la hipertensión, la diabetes, la obesidad y el hábito al tabaco, generó la hipótesis de «respuesta al daño» para explicar la génesis y el desarrollo de las lesiones. Uno de los episodios más tempranos en la aterogénesis es la acumulación de LDL en la pared arterial, donde sufren modificación oxidativa. Estas LDL perturban la función endotelial y, con ello, todas las propiedades antiaterogénicas del endotelio. Además, los macrófagos y las células musculares lisas captan estas LDL, a través de diferentes receptores, y se transforman en células espumosas, cuya acumulación progresiva en la capa íntima

de la arteria contribuye a la evolución de las lesiones (Martínez, *et al*, 2001) (Figura 5).

La etiopatogenia de la aterosclerosis, se verifica con claridad en el paciente diabético. Estudios epidemiológicos han demostrado que alteraciones metabólicas asociadas, como la dislipidemia, hipertensión, obesidad e hipercoagulabilidad, influyen en la prematuridad y severidad de la aterosclerosis que desarrollan los pacientes con diabetes (Sánchez -Recalde, *et al*, 2001). La diabetes se asocia de forma compleja, pero directa, con una temprana y rápida progresión de la aterosclerosis. Además con el desarrollo de la biología molecular hemos podido apreciar qué mecanismos inmunológicos e inflamatorios subyacen al proceso de la diabetes y la aterosclerosis que parecen influir de manera directa en el crecimiento y la rotura de la placa de ateroma y son particularmente agresivos en el paciente diabético (Ginsberg, 2000).

1.8 PARAOXONASA 1 (PON 1)

La PON 1 es responsable de la inhibición del proceso oxidativo y contribuye a la protección antioxidante conferida por las HDL en la oxidación de las LDL (Sumegová, *et al*, 2007). El efecto de la PON1 unida a las HDL o de la enzima aislada y purificada en el proceso de oxidación de las LDL, incluyendo su fase de iniciación (formación de dienos conjugados), de propagación (formación de peróxido) y de descomposición (formación de aldehídos) puede ser analizado usando inhibidores específicos (Rodríguez, *et al*, 2006).

Se ha propuesto que el efecto inhibitorio de las HDL en la oxidación de las LDL está relacionado con la quelación de iones metálicos, o con su actividad similar a la peroxidasa (Sumegová, *et al*, 2007). La habilidad de PON1 para inhibir la oxidación de las lipoproteínas y para reducir los peróxidos asociados a las lipoproteínas, se debe a dos propiedades. Primero, la enzima previene la acumulación de lípidos oxidados y segundo, usa y elimina las lipoproteínas oxidadas preformadas. Ambos efectos pueden resultar de su habilidad para hidrolizar peróxidos de lipoproteínas

específicas durante la oxidación lipoproteica (Gouédard, *et al*, 2004). Así el potencial antiaterogénico de la PON1 está dado por su capacidad de hidrolizar lípidos, fosfolípidos y ésteres de colesterol peroxidados (Rodríguez, *et al*, 2006).

1.8.1 Propiedades y características

En 1996, se describió por primera vez que la enzima PON1 pertenecía a una familia multigenética que en los mamíferos constaba de al menos tres miembros codificados por los genes *PON1*, 2 y 3. (Primo-Parmo, *et al*, 1996). Esta familia de genes parece haberse formado por la duplicación de un precursor común, ya que los tres son muy parecidos (aproximadamente en el 70% de la secuencia de nucleótidos y en el 60% de la de aminoácidos) y se encuentran localizados en posiciones adyacentes del cromosoma 7 en la especie humana y en el cromosoma 6 de ratones, la enzima de la PON1 se ha detectado en el suero de hígado y en otros tejidos tales como los riñones, intestino delgado y plasma (Billecke, *et al*, 2000; Ferré, *et al*, 2004).

La PON1 sérica humana (arildialkilfosfatasa), es una glicoproteína dependiente de calcio. Que contiene 354 residuos de aminoácidos. Su peso molecular está entre 43 kDa, tiene más de 3 cadenas de azúcares por molécula y los carbohidratos representan más del 15.8 % de su peso total. Esta enzima tiene un punto isoeléctrico de 5.1, su concentración sérica es de alrededor de 50 mg/d (Golmanesh, *et al*, 2007 y Sumegová, *et al*, 2007).

En el suero, la mayor parte de esta enzima está asociada con las partículas HDL, pero un nivel bajo de PON1 fue observado también en las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y en los quilomicrones posprandiales (Sumegová, *et al*, 2007).

1.9 PON 1 y Enfermedad cardiovascular

La PON1 protege contra la enfermedad cardiovascular, ya que previene la oxidación de HDL y LDL; también hidroliza la tiolactona de la homocisteína, lo cual altera las proteínas de la pared arterial. Así mismo, es capaz de hidrolizar el factor activador de

plaquetas, que es un fosfolípido involucrado en el desarrollo de la enfermedad vascular. En un estudio se encontró que un bajo nivel de actividad en plasma de esta enzima se encuentra asociada con un incremento en la prevalencia de aterosclerosis y puede ser un factor independiente para eventos coronarios (Gouédard, *et al*, 2004). Se ha intentado demostrar, que la paraoxonasa sérica disminuye el riesgo de enfermedad coronaria por su acción destructora de moléculas proinflamatorias involucradas en la iniciación y la progresión de las lesiones ateroscleróticas. Está bien establecido que la aterosclerosis y sus manifestaciones a menudo se asocian a concentraciones disminuidas de HDL, lipoproteínas donde se localiza la PON1. Actualmente sabemos que la concentración baja de HDL suele ir acompañada de una actividad o concentración de PON1 disminuidas, como sucede en otras enfermedades (Mackaness, *et al*, 2005).

En las lesiones ateroscleróticas se han hallado componentes celulares relacionados con la inflamación, en algunos estudios se ha observado una relación entre la incidencia de aterosclerosis y la presencia de ciertos agentes infecciosos como *Chlamydia pneumoniae* y Citomegalovirus, y entidades como la bronquitis crónica (Tomás, *et al*, 2004). Ciertas moléculas implicadas en la fase aguda de la respuesta inflamatoria como la interleucina (IL)-1, IL-6, endotoxina y fosfolípidos oxidados disminuyen la expresión de PON1 y su actividad de paraoxonasa (Van-Lenten, *et al*, 2001 y Tomás, *et al*, 2004).

Las evidencias experimentales de la función antioxidante de la PON1, se ha visto en ratones sometidos a dieta aterogénica a corto plazo, la formación de complejos inmunitarios contra la apo A-I oxidada puede ser un mecanismo para la eliminación de HDL oxidadas y la consecuente disminución de la actividad paraoxonasa, sin disminuir la cantidad de su ARNm de la PON1 (Hedrick, *et al*, 2000 y Tomás, *et al*, 2004). La función antioxidante de la PON1 apoyada en estos estudios han demostrado *in vivo* que la PON1 es eficaz para inhibir la oxidación de las LDL, partículas de probado efecto aterogénico. Los ratones sometidos a dietas

aterogénicas ricas en grasas y colesterol desarrollan más aterosclerosis y sus HDL son incapaces de contrarrestar la oxidación de LDL, por lo que son más fácilmente oxidables (Tomás, et al, 2004).

Las enfermedades relacionadas con la aterosclerosis como el síndrome metabólico y algunos factores ambientales están relacionados en buena medida con la actividad de la PON1. Por otra parte, la PON1 es una enzima inducible, ya que diversos estímulos modifican su expresión (Reddy, *et al*, 2001, Tomas, *et al*, 2000, Mackness, *et al*, 1998, Weinbrenner, *et al*, 2003 y Senti, *et al*, 2003).

Bajo estrés oxidativo no sólo las LDL son susceptibles a la peroxidación lipídica, todos los lípidos séricos, incluyendo aquellos presentes en las HDL, también están propensos a la oxidación. En realidad, las HDL se han descubierto como el principal acarreador de hidroxiperóxidos lipídicos en el suero humano. Bajo este contexto es de interés que las HDL asociadas a hidroxiperóxidos de ésteres de colesterol, pueden ser reducidos con mayor velocidad a hidróxidos menos reactivos con respecto a aquellos asociados con las LDL (Aviram, *et al*, 1998). Sin embargo, hasta que no se disponga de un ensayo analítico basado en la hidrólisis de peróxidos lipídicos y se conozca con exactitud el sustrato fisiológico de la PON1, podría determinarse la actividad o concentración de PON1 en todos los estudios epidemiológicos, que aborden la relación de la PON1 con la enfermedad coronaria (Blatter, *et al*, 1994 y Mackness, *et al*, 2001).

Distintas situaciones fisiopatológicas (diabetes, obesidad y ECV) vinculadas a un aumento del estrés oxidativo y factores ambientales (dieta, hábito al tabaco y baja actividad física) producen una disminución de la actividad sérica y expresión de la paraoxonasa (Rodríguez, *et al*, 2006).

La DT2 se caracteriza por una glucemia elevada, hipertrigliceridemia, presencia de metabolismo oxidativo acelerado, concentraciones disminuidas de las HDL, alta

prevalencia de obesidad y aterosclerosis acelerada. La DT2 se asocia a accidentes cardiovasculares probablemente relacionados con valores bajos de colesterol HDL, más que con concentraciones elevadas de las LDL. Además, los pacientes diabéticos que presentan complicaciones tales como enfermedad coronaria, retinopatía o neuropatía poseen valores de actividad paraoxonasa menores que los diabéticos sin complicaciones (Tomás, *et al*, 2004 y Mackness, *et al.*, 2002). Al parecer, la actividad paraoxonasa disminuye a medida que progresa la diabetes y se halla especialmente baja en estadios avanzados de la enfermedad. En la obesidad asociada a concentraciones elevadas de leptina se observa una disminución de las actividades paraoxonasa, arilesterasa y lactonasa de la PON1 y un incremento del estrés oxidativo, factores que podrían explicar, la relación entre obesidad y aterosclerosis (Beltowski, *et al*, 2003). Estudios *In vitro*, en donde las concentraciones elevadas de glucosa reducen la capacidad antioxidante de las HDL, debido a que la actividad paraoxonasa y la razón actividad paraoxonasa/colesterol de las HDL se hallan disminuidas, observándose a la vez un aumento de marcadores de oxidación. En ratas con diabetes inducida por estreptozocina, la actividad paraoxonasa sérica disminuye progresivamente con el tiempo (Hedrick, *et al*, 2000).

2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

La diabetes es un problema de salud pública a nivel mundial, sobre todo en los países en vías de desarrollo. En México se ha convertido en la primera causa de muerte, y se encuentra relacionada con las enfermedades cardiovasculares que ocupan la segunda causa de muerte y la primera en pacientes con diabetes. La presencia de obesidad es un factor de riesgo en la presencia de diabetes y actualmente en México la obesidad ocupa el segundo lugar a nivel mundial (FMD, 2009). Estas enfermedades de tipo crónico degenerativas se asocian a un cambio en el estilo de vida, implicando la dieta y la baja actividad física (OMD, 2008).

Las ECV constituyen la primera causa de muerte en los países desarrollados. La hipótesis de la peroxidación de las LDL como mecanismo desencadenante del proceso aterosclerótico, ha promovido estudios a fin de conocer los sistemas de que dispone el organismo, para incrementar la defensa antioxidante y por tanto, frenar la aterosclerosis. Jugando aquí un papel importante la PON1, la cual se encuentra relacionada principalmente con las HDL la cual parece contribuir al mantenimiento y recuperación de la estructura y estado antioxidativo de las LDL (Canales, *et al*, 2003).

Los nutrimentos de la dieta cotidiana representan el mecanismo que modifica el medio celular en diversos órganos y en los últimos años se ha comprobado que estos cambios modifican la expresión de numerosos genes. Los genes están formados de ADN y se encuentran en el núcleo de la célula a un nivel de resolución molecular. Éstos controlan el medio interno de la célula, la interacción con otras células y con el medio ambiente en general, por medio de proteínas que son transcritas en respuesta a estímulos (Austin, *et al*, 1998).

Las enfermedades relacionadas con la aterosclerosis y también algunos factores ambientales están relacionados en buena medida con la actividad de la PON1. En lo

que concierne a la asociación de ciertos polimorfismos genéticos del gen PON1 con la enfermedad coronaria, los resultados publicados hasta ahora son claramente dispares (Reddy, *et al*, 2001).

En este sentido, para predecir el riesgo de enfermedad coronaria parece lógico analizar los genotipos de PON1, además de su actividad o concentración. Sin embargo, hasta ahora son escasos los estudios que han analizado polimorfismos de PON1 junto con su actividad paraoxonasa o arilesterasa (Mackness, *et al*, 2001 y Mackness, 2000).

No obstante, algunas observaciones sugieren que la variabilidad interindividual de la actividad de la PON1 en individuos sanos parece deberse fundamentalmente a factores independientes del genotipo (Mackness, *et al*, 1996). Por otra parte, diversos estudios demuestran que la PON1 se encuentra involucrada en el inicio y progreso de lesiones aterosclerosas sugiriendo que la enzima juega un papel importante en esta patología (Mackness, *et al*, 1991; Mackness, *et al*, 1993 y Aviram, *et al*, 1998). La PON1 se sintetiza en el hígado de los mamíferos, circula por la sangre unida a las apo A-I y apo J de las HDL, y su expresión se inhibe por estímulos proaterogénicos (Mackness, 1989; Kelso, *et al*, 1994 y Tomás, *et al*, 2004).

3. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad la nutrigenómica juega un papel importante en el seguimiento desde un fenotipo sano a un fenotipo de disfunción crónica que puede explicarse por cambios en la expresión genética o por diferencias en las actividades de proteínas y enzimas, y que los componentes de la dieta directa o indirectamente regulan la expresión de la información genética (Marti, *et al*, 2005). Por lo que con el apoyo de la genética molecular se pueden conocer diversas enfermedades y la relación con la dieta y factores que intervengan en su progresión o probables complicaciones (Gutiérrez, *et al*, 2006).

La diabetes se asocia a un nivel elevado de estrés oxidativo y una susceptibilidad alta a desarrollar enfermedad coronaria, así como una disminución de la concentración de la PON1 y de su actividad enzimática (Mackness, *et al*, 2002). En roedores se ha demostrado la estrecha relación entre el déficit de PON1 y el desarrollo acelerado de aterosclerosis. Así mismo, la actividad de la PON1 se encuentra reducida en enfermedades con elevado estrés oxidativo, como la enfermedad coronaria y la diabetes. La actividad enzimática disminuida de PON1 se asocia a distintas enfermedades relacionadas con la aterosclerosis (Tomás, *et al*, 2004). Pero no existe suficiente información que compruebe que la expresión genética de la PON1 se vea afectada (disminuya y/o aumente) en la presencia de diabetes condicionando la presencia de aterosclerosis y cómo influye la dieta en este proceso. Ya que no se han realizado trabajos que comprueben una relación en la expresión del gen de la PON1 con la dieta, en particular, la dieta de la población mexicana, es muy diferente en nutrimentos y alimentos consumidos, a la de otras poblaciones, por lo que además condiciona a enfermedades como la diabetes y la obesidad que actualmente son muy relevantes en nuestro país.

El objetivo de este proyecto es conocer los niveles de expresión del gen de la PON1, en modelos de diabetes inducida en ratas Wistar sometidas a diferentes tipos de dietas: normal (Harlan Teklad 18% de proteína), obesigénica casera (a base de grasas saturadas 40%) y baja en proteínas (6% proteína) (Ver Tabla 1), dándonos a conocer que tanto se ve afectada la expresión de la PON1, si presenta un aumento o disminución y la probabilidad de que exista un factor de riesgo asociado al tipo de dietas en el desarrollo de aterosclerosis.

4. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

4.1 Objetivo General:

Medir la expresión del gen de la PON1 en ratas diabetizadas y alimentadas con diferentes dietas.

4.2 Objetivos Específicos:

1. Determinar, la expresión del gen de la PON1 en hígado de ratas diabéticas, alimentadas con la dieta normal y obesigénica casera.
2. Determinar, si una dieta en particular tiene un efecto en la expresión de la PON1.
3. Determinar, cuál de los diferentes tipos de dietas (normal, obesigénica casera y baja en proteínas) influyen en la expresión del gen de la PON1.
4. Establecer, la asociación de la expresión de la PON1 con los diferentes tratamientos empleados en el trabajo.

5. HIPÓTESIS

La expresión del gen de PON1 es inhibida mayormente en ratas diabétizadas y alimentadas con una dieta aterogénica.

6. MATERIALES Y METÓDOS

Se propone un diseño experimental, en el cual se formaron 5 grupos de animales los cuales; 4 fueron sometidos a diferentes tratamientos y dietas y un control para compararlo con los experimentales.

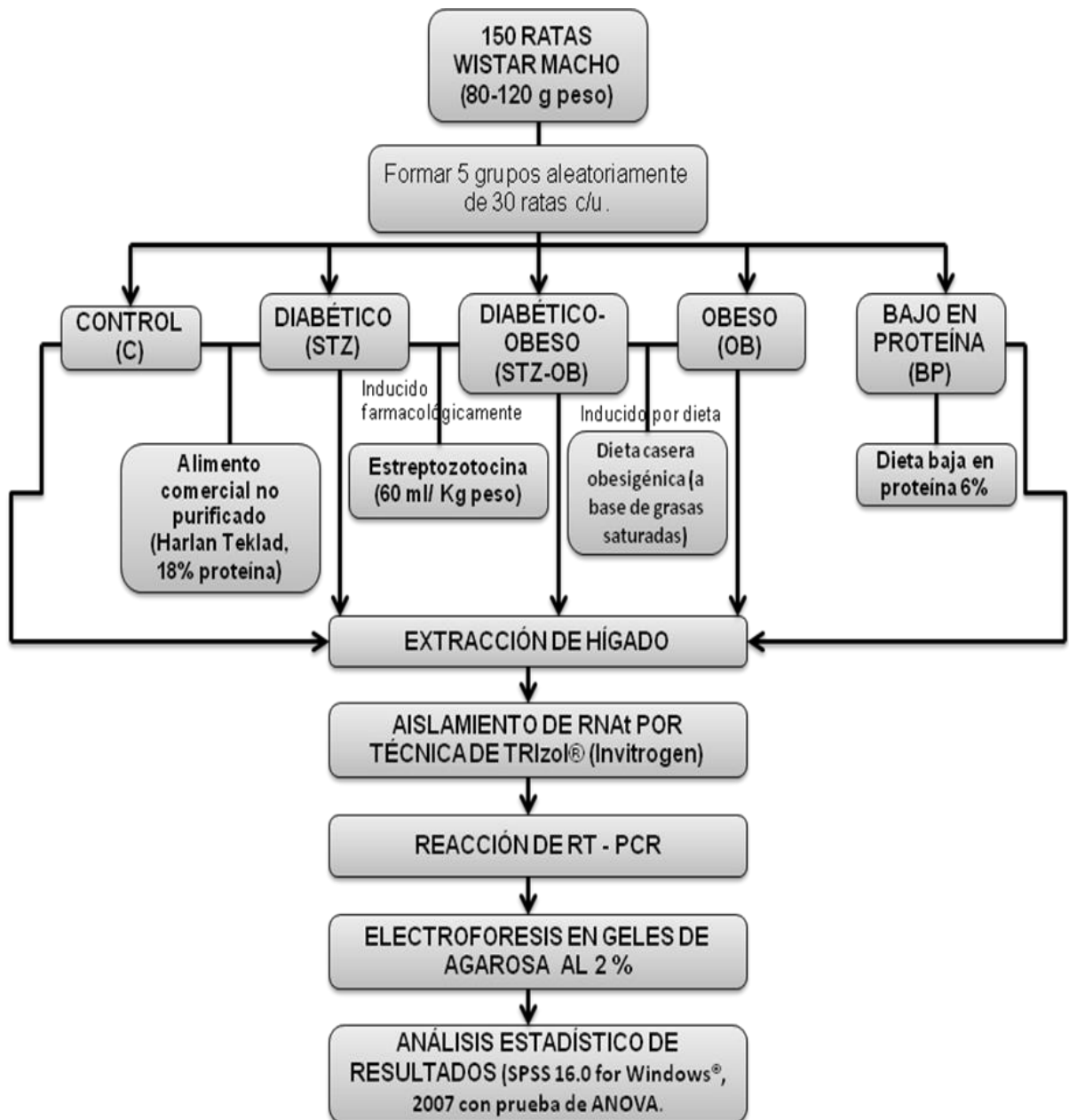


Figura 7. Diseño metodológico de la investigación. Procedimientos realizados en la investigación. Se designan las siguientes claves para identificar a los diferentes grupos experimentales; C (Control), STZ: Estreptozotocina (Diabético), STZ-OB (Diabético-Obeso), OB (Obeso) y BP (Bajo en proteína).

6.1 Animales de experimentación

Ratas Wistar macho criadas en el bioterio de la U.A.E.H.

- a) Tamaño de la muestra:** 150 ratas Wistar macho.
- b) Criterios de inclusión:** Animales entre 80 y 120 g visiblemente saludables.
- c) Criterios de exclusión:** Animales aparentemente enfermos y con peso mayor al estimado.
- d) Criterios de eliminación:** Animales que murieron durante el ensayo.

6.2 Animales y dietas

Los animales se mantuvieron en jaulas a temperatura y ciclo de luz controlada, agua *ad libitum* y durante una semana se alimentaron con producto comercial no purificado Harlan Teklad® 18% proteína (Madison, WI, USA). Posteriormente, se formaron aleatoriamente 5 grupos con 30 animales cada uno. Al grupo 1 (control) se le administro alimento común para roedores (Harlan Teklad®, 18% de proteína, 22% grasas y 60% hidratos de carbono), el grupo 2 (diabético) fue diabetizado con estreptozotocina (Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA) y alimentado como el grupo 1; el grupo 3 (diabético-obeso) fue diabetizado y recibió una dieta obesigénica, al igual que el grupo 4 (obeso) alimentados con la dieta casera obesigénica a base de grasas saturadas 40%, donde se incluyó manteca de cerdo, mantequilla y alimento comercial Purina “Nucleus” 60%) y el grupo 5 se alimento con una dieta baja en proteínas (6% proteína, 60% hidratos de carbono; hecho a base de pan molido y azúcar y 34% lípidos; aceite vegetal).

Las dietas adicionadas con grasas saturadas y baja en proteínas fueron calculadas y elaboradas en el laboratorio de Nutrición (ICSa-UAEH) a razón de 100 g de peso total (Tabla 1).

Tabla 1. Composición nutrimental de las diferentes dietas.

Nutrimento por 100 g de alimento	TIPOS DE DIETAS				
	Dieta Normal (para roedores) Harlan Teklad®		Dieta Obesigenica Casera (Purina nucleus Adicionado con manteca de cerdo y mantequilla)		Dieta Baja en Proteínas
	C	STZ	STZ-OB	OB	BP
Fibra	5 g		3 g		0.6 g
Energía	330 Kcal.		648 Kcal.		500 Kcal.
Hidratos de carbono	69 g		30.7 g		81.25 g
Proteínas	19 g		11 g		7.5 g
Grasas totales	6 g		53.5 g		10.5 g
Otros	1 g		1.8 g		0.15 g

6.3 Diabetización por estreptozotocina (STZ)

La estreptozotocina es una nitrosourea natural aislada de la *Streptomyces achromogenes*, que posee una afinidad por las células- β del páncreas, con efecto antigluconeogénico (Uriarte, *et al*, 2003). Este compuesto se utilizó en un principio como herramienta diabetogénica experimental a causa de su efecto tóxico selectivo sobre las células- β en los islotes de Langerhans y posee un efecto tóxico importante sobre el riñón (Rang, *et al*, 1992).

La diabetización se realizó con estreptozotocina (Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA) a razón de 60 mg/kg de peso, en regulador de citratos pH de 4.5 (0.1 M). Por vía Intraperitoneal.

6.4 Expresión del gen de la PON1

Después de cada sacrificio se obtuvo el hígado y se almacenó a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ para posteriormente extraer el ARN total.

6.4.1 Aislamiento de ARN total

El ARN total se obtuvo por la técnica de TRIzol®, en la cual se utilizó 0.1 g de muestra homogeneizada en 1 ml de TRIzol® (Invitrogen), para la separación de las fases, se adicionaron 0.2 ml de cloroformo (J.T. Baker, México) se agitó y se centrifugó (Hettich Zentrifugen, MIKRO 22 R) por 15 min a 10,500 rpm de 2 a 8 °C. Para la precipitación del ARN se utilizó 0.5 ml de alcohol isopropílico (Sigma Aldrich, USA), se agitó e incubó durante 10 min a temperatura ambiente, posteriormente se centrifugó por 10 min a 10,500 rpm de 2 a 8 °C. El ARN se lavó con 1 ml de Etanol al 75% en H₂O DEPC libre de ARNsA (USB, corporation, Cleveland, OH, USA), se mezcló y se centrifugó por 5 min a 8,000 rpm de 2 a 8 °C. Por último se disolvió el ARN en 25 µl de H₂O DEPC.

6.4.2 Perfil de expresión por RT-PCR

Se realizó una reacción de transcriptasa reversa (RT) con un volumen final de 20 µl para lo cual se utilizaron los siguientes reactivos: 1 µl de RNA total, 1 µl de oligo dT (Invitrogen), 1 µl de dNTPs 10mM (Invitrogen), 10 µl de agua estéril y se incubó a 65°C por 5 min en un termociclador (TECHNE, TC-512, UK Barloworld Scientific Ltd.). Al finalizar la reacción se pasaron las muestras inmediatamente a hielo para provocar un choque térmico para detener la reacción. Posteriormente se agregaron 4 µl de solución amortiguadora para la reacción de Transcriptasa Reversa 5x First-Strand Buffer (Invitrogen), 2 µl de Desoxirribonucleotidos DTT al 0.1 M (Invitrogen Canadá). Se Mezclaron e incubaron las muestras durante 2 min a temperatura ambiente. Y por último se agregó 1 µl de la enzima Transcriptasa reversa MMLV-RT (Invitrogen), sometiendo la mezcla a un ciclo de síntesis de ADNc a 37 °C durante 50 min seguido de 70 °C por 13 min.

Se diseñaron oligonucleótidos específicos para el gen de la PON1 utilizando el programa DNAMAN®, tomando como referencia la base de datos de GeneBank®. Se utilizó como gen de referencia a la β-actina. Para amplificar el gen β-actina gamma2 (gen de referencia) se diseñaron los siguientes iniciadores (Tabla 2).

Tabla 2. Secuencia de oligonucleótidos iniciadores para amplificar por PCR los genes Actgamma2 y PON1 de rata.

Iniciador	Secuencia (5´-3´)	Tamaño del producto (pb)
Act2F	ATGCCATCATGCGTCTTGACCTGGC	425
Act2R	CTGCATCCTGTCAGCAATCCCAGGG	
PON1F	GGACTAACTTTCTTTAGCACAGGG	405
PON1R	TTCCCAGGACCCGTAAGTATGGG	

6.4.3 Reacción en cadena polimerasa (PCR)

Una vez obtenido el ADNc se realizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con un volumen total de 50 µl utilizando los siguiente reactivos: 5 µl del regulador 10x PCR (Invitrogen, Brasil), 1.5 µl de MgCl₂ 50mM (Invitrogen, Brasil), 1 µl de dNTPs 10mM (Invitrogen), 1 µl oligonucleótido F, 1 µl oligonucleótido R, 1 µl de la muestra de ADNc, 39 µl de agua estéril, posteriormente se agitaron las muestras aproximadamente durante 5 segundos. Finalmente se agregaron 0.5 µl de la enzima Taq ADN polimerasa (Invitrogen).

Posteriormente se procedió a incubar las muestras en el termociclador (TECHNE, TC-512, UK Barloworld Scientific Ltd.) a 35 ciclos de 1 min por 94°C, 1 min por 55°C, 1 min 72 °C, con una desnaturalización inicial de 5 min 94 °C y extensión final de 5 min 72 °C. Los productos de PCR se analizaron en geles de agarosa al 2%. La intensidad de las bandas fue analizada con un software (LabWorks®), que nos permitió saber los niveles de expresión.

6.5 Electroforesis

Los productos de PCR se analizaron en geles de agarosa al 2% (0.7 g de agarosa) preparado con: 35 ml de regulador TAE 1x (TAE Buffer 50x diluido 10ml en 490ml de agua estéril), se calentó en el microondas durante 1 min. Y se dejó enfriar a temperatura ambiente para posteriormente agregar el Bromuro de Etidio (1.5 μ l BrEt) y se mezcló.

Una vez solidificado el gel se colocó en las cámaras de electroforesis con regulador TAE 1x y se procedió a realizar la siembra de las muestras en los pozos; Utilizando 1 μ l de colorante y 5 μ l de la muestra, posteriormente se conectaron los electrodos a la fuente de poder a un voltaje de 97 V por 35 min. Finalmente el gel se observó a través de un transluminador con luz ultravioleta; para analizar la intensidad de las bandas con el Software (LabWorks®) el cual nos dio a conocer los niveles de expresión de la PON1 mediante conteo de pixeles.

6.6 Análisis Estadístico

Todos los datos son expresados con valores de las medias \pm desviación estándar. El análisis estadístico se llevo a cabo con el paquete de Software estadístico (SPSS 16.0 for Windows®, 2007). Las diferencias estadísticas entre los grupos experimentales fueron analizados por 2 formas de análisis de varianza (ANOVA) Sidak y SNK (Student-Newman-Keuls). Al valor de $p < 0.05$ fue considerado estadísticamente significativo.

7. RESULTADOS

La medición de los niveles de expresión en hígado del gen de la PON1 de rata, se realizaron por RT-PCR utilizando como gen de referencia a la β -actina gamma 2 para normalizar la intensidad de las bandas de amplificación. Para ello, se diseñaron oligonucleótidos iniciadores específicos mostrados en la tabla 1. Los productos para la β -actina gamma2 fueron 425 pb y 405 pb para PON1 (Figura 8).

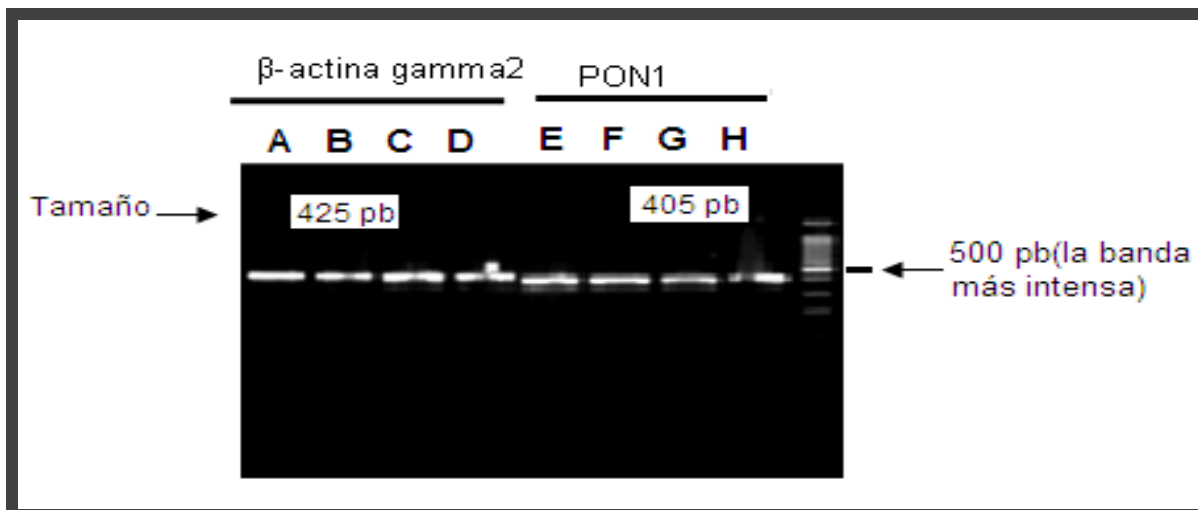


Figura 8: Amplificación de los genes de rata β -actina gamma2 y PON1. Los paneles A-D muestran la amplificación del fragmento de la β -actina gamma2 de 4 muestras diferentes de hígado de rata, se observa una banda del tamaño esperado (425 pb), de igual forma en los paneles E-H muestran la amplificación de PON1 con tamaño esperado (405 pb.).

7.1 Expresión relativa de PON-1/ β -actina en los diferentes tratamientos

En los siguientes gráficos se muestran los perfiles de expresión del gen de la PON1 en los grupos de estudio alimentados con diferentes dietas durante 5 meses.

La figura 9 muestra un resumen de la expresión del gen de la PON1 en los 4 grupos de estudio comparados con el control y sus diferentes dietas. Los grupos con las diferencias significativas más relevantes son: para el mes 0 todos los grupos se encuentran en un proceso de adaptación al tratamiento al que fueron sometidos, los cambios comienzan a notarse en el mes 1; diabético-obeso (STZ-OB) $p=0.006$ el mayor, mientras que los grupos diabético (STZ) y obeso (OB) disminuyen su expresión ($p=0.369$ y $p=0.467$ respectivamente), en el mes 3 todos los grupos sufren

un aumento significativo para el grupo STZ $p < 0.001$, STZ-OB $p = 0.005$ disminuye la expresión del gen de la PON1, Obeso (OB) $p < 0.001$ y bajo en proteína (BP) $p < 0.001$, en el mes 4 únicamente 3 grupos presentan valores significativos; el grupo STZ $p = 0.001$, STZ-OB $p = 0.008$ y obeso (OB) $p < 0.001$ y en el último tiempo mes 5; sólo el grupo OB presenta una diferencia significativa ($p = 0.006$) y los grupos STZ y BP ($p = 0.066$ y $p = 0.025$ respectivamente).

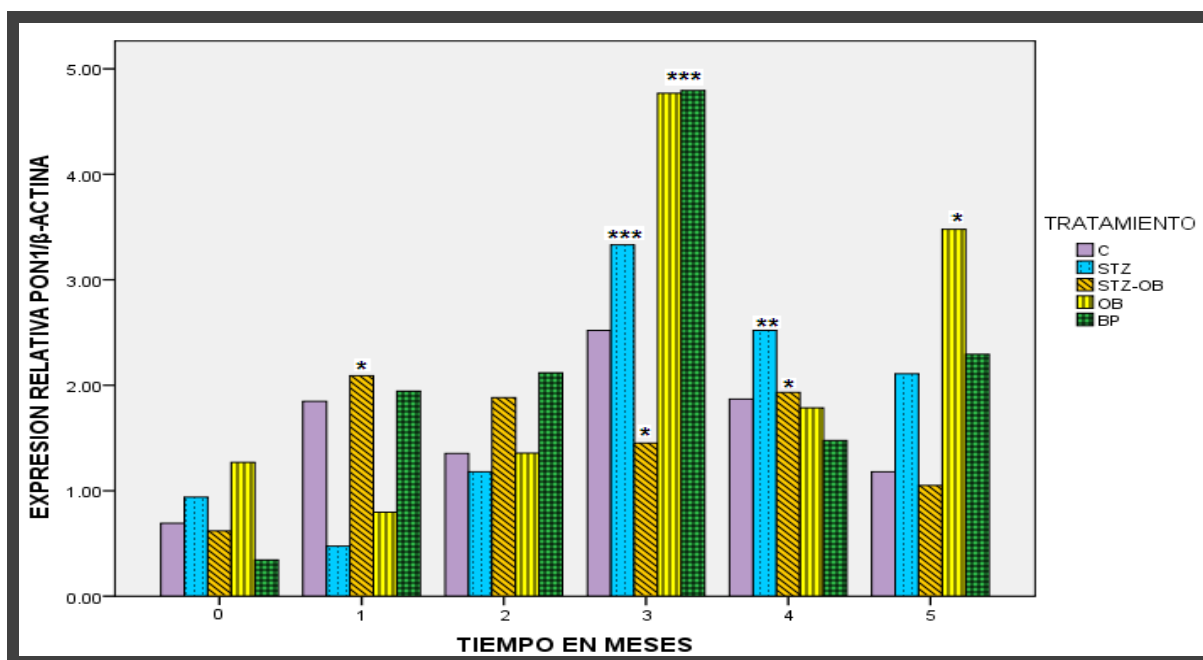


Figura 9. Expresión relativa PON1/β-ACTINA de todos los grupos experimentales. El resumen de la comparación de la expresión de la PON1 del grupo Control (■) con el resto de los grupos experimentales se muestran en este gráfico donde se observan las diferencias significativas más relevantes en los grupos: diabético (STZ ■) en el mes 3 $p < 0.001$ y mes 4 $p = 0.001$; el grupo diabético-obeso (STZ-OB ■) en el mes 1 $p = 0.006$, mes 3 $p = 0.005$ y el mes 4 $p = 0.008$; mientras que para el grupo obeso (OB ■) en el mes 3 $p < 0.001$, y mes 5 $p = 0.006$ y por último el grupo bajo en proteína (BP ■) que presentó una expresión baja en los primeros y últimos meses y en el mes 3 aumento significativamente $p = 0.001$. Estos son los cambios que presentó la expresión del gen de la PON1 a lo largo del tiempo en los grupos con las diferentes dietas. Identificando con * significancia estadística es de $p = 0.006$, $p = 0.005$ y $p = 0.008$, ** significancia estadística es de $p = 0.001$ y *** la significancia estadística es $p < 0.001$.

En la figura 10 se muestran los resultados obtenidos de la expresión de la PON1 en ratas diabetizadas y alimentadas con dieta normal (STZ). Sólo se encontró diferencia significativa en el mes número 3 ($p < 0.001$) y en el mes número 4 ($p = 0.001$), siendo mayor la expresión en el grupo STZ.

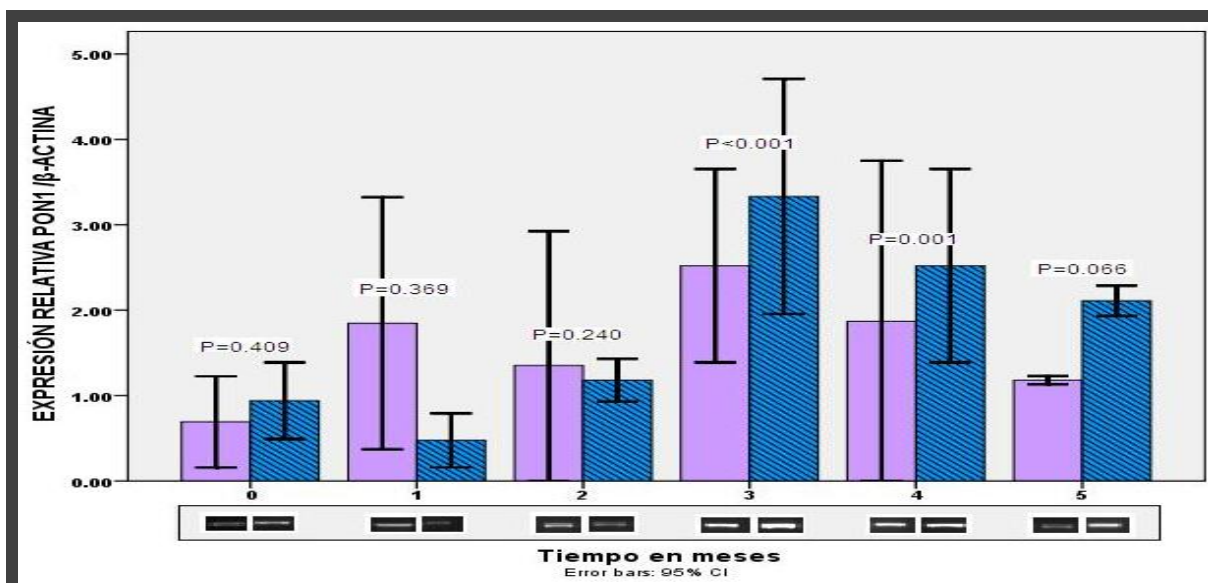


Figura 10. Expresión Relativa PON-1/ β -actina para el grupo Diabético (STZ). Y comparación con el grupo control (C). Se observan diferencias significativas en el mes 3 ($p < 0.001$) y en el mes 4 ($p = 0.001$) mientras que el mes 5 no alcanzó significancia estadística ($p = 0.066$).

La figura 11 muestra la expresión de la PON1 en el grupo diabetizado alimentado con dieta obesigenica casera (STZ-OB), el cual mostró diferencias significativas en el mes 1 ($p = 0.006$), en el mes 3 ($p = 0.005$) y en el mes 4 ($p = 0.008$), aunque en el mes 4 y 5 se observa la diferencia entre los valores estadísticos pero si en la intensidad de las bandas. En este caso el grupo tratado (STZ-OB) presentó mayor expresión de la PON1 en los meses 1 y 4, por lo contrario, la expresión fue menor en el tercer mes.

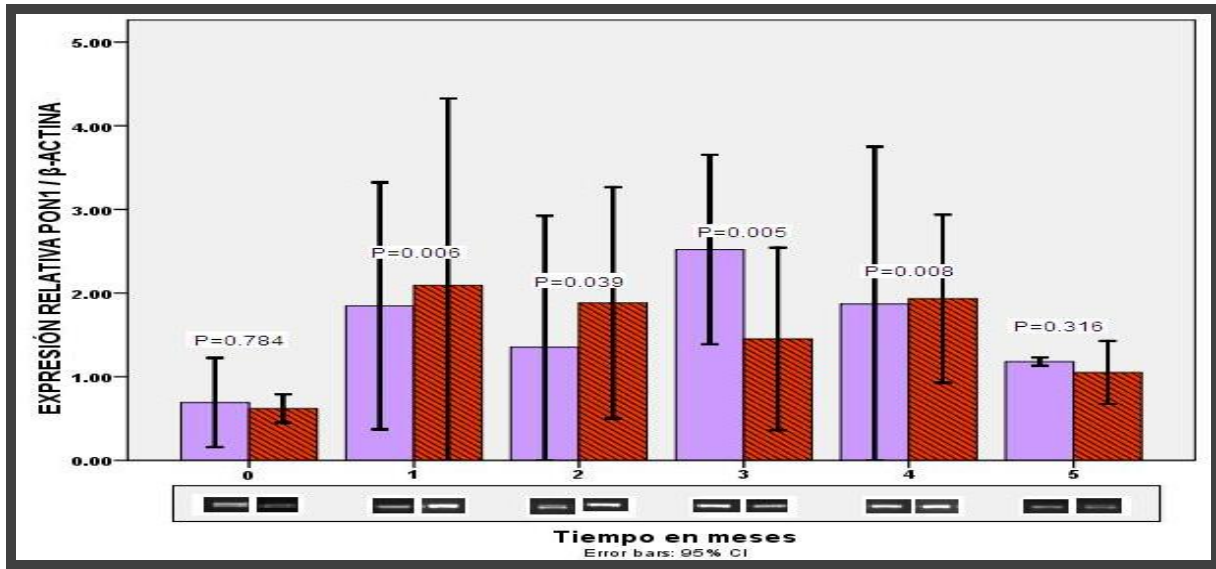


Figura 11. Expresión Relativa PON-1/β-actina para el grupo Diabético-Obeso (STZ-OB). Y comparación con el grupo control (C). La expresión relativa fue determinada en tejido hepático en el grupo de ratas diabético inducido farmacológicamente por estreptozotocina y obeso mediante la dieta obesigenica casera. En el que se aprecian valores significativos en los meses 1 (p=0.006) y en el mes 3 (p=0.005) y en el mes 4 (p=0.008).

La figura 12 muestra la expresión de la PON1 en el grupo Obeso (OB), en este caso el grupo OB mostró niveles de expresión significativamente más altos que el grupo control en los meses 3 y 5 (p<0.001 y p=0.006 respectivamente). Aunque en el mes 4, la expresión fue similar en ambos grupos (p=0.075).

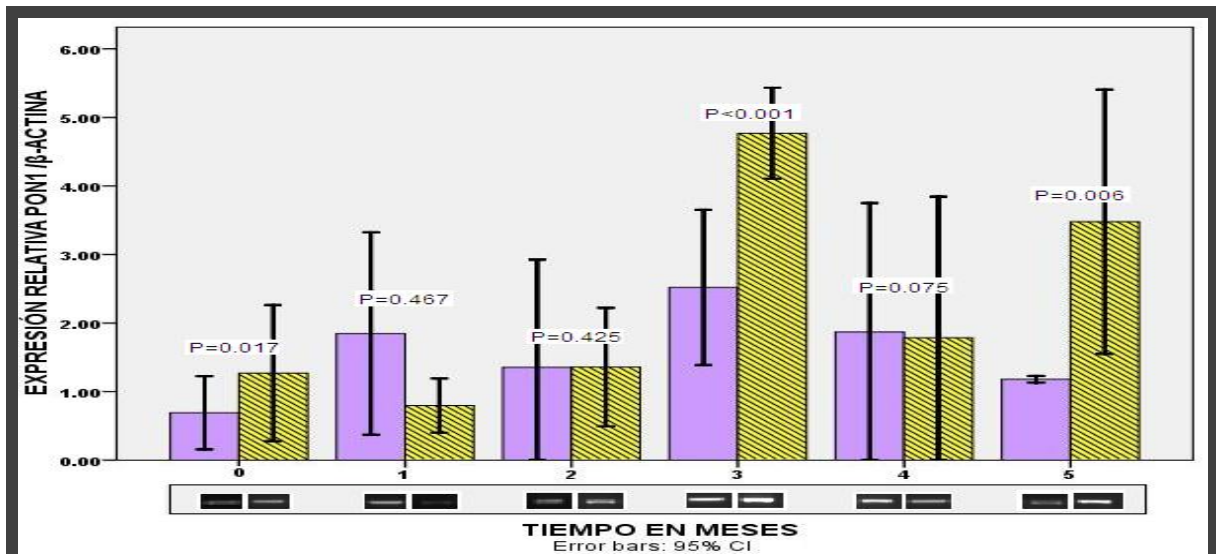


Figura 12. Expresión Relativa PON-1/β-actina para el grupo Obeso (OB) y comparación con el grupo control (C). La expresión relativa de la PON1 fue determinada en tejido hepático en el grupo de ratas obesas inducidas mediante la dieta obesigenica casera. En este grupo se observa importante aumento en el mes 3 (p<0.001) y mes 5 (p=0.006).

En la figura 13 se muestra la expresión de la PON1 en ratas alimentadas con dieta baja en proteínas (BP), se observa en el mes 3 un alto nivel de expresión estadísticamente significativo ($p < 0.001$), en ningún otro caso los resultados fueron significativos, aunque es importante resaltar que el grupo BP mantuvo un tanto estable la expresión del gen de la PON1 a partir del mes 1 hasta el 5.

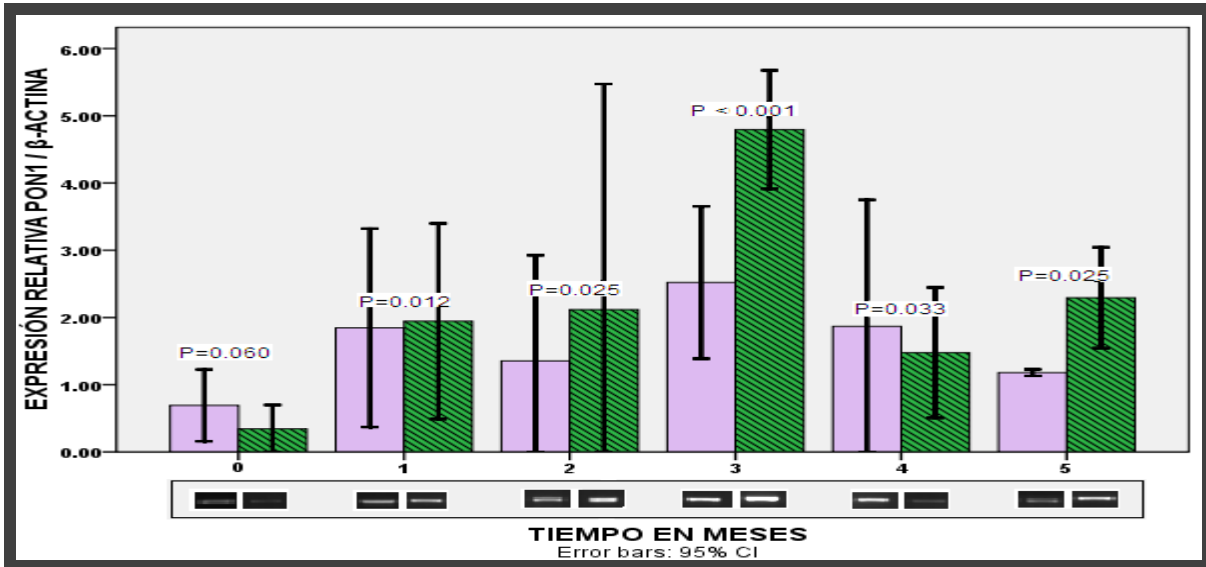


Figura 13. Expresión Relativa PON-1/ β -actina para el grupo Bajo en Proteína (BP) y comparación con el grupo control (C). La expresión relativa fue determinada en tejido hepático en el grupo de ratas con dieta baja en proteína (BP), observando en el mes 3 ($p < 0.001$) siendo el mes con mayor diferencia significativa.

8. DISCUSIÓN

Existen diversos datos que demuestran que la enzima PON1 protege contra la oxidación de las HDL previniendo la aparición de enfermedades cardiovasculares o aterosclerosas (Cole, *et al*, 2003, Ferre, *et al*, 2004, Pérez M, *et al*, 2000, Irace, *et al*, 2008, Tomas, *et al*, 2004; 2007). Así, mismo, se ha demostrado que la actividad de la PON1 disminuye con la presencia de diabetes, con la pronta aparición de complicaciones (Mackness, *et al*, 2004, Beltowski, *et al*, 2002 y Shih, *et al*, 1996), por lo que nosotros esperamos una disminución en la expresión del gen de la PON1. Sin embargo, no se encontraron reportes que corroboren como la expresión de la PON1 está afectada en un modelo animal diabetizado alimentado con diferentes dietas, como las utilizadas en este trabajo.

En resumen en la figura 9, no fue observado un patrón único de expresión del gen de la PON1, es decir, los resultados fueron variables. Lo que significa que la presencia de la diabetes, obesidad y la dieta baja en proteína influyen de manera importante en la expresión del gen de la PON1, esto habla de procesos complejos que provocan cambios fisiológicos y mecanismos moleculares a todos los niveles de regulación y expresión génica, proteínas y metabolismo. Los tratamientos y las dietas empleadas en este estudio ejercieron efectos importantes y significativos en la estimulación de la expresión de la PON1 a través del tiempo. Así con los avances recientes de la nutrigenómica podrían conocerse mejor los mecanismos de expresión ya que incluyen la modulación de genes por nutrimentos principalmente lípidos y proteínas (Corthésy-Theulaz, *et al*, 2005 y Marti, *et al*, 2005).

Los animales diabetizados (Figura 10), presentaron un incremento significativo en la expresión génica de la PON1 en el mes 3 ($p < 0.001$) y en el mes 4 ($p = 0.001$). De acuerdo con el gráfico, la mayor expresión se dio en el tercer mes y fue decayendo hasta no ser significativo en el mes quinto. Esto sugiere que el tratamiento realizado provoca un aumento en la expresión (aunque no temprana), pero que finalmente decae con el transcurso del tiempo. Debido a que el trabajo se diseñó para 5 meses

de seguimiento, no fue posible comprobar esto, pero creemos que la expresión a lo largo del tiempo pudo haber sido similar o disminuida, comparada con el grupo control.

Por otra parte, se ha reportado que ácidos grasos saturados estimulan la expresión de la PON1 (Tomás-Moyá, et al, 2007), esto se comprobó en nuestros estudios, lo comprobamos con el grupo STZ-OB (animales diabetizados y alimentados con una dieta obesigénica) específicamente en los meses 1 y 4 (Figura 11). No obstante, en el tercer mes, se encontró que la expresión fue significativamente menor comparado con el grupo control, probablemente al catabolismo proteico compensatorio. También, se observó que el patrón de expresión fue variable a lo largo del experimento. Esta diferencia se pudo deber a que la dieta rica en grasas que se empleo en este trabajo no fueron las mismas a las empleadas por otros autores en cuanto a nutrimentos y tipos de alimentos en la expresión de diferentes enzimas o proteínas (dietas aterogénicas ricas en ácidos grasos saturados y monoinsaturados según Tomás-Moyá, et al, 2007 y dietas altas en grasas y colesterol según Shih, et al, 1996) nosotros utilizamos manteca de cerdo y mantequilla, alimentos con alto contenido de ácidos grasos saturados y colesterol y en menor proporción ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados que a diferencia de otros estudios realizados utilizaron en mayor cantidad pero no especifican el tipo de alimento utilizado (Shih, et al, 1996, Tomás, et al, 2004 y Tomás-Moyá, et al, 2007). Así que estos resultados sugieren que hay grasas que pueden inducir la expresión pero otras que la inhiben. Sin embargo, otro factor a tomar en cuenta y que difiere de los trabajos reportados, es el efecto combinado de la presencia de diabetes con la dieta obesigénica, por lo que probablemente esta nueva condición tiene repercusión diferente en la expresión como se puede observar el comportamiento de las barras en la figura 11, que si se estudian por separado STZ y OB (Figura10 y Figura 12 respectivamente).

La expresión de la PON1 en un estado obesigénico inducido por la dieta se observa en la figura 12. El grupo obeso (OB) presentó un aumento en la expresión génica de la PON1 en el mes 3 ($p < 0.001$) y en el mes 5 ($p = 0.006$) significativamente mayores que el grupo control. Estudios anteriores refieren que los ácidos grasos saturados contenidos en la dieta, provocan eventos moleculares y son susceptibles al desarrollo de obesidad y transcripciones específicas de las enzimas modulando, así, su expresión génica (Costa, *et al*, 2003, Tomás-Moya, *et al*, 2007). En nuestros resultados, la expresión del a PON1 fue más significativo durante el tercer y quinto mes, no siendo significativo en el cuarto, cabe resaltar que es el único grupo que presentó un aumento significativo en el último mes. Suponemos que estos cambios en la expresión son debidos a la función estimulante que ejercen las grasas contenidas en la dieta a lo largo del tiempo, tal y como lo señalan algunos autores (Shih, *et al*, 1996, Kudchodkar, *et al*, 2000, Moyá, *et al*, 2004 y Cherki, *et al*, 2004).

Finalmente, el grupo con dieta baja en proteína (BP), mostró únicamente mayor expresión de la PON1 en el mes 3 ($p < 0.001$) disminuyendo y no siendo significativo en los últimos meses comparados con el grupo control, como lo muestra la Figura 13. Estudios realizados con dietas bajas en proteína, provocan la expresión de numerosos genes. P. ej., en un estudio en hígado de ratas, se vio afectada la expresión génica del receptor de la Hormona del Crecimiento (RGH) IGF-I y SOCS3 (Proteínas supresoras de la señalización por citocinas). La restricción del consumo de proteína disminuyó los niveles de ARNm del RGH al igual que el número de sitios receptores, pero elevó la transcripción del gen SOCS3 (Umaña, *et al*, 2003). Tal y como se ha demostrado, que ratas alimentadas con una dieta baja en proteína presentan modificación de algunas enzimas y/u hormonas por la disminución en la expresión génica (Ferré, *et al*, 2004) por ejemplo disminuyen la acción de las enzimas de secreción de insulina estimulada por glucosa (SIEG) provocando un desequilibrio en el metabolismo de la glucosa y/o reducción en la expresión del transportador GLUT2 de igual manera expresión disminuida de las cinasas, involucradas en el proceso de secreción de insulina (Marti, *et al*, 2005, y Torres, *et al*,

2007), también inducen la elevación de la hormona paratiroidea según Kerstetter, *et al*, 2000. En nuestro caso, nosotros suponemos que el bajo aporte proteico, provoca la movilización de ácidos grasos (lípidos) para abastecer de energía a la célula, sin embargo como se mencionó, esto a su vez puede estimular la expresión del gen de la PON1, pero debido al gran desorden metabólico que se genera, nuevamente la expresión se ve disminuida especialmente en tiempos prolongados.

9. CONCLUSIONES

Los diferentes tipos de alimentación, modificaron en forma variable la expresión del gen de la PON1. En ningún caso se observó un patrón de expresión con respecto al tiempo de tratamiento.

En general, los cambios importantes de expresión se dieron a partir del tercer mes de tratamiento en todos los grupos.

Los animales diabéticos aumentaron la expresión de la PON1 a través del tiempo, aunque no se sabe que tan efectiva es su actividad enzimática.

Los animales diabéticos (STZ), obesos (OB) y bajos en proteína (BP) fueron los que mayor indujeron la expresión del gen de la PON1, aunque sólo fue en el tercer mes de tratamiento.

Factores ambientales (dieta) modifican a un mas la expresión de la PON1 cuando se combinan con la enfermedad.

Los animales diabéticos-obesos (STZ-OB) fueron los que menor indujeron la expresión de la PON1.

El grupo de animales obesos (OB) mostró aumento en la expresión en el último mes comparado con el resto de los grupos.

La regulación de la expresión génica por nutrimentos (nutrigenómica) es una herramienta de gran importancia para estudiar el mecanismo de acción a nivel molecular de los nutrimentos contenidos en los alimentos y su efecto en la salud.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- American Diabetes Association (ADA). 2010. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes care*. 33(1):62-69.
- Areas-Leyton, L.M. 2003. Beneficio de la dieta hipoproteica y del control farmacológico de la glicemia en la microalbuminuria en los pacientes diabéticos tipo 2. *Tesis monográfica*.1-33.
- Austin-Ward, E.D., Villaseca, G.C. 1998. La terapia génica y sus aplicaciones. *Rev.med Chile*. 126(7). 1-10.
- Aviram, M., Hardak, M., Vaya, J., Mahmood, S., Milo, S., Hoffman, A., Billicke, S., Draganov, D. y Rosenblat, M. 2000. Human serum paraoxonases (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions. *Circulation*. 101: 2510-2517.
- Aviram, M., Rosenblat, M. Bisgaier, C.L., Newton, R.S., Primo-Parmo, S.L. y La Du, B.N. 1998. Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest*. 101 (8):1581-1590.
- Bachmann C, Koletzko B. 2003. Genetic expression and nutrition. *Nestlé nutrition workshop series. Pediatric Program*.
- Beltowski J, Wojcicka G, Jamroz A. 2002. Differential effect of 3-hydroxy- 3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors on plasma paraoxonase 1 activity in the rat. *Pol J Pharmacol*. 54:661-71.
- Beltowski J, Wojcicka G, Jamroz A. 2003. Leptin decreases plasma paraoxonase 1 (PON1) activity and induces oxidative stress: the possible novel mechanism for proatherogenic effect of chronic hyperleptinemia. *Atherosclerosis*. 170:21-9.
- Billecke, S., Draganov, D., Counsell, R., Stetson, P., Watson, C., Hsu, C. y La Du, B.N. 2000. Human serum paraoxonase (pon1) isozymes q and r hydrolyze lactones and cyclic carbonate esters. *Drug Metab Dispos*. 28 (11): 1335-1342.

- Blatter Garin MC, Abbott C, Messmer S, Mackness M, Durrington P, Pometta D. 1994. Quantification of human serum paraoxonase by enzyme-linked immunoassay: population differences in protein concentrations. *Biochem J.* 304:549-54.
- Boichuk, V, A., Kriskovich, J, J.O., Vanina, R, G. y Lujan V, M. 2005. La Diabetes Mellitus un espectro en la enfermedad cardiovascular. *Revis. Posg. Via Cated. Med.* 144:16-20.
- Boveris A., Schreier L. E. 2005. El oxido nítrico (NO) y el monóxido de carbono (CO) en la regulación de la homeostasis celular y del desarrollo de la aterosclerosis. Papel antiaterogénico del Oxido nítrico (NO) sobre las lipoproteínas. *Medicina.* 65(2):29-31.
- Calderón, C.J., Fernández, Z.A. y María de Jesús A.I. 2008. Aterosclerosis, estrés oxidativo y actividad física. *Invest clin.* 49 (3): 397- 410.
- Canales A., Sánchez M. F.J., 2003. Paraoxonasa ¿algo más que una enzima?. *Med Clin.* 121(14):534-548.
- Carrasco de Rodríguez S. Expresión de los genes del receptor de la hormona del crecimiento y del factor del crecimiento similar a la insulina tipo 1 en baja restricción proteica (tesis). Bogotá. Universidad Nacional de Colombia; 2000.
- Casanueva E., Kaufer-Horwitz., Perez-Elizaur A.B. y Arroyo P. 2001. Obesidad. *Nutriología Médica.* 2º Edición.(ed) Medica Panamericana Fundación Mexicana para la salud. México. pp:284-307.
- Cherki, M., Derouiche, A., Drissi, A., El Messal, M., Bamou, Y., Idrissi-Ouadghiri, A., Khalil, A., Adlouni, A. 2004. Consumption of argan oil may have an antiatherogenic effect by improving paraoxonase activities and antioxidant status: Intervention study in healthy men. *Nut. Met. Cardio. Dis.* 10:3-9.
- Cole – Toby, B. · Jampsa- Rachel, L., Walter – Betsy, J., Arndt- Tara, L., Richter- Rebecca, J., Shih- Diana, M., Tward- Aaron., Lusi- Aldons, J., Jack Rhona M., Costa- Lucio, G., Furlong- Clement E. 2003. Expression of human paraoxonase (PON1) during development. *Pharmacogenetics.* 13(6):357-364.

- Conget, I. 2002. Diabetes y enfermedades cardiovasculares(I).Diagnostico, clasificación y patogenia de la diabetes mellitus. *Rev Esp Cardiol.* 55(5):528-535.
- Corella, D., Lai, CQ., Demissie, S., Cupples, LA., Manning, AK., Tucker, KL., Ordovás, JM. 2007. APOA5 gene variation modulates the effects of dietary fat intake on body mass index and obesity risk in the framingham Heart study. *J Mol Med.* 85:119-128.
- Corella, D., Ordovás, JM. 2005. Integration of environment and disease into 'omics' analysis. *Curr opin Mol Ther.* 7: 579-576.
- Corthésy-Theulaz, I., Dunnen, J.T.,Ferre, P., Geurts, J,M., Muller,M.van Belzen,N.,van Ommen,B. 2005. Nutrigenomics: the impact of biomics technology on nutrition research. *Ann. Nutr.Metab.* 49:355-365.
- Costa, L. G., T. B. Cole, G. P. Jarvik, and C. E. Furlong. 2003. Functional genomics of the paraoxonase (PON1) polymorphisms: effects on pesticide sensitivity, cardiovascular disease, and drug metabolism. *Annu. Rev. Med.* 54:371–392
- Cuidados en diabetes, 2008. Estándares y cuidados médicos en diabetes. *American Diabetes Association.* 31:12-54.
- Elliott, R. M., Johnson, I.T. 2007. Nutrigenomic approaches for obesity research. *Obes. Rev.* 8 (1):77-81.
- Asociación Mexicana de Diabetes (AMD) 2008. [www.http://amdiabetes.org.htm](http://amdiabetes.org.htm). Actualización: 22/01/2009. Acceso: 22/01/2009.
- Ferre, N., Camps, J., Prats, E., Vilella,E., Paul,E., Figuera, L. y Joven, J. 2002. Serum Paraoxonase Activity: A New Additional Test for the Improved Evaluation of Chronic Liver Damage. *Clin Chems.* 48(2): 261-268.
- Ferré, N., Camps, J. y Joven J. 2004. Paraoxonasas, acción antioxidante de las HDL y respuesta inflamatoria. *Cardiovascular Risk Factors.* 13 (2): 106-114.

- Figueroa, D., Reynals, E. Diabetes Mellitus. En: Farreras PV, Rozman C. Medicina Interna. Ed. 13º: Madrid. Hacourt Brace. 1998: 2(2):1933-1969.
- Ginsberg HN. 2000. Insulin resistance and cardiovascular disease. *J Clin Invest.* 106: 453-458.
- Goday, A. 2002. Epidemiología de la Diabetes Mellitus y sus complicaciones no coronarias. *Rev Esp Cardiología.* 55: 657-670.
- Golmanesh, L., Mehrani, H. y Tabei, M, 2007. Simple Procedures for purification and stabilization of human serum paraoxonase-1. *J. Biochem. Biophys.* Doi: 10(1016).09.003.
- Gómez, A.A.E. 2007. Nutrigenómica y Nutrigenética. La relación entre las Alimentación, la Salud y la Genómica. *Ámbito Farm. y Nut.* 26(4):78-85.
- Gorostiza, L.A., Gonzalez, M.A., Acunha, L.A., Barquera, L.R. 2008. Técnicas básicas de biología molecular. Curso-taller.
- Gouédard, C., Barouki, R., y More, Y.2004. Dietary Polyphenols Increase Paraoxonase 1 Gene Expression by an Aryl Hydrocarbon Receptor-Dependent Mechanism. *Mol. Cell. Biol.* 24(12):5029-5222.
- Gutiérrez, R.G.J., Meléndez, M.G., Zúñiga, R,A. y Serralde, Z.A. 2006. Genómica Nutricional y Obesidad. *Rev. Endoc. y Nut.* 14(4):247-256.
- Haga, S.B, Khoury, MJ, Burke, W. 2003. Genomic profiling to promote a healthy lifestyle: not ready for prime time. *Nat Genet.* 34: 347-350.
- Haslam, D.W., James W.P. 2005. Obesity. *Lancet.* 366:1197-1209.
- Hedrick CC, Hassan K, Hough GP, Yoo JH, Simzar S, Quinto CR. 2000. Short-term feeding of atherogenic diet to mice results in reduction of HDL and paraoxonase that may be mediated by an immune mechanism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 20:1946-52.
- Hegele, R.A., Connelly, P.V., Scherer, S.W., Hanley, AJG., Harris, S.B., Tsui, L.C. y Zinman B. 1997. Paraoxonase 2 gene(PON2) G147 variant associated with fasting plasma glucose in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol Metab.* 82:3373-3377.

- Hernández, J.S. 2004 .Fisiopatología de la obesidad. *Gac Med. México.* 140(2):27-32.
- Horacio, C.E., Houssay, A.B., y Chiappe de Ciangolani., G. 2000. Metabolismo de las proteínas. *Fisiología humana. 7ª Edición.* (ed) El Ateneo. Argentina. pp: 523-533.
- Hedrick CC, Thorpe SR, Fu MX, Harper CM, Yoo J, Kim SM. 2000. Glycation impairs high-density lipoprotein function. *Diabetologia.* 43:312-320.
- Irace, C., Cortese, C., Fiaschi, E., Scavelli, F., Liberastocioli, L., Federici, G., y Gnasso, A.. 2008. The influence of PON1 192 Polymorphism on Endotelial Fuction in Diabetic Subjects with or without Hypertension. *Hypertens Res.* 31(3):507-513.
- Kaleem, M., Asif, M., Ahmed, Q.U. y Bano, B. 2006. Antidiabetic and Antioxidant activity of Annona squamosa extract in streptozotocina-induced diabetic rats. *Singapore Med Journal.* 47(8):670-675.
- Kelso GJ, Stuart WD, Richter RJ, Furlong CE, Jordan-Starck TC, Harmony JA. 1994. Apolipoprotein J is associated with paraoxonase in human plasma. *Biochemistry.* 33:832-9.
- Kerstetter, J.E., Svastisalee, C.M., Caseria, D.M., Mitnick, M. E., y Insogna, K. 2000. A threshold for low-protein-diet–induced elevations in parathyroid Hormone. *Am J Clin Nutr.* 72:168–73.
- Kudchodkar B. J., Lacko A, G., Ladislav D., y Fungwe T. V. 2000. Dietary Fat Modulates Serum Paraoxonase 1 Activity in Rats. *Jou. Of Nutr.* 2427-2433.
- Lau, F.C., Bagchi, M., Sen, Ch., Roy, Shaswati y Bagchi, D. 2008. Nutrigenomic Analysis of Diet-Gene Interactions on Functional Supplements for Weight Management.08:1389-2029.
- Leviev, I., James R.W. 2000. Promoter polymorphisms of human paraoxonase PON1 gen and serum paraoxonase activities and concentrations. *Arterioscler Thromb Vasc biol.* 20: 516-521.

- Mackness B, Mackness MI, Arrol S, Turkie W, Julier K, Abuasha B, 1998. Serum paraoxonase (PON1) 55 AND 192 polymorphism and paraoxonase activity and concentration in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis*. 139:341-9.
- Mackness B, Mackness MI, Durrington PN, Arrol S, Evans AE, McMaster D. 2000. Paraoxonase activity in two healthy populations with differing rates of coronary heart disease. *Eur J Clin Invest*. 30:4-10
- Mackness MI, Mackness B, Durrington PN, Connelly PW, Hegele RA.1996. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Curr Opin Lipidol*. 7:69-76.
- Mackness MI, Peuchant E, Dumon MF, Walker CH, Clerc M.1989. Absence of «A»-esterase activity in the serum of a patient with Tangier disease. *Clin Biochem*. 22:475-8.
- Mackness MI, Walker C.H, Carlson L.A.1987. Low A-esterase activity in serum of patients with fish-eye disease. *Clin Chem*. 33:587-8.
- Mackness MI. 2002. Possible medical significance of human serum paraoxonase. *En: Reiner E, Aldridge WN, Hoskin FC, editors. Enzymes hydrolysing organophosphorus compounds. UK: Ellis-Horwood*. 202-13.
- Mackness, B., Davies, G., Turkie, W., Lee, E., Roberts, H., Hill, E., Robertos, C., Durrington, P, y Mackness, M. 2001. Paraoxonase status in coronary heart disease are activity and concentration more important than genotype. *Atheroscler Thromb. Vasc Biol*. 21: 1451-1457.
- Mackness, M.I, y Durrington, P.M. 2005. HDL, its enzymes and its potential to influence lipid peroxidation. *Atherosclerosis*. 115 (2): 243-253.
- Marti, A., Moreno-Aliaga, M.^a J., Zulet M.^a A y Martínez, J. A. 2005. Avances en nutrición molecular: nutrigenómica y/o nutrigenética. *Nutr. Hosp*. 20(3). 157-164.
- Martínez, G.J., Llorente, C.V., Vadimon L. 2001. Biología celular y molecular de las lesiones ateroscleróticas. *Rev Esp Cardiol*. 54: 218 – 231.

- Morgan, L.S., Weinsier, L.R., Enfermedades de la sociedad moderna con relaciones nutricionales. En: *Nutrición clínica*. 2da. Edición. (ed) Harcourt. Madrid, España. pp: 14-41
- Muller M, y Kersten S. 2003. Nutrigenomics: goals and strategies. *Nat Rev Genet*. 4: 315-322.
- Nus, M., Sanchez-Muñiz, F.J., Sanchez- Montero, J.M. 2008. Arilesterasa. Aspectos metodológicos y funcionales de una enzima clave en la enfermedad cardiovascular. *An. R. Acad. Nac. Farm.* 74(1): 5-27
- Olaiz-Fernández G, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Rojas R, Villalpando-Hernández S, Hernández-Avila M, Sepúlveda-Amor J. 2006. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública. 1ª Edición. pp:11-121.
- Ordovás, J.M y Carmena, R. 2003. Nutrigenética. *Serv Endoc y Nut.* 1-17.
- Organización Panamericana de la Salud (OPS). 2008. Guías ALAD de diagnóstico, control y tratamiento de Diabetes Mellitus tipo 2. Cap. 2. Clasificación de la diabetes mellitus tipo 2. Washington, D.C.01-80.
- Pacheco, L.D., Yáñez, A.R., Fuentes, T.A., Guzmán, N.J., Vega, S.LI., Casanueva, E., Suárez, R.JT., Lara, P.E., Tejero, E. 2000. Ácidos nucleicos y biosíntesis de proteínas. 2da. Edición. Ed. Tresguerres. Bioquímica estructural y aplicada a la medicina. México D.F. pp:506-541.
- Passarge E. 2001. Genética texto y atlas. Flujo de la información genética: Transcripción y traducción. 2da edición. Ed. Médica Panamericana. México, D.F. 44-51.
- Pégrier J-P, Le May C, Girard J. 2004. Control of gene expression by fatty acids. *The Journal of Nutrition*: 2444S-2449S.
- Pérez-Méndez, O., Geral, L., Posados-Romero, C., 2000. Concentraciones Bajas de Lipoproteínas de alta densidad (HDL) en plasma y enfermedad arterial coronaria. *Arch Inst Cardiol.* 70: 312-321.
- polyphenols. *J. Nutr.* 130:2073–2085.

- Primo-Parmo S. L., Sorenson, R.C., Teiber, J., La Du B.N. 1996. The Human Serum Paraoxonase/Arylesterase Gene (*PON1*) Is One Member of a Multigene Family. *Genomics*.0225(33):498-507.
- Quiroz M, A. 2003. Control de la aterosclerosis en la diabetes mellitus. *Archi.Card. México*. 73(1):1-4.
- Rang, H.P, y Dale M.M. Quimioterapia anticancerígenos. 1992. *Farmacología*. 2da. Edición. (ed) Crurchill Livongstone. Madrid España.583-584.
- Reddy ST, Wadleigh DJ, Grijalva V, Ng C, Hama S, Gangopadhyay A. 2001. Human paraoxonase-3 is an HDL-associated enzyme with biological activity similar to paraoxonase-1 protein but is not regulated by oxidized lipids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 21:542-547.
- Richards, F.M. 1991. Plegamiento de las proteínas. *Inv. y Ciencia*. 174: 26-34.
- Rodríguez, E.F., Hernández, T.Y., Macías, R.A., Hernández, O.E., Medina A, y Rodríguez, P.J C., 2006. Sobre los genes paraoxonasa-1 y SR-B1, y su importancia en la aterosclerosis. *Rev Esp Cardiol*. 59(2):154-164.
- Rui-Liangyou. 2007. A link between protein translation and body weight. *J.Clin.Invest*. 117(2):310-313.
- Sampath H, Ntambi J. 2005. Polyunsaturated fatty acid regulation of genes of lipid metabolism. *Annual Reviews of Nutrition*. 25:317-340.
- Sánchez-Recalde, A. y Kaski, J.C.2001. Diabetes mellitus, inflamación y aterosclerosis coronaria: perspectiva actual y futura. *Rev Esp Cardiol*. 54 (6) 751 – 763.
- Scalbert, A., y G. Williamson. 2000. Dietary intake and bioavailability of
- Secchiero, S., Mussap, M., Zaninotto, M., Bertorelle, R, y Burlina A. 1989. Serum arylesterasa (paraoxonase)activity following myocardial infarction. *Elseiver Science Publishers B.V*.183.71-76.
- Sentí M, Tomás M, Fitó M, Weinbrenner T, Covas MI, Sala J, 2003. Antioxidant paraoxonase 1 activity in the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 88:5422-6.

- Sentí, M., Tomas, M., Elosua, R, y Marrugat, J. 2000. Interrelationship of serum paraoxonase activity and paraoxonase genetic variants on atherosclerosis risk. *Contributions to science*. 1(3):323-329.
- Shih, D. M., Gu-Lingjie., Hama, S., Yu-Rong, X., Navab, M., Fogelman, A. M., y Lusa A. J. 1996. Genetic-Dietary Regulation of Serum Paraoxonase Expression and Its Role in Atherogenesis in a Mouse Model. *J.Clin. Invest.* 97(7): 1630-1639.
- Shih, D.M., Gu L., Xia Y.R, Navab, M., Li, W.F. y Hama, S. 1998. Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis. *Nature*. 364:284-287.
- Simopoulos A, Ordovas J. 2004. Nutrigenetics and nutrigenomics. *World Review of Nutrition and Dietetics*; 93: 41-76; 99-133.
- Sumegová, K., Nagyová, Z., Waczuliková, I., Zitnanová, I., y Duracková, Z. 2007. Activity of paraoxonase 1 and lipid profile in healthy children. *Physiol Res*. 56: 351-357.
- Tomas M, Senti M, Garcia-Faria F, Vila J, Torrents A, Covas M. 2000. Effect of simvastatin therapy on paraoxonase activity and related lipoproteins in familial hypercholesterolemic patients. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 20:2113-9.
- Tomas, M., Latorre, G., Senti, M., Marrugat, J. 2004. Función antioxidante de las lipoproteínas de alta densidad: un nuevo paradigma en la aterosclerosis. *Rev Esp Cardiol*. 57:557-69.
- Tomas-Moya, E., Gianotti, M., Proenza, A.M., Y Llado, I. 2007. Paraoxonase 1 Response to a High-Fat Diet: Gender Differences in the factors involved. *Mol Med*. 13 (3-4):203-209.
- Torres, T.N., y Tovar, P., A.R. 2007. Descubrimiento del mecanismo de acción a nivel molecular de la proteína de soya. Premio Nacional en Ciencias de los Alimentos.1-12.
- Trayhurn, P. 2003. Nutritional genomics: 'nutrigenomics'. *Br J Nutr*. 89:1-2.

- Umaña, A., Carrasco, S., Sánchez, M. 2003. Papel de la Proteína Supresora de la Señalización por Citocinas-3 (SOCS 3) en la resistencia a la Hormona del crecimiento inducida por malnutrición. *Biomédica*. 23: 201-208.
- Uriarte B.V, y Trejo S.S., Flores C. Oncolíticos VIII. *Farmacología Clínica*. Edición Trillas. (ed)1ª. México D.F.572.
- Van Ommen, B., Stierum, R. 2002. Nutrigenomics: exploiting systems biology in the nutrition and health arena. *Curr Opin Biotechnol*; 13: 517 -521.
- Van-Lenten BJ, Wagner AC, Navab M, Fogelman AM. 2001. Oxidized phospholipids induce changes in hepatic paraoxonase and ApoJ but not monocyte chemoattractant protein-1 via interleukin-6. *J Biol Chem* 276:1923-1929.
- Villa, R.A., Escobedo, H.M., Mendez, N.A. 2004. Estimación y proyección de la prevalencia de obesidad en México a través de la mortalidad por enfermedades asociadas. *Gac Méd Méx*.140(2):21-26
- Wang, Y., Beydoun, M.A. 2007. The Obesity Epidemic in the United States- Gender, Age, Socioeconomic, Racial/Ethnic, and Geographic Characteristics: A Systematic Review and Meta-Regression Analysis. *Epidemiol. Rev.*29:6-28.
- Weinbrenner T, Cladellas M, Isabel CM, Fitó M, Tomás M, Sentí M. 2003. High oxidative stress in patients with stable coronary heart disease. *Atherosclerosis*. 168:99-106.
- [www.http.salud.gob.mx](http://www.salud.gob.mx) Actualización: 01/06/2008. Acceso: 25/03/2009.
- [www.http://insp.mx/ensanut/2006](http://insp.mx/ensanut/2006) Actualización: 24/01/2009. Acceso:27/04/2009.
- [www.http://med.unne.edu.er/catedras/bioquimica/expresion genetica.htm](http://med.unne.edu.er/catedras/bioquimica/expresion_genetica.htm). Actualización: 30/04/2008. Acceso: 28/08/2008.
- [www.http://scielosp.org/regulacion de la expresion genetica.htm](http://scielosp.org/regulacion_de_la_expresion_genetica.htm). Actualización: 9/09/2008. Acceso: 26/09/2008.
- [www.http://Trast.metab](http://Trast.metab) El Síndrome metabólico, la enfermedad del siglo XXI. htm Actualización: 18/06/2009. Acceso:04/08/2009.