



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA**

**EL POLIMORFISMO -173 G/C DEL FACTOR INHIBIDOR DE LA MIGRACIÓN DE MACRÓFAGOS
Y EL RIESGO A DESARROLLAR DIABETES MELLITUS EN UNA POBLACIÓN MEXICANA**

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE BIÓLOGO
PRESENTA

Pablo Francisco Moreno Salcedo

DIRECTORA DE TESIS
Dra. Miriam Rodríguez Sosa





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A MI FAMILIA POR TODO EL APOYO QUE ME HAN DADO SIEMPRE; GRACIAS POR NUNCA DEJAR
QUE ME FALTE NADA Y ENSEÑARME A SEGUIR ADELANTE SIEMPRE.

A RODRIGO, LAMB, ABE, RAÚL, RENÉ, POR ESCUCHARME TODOS ESTOS AÑOS, AUNQUE SÉ QUE
LA MAYORÍA DE LAS VECES NO ME ENTENDÍAN NADA.

A VALERIA POR MOTIVARME A ACABAR Y A NO BAJAR LA MARCHA YA EN LA RECTA FINAL.

AUT VIAM INVENIAM AUT FACIAM

AGRADECIMIENTOS

Al Doctor Rafael Jiménez del laboratorio 9 de la Unidad de Morfo Fisiología (UMF) de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala por brindarme las muestras sin las cuales este trabajo no habría sido posible.

Al Doctor Miguel Murguía del laboratorio 7 de la Unidad de Biomedicina (UBIMED) de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, por ayudarme a complementar las bases de datos para poder interpretar mis resultados.

A Gen.TEC por las muestras sanguíneas proporcionadas, sin las cuales no habría concluido esta tesis.

Este trabajo fue realizado en el laboratorio 5, “Inmunidad Innata”, en la Unidad de Biomedicina (UBIMED). Y fue parcialmente financiado por: Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la Dirección General de Asuntos Académicos (DGAPA), No. de proyecto IN212412, y por el Consejo Nacional de Ciencia y tecnología (CONACyT), No. de proyecto 152224.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS	v
ABREVIATURAS.....	vi
RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	3
1.1 Generalidades de la diabetes mellitus.....	3
1.2 Clasificación de la diabetes	4
1.3 Daños en órganos debidos a la Diabetes Mellitus	7
1.3.1 Mecanismos de los daños ocasionados por la hiperglicemia.	7
a) Aumento del flujo en la vía de los polioles	8
b) Aumento del producto final de la glicación avanzada	8
c) Ativación de la proteín-cinasa C.....	9
d) Aumento del flujo de la vía de las hexoaminas	10
1.4 Diagnóstico de diabetes mellitus	11
1.4.1 Pruebas de detección	11
1.5 Marcadores biológicos	13
1.6 Genética de MIF	16
1.7 Polimorfismos en la secuencia del DNA.....	16
1.7.1 Polimorfismos de MIF	17
1.8 Diabetes en México.....	19
2 JUSTIFICACIÓN.....	20
3 OBJETIVOS.....	21
3.1 Objetivo general.....	21
3.2 Objetivos particulares	21
4 MATERIALES Y MÉTODOS.....	22
4.1 Selección de la población.....	22
4.2 Muestras sanguíneas para la determinación de citocinas.....	22
4.3 Ensayo de ELISA.....	22
4.4 Extracción de DNA de sangre.....	23

4.5	Purificación y concentración de DNA por medio de Fenol-Cloroformo.....	24
4.6	Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).	24
4.7	Determinación del polimorfismo -173 G/C (<i>sr755622</i>).....	24
4.8	Análisis estadístico.	25
5	RESULTADOS	26
5.1	Población.....	26
5.2	Relación de la concentración de citocinas por medio de ELISA con la concentración de glucosa.....	26
5.3	Relación de la concentración de glucosa en sangre con los parámetros alterados de síndrome metabólico	28
5.4	Polimorfismo -173G/C (<i>sr755622</i>)	32
6	DISCUSIÓN.....	35
7	CONCLUSIONES	37
8	Apéndice.....	38
8.1	Soluciones	38
9	ANEXO 1	40
9.1	Tablas de Población.....	40
10	REFERENCIAS.....	61

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. GLUCOSA/INSULINA EN LA DIABETES MELLITUS TIPO 1 Y TIPO 2.....	4
TABLA 2. DIFERENTES TIPOS DE DIABETES.....	6
FIGURA 1: EFECTOS DE PKC EN LA DM.....	10
TABLA 3. DIFERENTES POLIMORFISMOS DETECTADOS EN EL GEN QUE CODIFICA PARA MIF.....	17
Tabla 4. Secuencia y ubicación del SNP -173 G/C, <i>rs755622</i> , dentro del promotor de <i>MIF</i>	18
FIGURA 2: UBICACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS DEL PROMOTOR DE MIF Y LOS SITIOS DE CORTE DE ALU 1 Y LOS PRODUCTOS QUE SE OBTIENEN EN LA ELECTROFORESIS.....	25
FIGURA 3: RELACIÓN ENTRE TNF- α , IL-6 y MIF con la concentración de glucosa en mujeres y hombres.....	27
FIGURA 4: INDIVIDUOS CON GLUCOSAS POR DEBAJO DE LOS PARÁMETROS NORMALES Y CONCENTRACIONES ELEVADAS DE MIF	27
FIGURA 5: CORRELACIÓN DE PARÁMETROS DE SM ALTERADOS CON LAS CITOCINAS ANALIZADAS EN ESTE ESTUDIO.....	28
FIGURA 6: PORCENTAJES DE PARÁMETROS DE SM ALTERADOS EN LA POBLACIÓN DE HOMBRES Y MUJERES.....	29
FIGURA 7: POBLACIÓN Y PORCENTAJES DE PARÁMETROS ALTERADOS DENTRO DE LA MISMA CON MIF ELEVADO.....	30
FIGURA 8: CONCENTRACIONES DE MIF CON RESPECTO A OTROS PARÁMETROS DE SM.....	32
FIGURA 9: PCR DE PROMOTOR DE MIF CON POLIMORFISMO Y SIN ÉL.....	34
TABLA 5: SE MUESTRAN LOS RESULTADOS DE LOS PCRS BUSCANDO EL POLIMORFISMO -173 G/C.....	34
FIGURA 10: SECUENCIAS DE DNA EN PRESENCIA DEL POLMORFISMO -173 G/C Y EN AUSENCIA DEL MISMO.....	35

ABREVIATURAS

SM	Síndrome Metabólico
DM	Diabetes melitus
MIF	Factor Inhibidor de Migración de Macrófagos (por sus siglas en inglés)
TNF	Factor de necrosis tumoral
IL	Interleucina
NO	Óxido Nítrico
VEGF	Factor de crecimiento vascular endotelial
TGF	Del inglés, tranforming growth factor
AGE	Productos de la glicación avanzada
RAGEs	Receptores de AGEs
PKC	Proteín-cinasa C
GFAT	Glutamina:Fructuosa-6-fosfato amidotransferasa
Pb	Pares de bases
kDa	Kilo daltones
NF	Factor Nuclear
cAMP	Monofosfato Cíclico
STZ	Estreptozotocina
ARN	Ácido Ribonucleico
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido
ADN	Ácido Desoxiribonucleico
NCBI	Centro Nacional para la Información en Biotecnología
TB	Tuberculosis
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social

RESUMEN

El síndrome metabólico (SM) es un desorden clínico caracterizado por obesidad, desorden en el metabolismo de la glucosa, dislipidemia e hipertensión, lo que incrementa el riesgo cardiovascular y/o el desarrollo de la diabetes mellitus tipo 2 (DM2). El factor inhibidor de la migración de macrófagos (MIF) es una citocina pro-inflamatoria producida por células de la respuesta inmune innata y adipocitos. MIF ha sido reconocido como una molécula determinante en enfermedades inflamatorias y cardiovasculares. El objetivo de este trabajo fue estudiar en una población de jóvenes mexicanos, representados por estudiantes de nuevo ingreso a la Universidad, la expresión en suero de MIF y de las citocinas inflamatorias IL-6 y TNF- α y relacionarlas con la presencia de 0, 1, 2, 3 ó 4 parámetros de SM. También se determinó en algunas muestras el polimorfismo -173 G/C del promotor de MIF para explorar si está relacionarlo con el SM y riesgo a desarrollar DM2. El estudio se realizó en 510 estudiantes de la Facultad de Estudios Superiores, Iztacala (FES-I), 197 hombres (H) y 312 mujeres (M) entre 17-24 años de edad. Los resultados demostraron que: 10 H y 10 M presentaron 4 parámetros de SM, 38 H y 23 M, 3 parámetros; 35 H y 65 M, 2 parámetros; 54 H y 67 M, un parámetro de SM y 208 sujetos 0 parámetros (sanos 40.5%). Los niveles de MIF en suero fueron más altos en sujetos que presentaron niveles de glucosa por arriba de 100 mg/dl, comparados con los sujetos sanos (media \pm SEM, 1168.0 pg/ml \pm 69.19 vs. 373.8 pg/ml \pm 9.174, $p = 0.0001$). 311 sujetos, 122 hombres y 189 mujeres, presentaron niveles de glucosa normal, pero MIF alto, los niveles fueron significativamente más altos en hombres que en mujeres (1192.0 pg/ml \pm 59.70 H vs. 1066.0 pg/ml \pm 41.99 M, $p = 0.032$), además en estos sujetos se detectaron hasta 3 parámetros alterados de SM. Por otro lado, no encontramos una relación clara entre el polimorfismo -173 G/C con algún parámetro indicativo de SM, con o sin antecedentes de diabetes, pero la muestra estudiada fue pequeña, por lo que para establecer una posible relación habrá que incrementar la muestra. Con estos resultados podemos concluir que las concentraciones incrementadas de MIF y de las citocinas inflamatorias IL-6 y TNF- α en suero estuvieron claramente presentes en los individuos que tuvieron niveles de glucosa capilar por arriba de 100 mg/dl, pero sólo altos niveles de MIF fueron detectados en

sujetos que presentaron desde 1 parámetro de SM. En conjunto estos datos, refuerzan la idea de que MIF podría ser útil como uno de los marcadores tempranos que preceden el desarrollo de la DM2. Además, la presencia de MIF junto con las citocinas inflamatorias IL-6 y TNF- α podrían contribuir a la patogénesis del SM y/o al desarrollo de enfermedades relacionadas con el SM, como la arterosclerosis y DM2.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Generalidades de la diabetes mellitus.

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad con trastornos propiciados y caracterizados por concentraciones elevadas de glucosa en sangre (hiperglucemia) por defectos en la secreción de insulina, la acción de la misma, o ambos. Cuando se presenta hiperglucemia por tiempos prolongados, se generan problemas como fallos renales, problemas oculares, problemas cardiacos, entre otros [1]. Los factores de riesgo que pueden llevar al desarrollo de la DM más importantes son de carácter genético, pero el sobre peso y la obesidad, que se asocian con la inactividad física y alimentación inadecuada son determinantes para desarrollar la enfermedad [2].

La DM puede presentar un lapso asintomático muy variable, en el cual se pueden presentar anormalidades en los niveles de carbohidratos, además de que los grados de hiperglucemia también pueden cambiar a lo largo de la enfermedad (Tabla 1) e incluso puede haber diferentes procesos metabólicos a lo largo de la enfermedad en los cuales no hay presencia de hiperglucemia [1].

Actualmente, la DM se ha colocado como una de las enfermedades más prevalentes a nivel mundial, pues en las últimas 3 décadas se ha experimentado un incremento explosivo alcanzando proporciones epidémicas. Se estima que existen en el mundo 170 millones de personas afectadas por la DM, pudiendo duplicarse para el año 2030 [3]. Los cambios pronunciados en el ambiente, la disponibilidad de la comida y el estilo de vida han resultado en mayores índices de obesidad y en consecuencia de DM [1].

Su evolución es silenciosa, progresiva e irreversible (aunque en algunos casos pueden bajar los niveles de glucosa pero el daño en páncreas permanece), que requiere de un manejo con perspectiva dinámica y estructurada con enfoque en el paciente para su prevención, control a largo plazo y rehabilitación [4].

La destrucción de las células beta tiene orígenes genéticos y algunos factores ambientales, los cuales no se han podido demostrar del todo. En este tipo de diabetes la obesidad no es característica, además los pacientes son susceptibles a otras enfermedades autoinmunes, tales como enfermedad de Graves, enfermedad de Addison, vitíligo, y hepatitis autoinmune [1]. Debido a la destrucción de las células beta del páncreas, los pacientes tienen deficiencia de insulina y la requieren de manera exógena para sobrevivir.

Diabetes tipo 2. Es la más común, con aproximadamente el 90-95% de los casos con diagnóstico de DM a nivel mundial, es caracterizada por resistencia a la acción de la insulina, aunque en etapas crónicas puede haber una secreción anormal de insulina. Sin embargo, los pacientes no son dependientes de insulina. En este tipo de diabetes, no hay destrucción de las células beta del páncreas, como en la diabetes tipo 1.

Contrario a la diabetes tipo 1, los pacientes con diabetes tipo 2 presentan obesidad, la cual por sí misma ocasiona deficiencia de insulina, los pacientes rara vez presentan cetoacidosis, y cuando está presente se debe a alguna infección particular del páncreas, más que a causa de la diabetes tipo 2 [1]. Este tipo de diabetes raramente es detectada a tiempo, ya que la hiperglucemia es progresiva a lo largo de varios años, y las primeras etapas pasan desapercibidas.

Además de estos dos tipos de diabetes claramente reconocidos, hay otros, los cuales presentan características más específicas y complejas, como se describe en la tabla 2.

Diabetes tipo 1: destrucción de células beta, usualmente llevando a una deficiencia total de insulina.

- A) Mediada inmunológicamente
- B) Idiopática

Diabetes tipo 2: Desde deficiencia en la secreción de insulina hasta un defecto total en la secreción de insulina.

Otros tipos específicos.

- A) Defectos genéticos de las células beta,** usualmente referida como hereditaria.
 1. Cromosoma 12, HNF-1 alfa (Diabetes del joven de inicio en la madurez (MODY)3)
 2. Cromosoma 7, glucoquiasa (MODY2)
 3. Cromosoma 20, HFN-4 alfa (MODY1)
 4. Cromosoma 13,Factor promotor de insulina (IPF-1; MODY4)
 5. Cromosoma 17, HNF-1 beta (MODY5)
 6. Cromosoma 2, Neuro DI (MODY6)
 7. DNA Mitocondrial
- B) Defectos genéticos en la acción de la insulina.** Algunos casos de diabetes se deben a anomalías genéticas en la acción de la insulina causada por las mutaciones del receptor de la insulina. Algunos individuos con estas mutaciones pueden presentar acantosis nigricans. Mujeres pueden presentar grandes quistes ováricos. El síndrome de Rabson-Mendenhall es un síntoma en niños que muestra que el gen del receptor de la insulina no funciona de manera correcta. Otras anomalías están relacionadas con la señal de transducción pos receptor, tales como la diabetes lipotrópica resistente a insulina
 1. Resistencia a la insulina tipo A
 2. Síndrome de Rabson-Mendenhall
 3. Diabetes lipoatrópica
- C) Enfermedades del páncreas exocrino.** Procesos que lastimen al páncreas pueden causar diabetes. Procesos adquiridos tales como pancreatitis, traumas, infecciones, cáncer de páncreas.
- D) Endocrinopatías.** Patologías con cantidades excesivas de hormonas que antagonizan la secreción de insulina, tales como cortisol, glucagon, epinefrina, pueden causar diabetes
- E) Diabetes inducida por químicos o medicamentos.** Muchos medicamentos como los glucocorticoides pueden interferir con la homeostasis de la glucosa, este tipo de medicamentos no produce directamente la diabetes pero puede acelerar el proceso de formación.
- F) Infecciones.** La rubeola congénita, cytomegalovirus, entre otros se han visto implicados induciendo diabetes.
- G) Síndromes genéticos, se han asociado con diabetes.** Muchos síndromes de este tipo vienen acompañados con alta incidencia de diabetes. Entre ellos incluyen anomalías cromosómicas, tales como síndrome de Down, Klinefelter, Prader-Wili y el de Turner, también el síndrome de Wolfram, que es un desorden autosómico recesivo caracterizado por ausencia de las células beta, además de diabetes por ausencia de insulina.

Diabetes gestacional. GDM (por sus siglas en inglés) se define como cualquier grado de intolerancia a la glucosa durante la gestación.

Tabla 2. Diferentes tipos de diabetes [5]

1.3 Daños en órganos debidos a la Diabetes Mellitus

Todos los tipos de diabetes están caracterizados por la hiperglicemia crónica y el desarrollo de daño vascular en distintas partes del cuerpo, lo cual ocasiona alteraciones en órganos, por ejemplo en retina (pudiendo ocasionar ceguera), en los glomérulos de los riñones (pudiendo ocasionar insuficiencia renal) y en los nervios periféricos (neuropatía).

La diabetes mellitus también está relacionada con daños en arterias y en consecuencia daño a corazón, cerebro y extremidades inferiores, incrementando el riesgo a infartos cardiacos, cerebrales y amputación de las extremidades.

Los problemas en retina, glomérulos y nervios debidos a la diabetes mellitus tienen un origen similar. En los primeros estadios de la diabetes el torrente sanguíneo se vuelve irregular. Esto se refleja en la actividad disminuida de vaso-dilatadores como el óxido nítrico (NO), al contrario de los vaso-constrictores como la angiotensina-II y la endotelina-I, los cuales tienen gran actividad; además de la síntesis de factores de permeabilidad tales como el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF). Con el tiempo, la pérdida por apoptosis de células en los vasos nuevos, y la oclusión de los capilares debido al crecimiento desmedido de la matriz extracelular inducida por factores de crecimiento tales como TGF- β , llevan a daños tales como edemas, isquemia, neovascularización inducida por hipoxia en la retina; proteinuria, expansión de la matriz mesangial y glomeruloesclerosis en el riñón y degeneración multifocal en los axones de las neuronas periféricas [6].

1.3.1 Mecanismos de los daños ocasionados por la hiperglicemia.

Existen cuatro teorías del cómo es que las altas concentraciones de glucosa en sangre ocasionan los daños en órganos:

- a) Aumento del flujo en la vía de los polioles
- b) Aumento del producto final de la glicación avanzada
- c) Activación de la proteína-quinasa C
- d) Aumento del flujo de la vía de las hexoaminas

a) Aumento del flujo en la vía de los polioles

La aldosa reductasa es la primera enzima en la vía de los polioles, es una oxidoreductasa monomérica que cataliza la reducción dependiente de NADPH de una amplia gama de carbonos carbonilados, incluyendo a la glucosa [7]. Esta enzima tiene una baja afinidad por la glucosa, y en pacientes con concentraciones normales de glucosa, no diabéticos, el metabolismo de la glucosa por esta vía es mínimo. Pero en un ambiente con hiperglicemia, la glucosa intracelular resulta en una conversión enzimática elevada a polialcohol sorbitol, lo que lleva a la disminución del NADPH. En esta vía el sorbitol es oxidado a fructuosa gracias a la acción de sorbitol deshidrogenasa con el NAD⁺ reducido a NADPH, el flujo de esta vía durante la hiperglucemia varía del 33% del uso total de glucosa, en conejos, al 11% en eritrocitos humanos, debido a contribución de esta ruta en las complicaciones diabéticas, puede variar mucho en el sitio de acción, y de la especie [6].

Diferentes estudios *in vivo* han dejado resultados confusos, ya que la inhibición de la aldosa reductasa previno la neuropatía, pero no se logró lo mismo con la nefropatía, ni con la retinopatía [8], incluso se ha cuestionado la relevancia de esta ruta en los humanos [9], sin embargo hay un efecto positivo de la inhibición de la aldosa reductasa en neuropatía diabética en humanos, con tratamiento riguroso [10].

b) Aumento del producto final de la glicación avanzada

Los productos finales de la glicación avanzada (AGE) se encuentran en los vasos de la retina [11], y en los glomérulos en el riñón [12]. Se creía que se originaba de la interacción extracelular de las proteínas y la glucosa (libre de enzimas). Pero el radio de generación de esta forma es mucho más lento que por productos derivados dentro de la célula, ahora se cree que la hiperglicemia intracelular es la que inicia la producción de AGEs, tanto intra como extracelular [13]. Los AGEs se pueden originar 3 formas; por la auto-oxidación intracelular de la glucosa a glyoxal [14], la descomposición de los productos de Amadori (1-amino-1-deoxifruktuosa derivada de la glucosa) a 3-deoxiglucosona y la fragmentación del gliceraldehido-3-fosfato y la fosfato dihidroxiacetona en metilglyoxal [15].

La importancia de los AGEs en la patogénesis de las complicaciones diabéticas se ha observado en modelos animales, colocando inhibidores de AGEs, pudiendo prevenir la

manifestación de complicaciones en los vasos sanguíneos, en la retinopatía, nefropatía, y neuropatía [16-18]. La producción intracelular de los precursores de AGEs daña a las células diana mediante tres mecanismos.

- I. Las proteínas intracelulares modificadas por AGEs tienen su función alterada.
- II. Componentes modificados de la matriz extracelular por los precursores de AGEs, interactúan de manera anormal con otros componentes, y con las integrinas de las células.
- III. Proteínas plasmáticas modificadas por los precursores de AGEs se unen a los receptores de AGEs (RAGEs) en las células epiteliales, células mesangiales y macrófagos, induciendo la producción de reactivos de oxígeno. Este ligamiento de RAGEs activa la transcripción pleiotrópica del factor NF- κ B, causando cambios patológicos en la expresión de los genes [6].

En células endoteliales expuestas a altas concentraciones de glucosa, la producción de AGEs intracelular ocurre en aproximadamente una semana [6]. En cultivos celulares, se ha identificado que los RAGEs podrían mediar a largo plazo los efectos de los AGEs en las células clave en las complicaciones producidas por la diabetes, tales como macrófagos, glomérulos y células vasculares esto influye en la expresión de citocinas y factores de crecimiento (IL-1, IGF-1, TNF- α , TGF- β , CSF-1) y la expresión de moléculas pro-inflamatorias y pro-coagulatorias (TM, VCAM-1) [6]. Además uniendo los ligandos de RAGEs endoteliales, parecen mediar la hiperpermeabilidad de los vasos inducidos por la diabetes, probablemente por la inducción de VEGF [19].

c) Activación de la proteína-quinasa C

La familia de las proteínas-quinasas C (PKC) comprende al menos 11 isoformas, nueve de las cuales están activadas por el segundo mensajero de lípidos, D-1,2-Diacilglicerol DAG. En cultivos de células de retina y glomérulos de animales diabéticos, la hiperglicemia aumenta la cantidad de DAG, por la síntesis de DAG de la fosfato dihidroxiacetona del glicerol-3-fosfato y su acilación gradual [20]. En la diabetes temprana experimental, la activación de las isoformas PKC- β y δ , junto con el incremento de DAG han mostrado que

regulan la circulación anormal de sangre en retina y riñones que se ha asociado al daño en la patología diabética [21] (Figura 1).

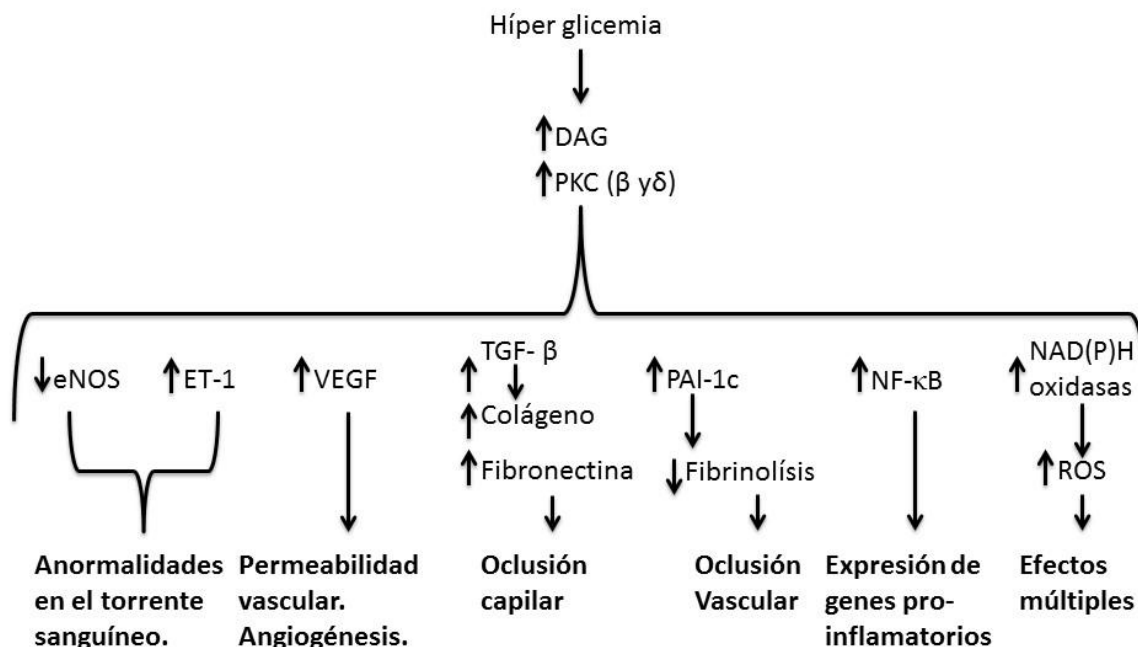


Figura 1: Efectos de PKC en la DM [6].

d) Aumento del flujo de la vía de las hexoaminas

El exceso de glucosa intracelular puede causar complicaciones junto con esta vía, ya que en esta ruta la fructuosa-6-fosfato se desvía de la glucólisis para proveer sustrato para la reacción de UDP-N-Acetilglucosamina, como la síntesis de proteoglicanos y la formación de O-glicoproteínas [6]. La inhibición de la enzima limitante de la velocidad en la conversión de glucosa a glucosamina, glutamina: fructuosa-6-fosfato amidotransferasa (GFAT), bloquea los aumentos inducidos por la hiperglucemia en la transcripción de TGF- α , TGF- β y PAI-1 [22, 23]. Esta vía es importante en la resistencia a la insulina inducida por hiper glucemia [24].

La activación de la vía de las hexoaminas por hiper glucemia, puede resultar en la modificación de la expresión de genes y la función de proteínas, lo cual da como resultado a la patogénesis de las complicaciones de la diabetes mellitus [6].

A pesar que diferentes tratamientos, con respecto a cada una de las teorías arriba mencionadas que tratan de reducir los daños inducidos por la hiperglucemia, tanto estudios con cultivos celulares, como con modelos en animales *in vivo*, sugieren que no hay un vínculo que las relacione entre si [6].

1.4 Diagnóstico de diabetes mellitus

El diagnóstico se debe establecer cuando ocurran síntomas de diabetes como son: polidipsia, poliuria, polifagia y baja de peso, acompañado de una glicemia en cualquier momento del día ≥ 200 mg/dl [25]

Los síntomas de la diabetes en los adultos mayores son inespecíficos y de aparición tardía, entre los cuales se han documentado:

- Fatiga
- Letargia
- Somnolencia
- Pérdida de peso
- Incontinencia Urinaria
- Perdidas del plano de sustentación
- Síntomas genitourinarios y alteraciones del estado conciencia

[26]

1.4.1 Pruebas de detección

La incidencia de diabetes en personas con glucosa alterada en ayuno o intolerancia a la misma (prediabetes) varía de 5 a 10% [25] razón por la cual el uso de otros marcadores, sobretodo de diagnóstico temprano, son indispensables para la identificación de la enfermedad.

- Parámetros de síndrome metabólico. El síndrome metabólico ha tratado de ser clasificado a lo largo de los años por diferentes organizaciones [27] y se han tenido muchas y muy diversas clasificaciones, todas sin llegar a una conclusión. Actualmente se tiene esta definición:

“Conjunto de alteraciones metabólicas constituido por la obesidad de distribución central, la disminución de las concentraciones del colesterol unido a las lipoproteínas de alta densidad (cHDL), la elevación de las concentraciones de triglicéridos, el aumento de la presión arterial (PA) y la hiperglucemia”[28].

En este trabajo nos guiamos por la definición del Adult Treatment Panel III (ATP-III) propuesta en 2005 por la American Heart Association y por el National Heart, Lung, and Blood Institute [27].

La presencia de 3 de los 5 criterios siguientes constituye un diagnóstico de SM

- Diámetro abdominal igual o mayor de 102 cm en varones y 88 en mujeres.
- Triglicéridos por arriba de 150 mg/dl (1.7 mmol/l).
- cHDL menor a 40 mg/dl (0.9 mmol/l) en varones y menos de 50 mg/dl (1.1 mmol/l) en mujeres.
- Elevación de la presión arterial 130 mmHg la sistólica y 85 mmHg la diastólica.
- Elevación de las concentraciones de glucosa en ayunas 100 mg/dl [27].

Índice de masa corporal. El índice de masa corporal alto es un factor de riesgo para el desarrollo de la diabetes mellitus tipo 2 (DM-2), igual que la obesidad abdominal [29]. La medición de la circunferencia de la cintura es un predictor importante para el desarrollo de la DM-2, así como para las coronariopatías [30].

- Pruebas bioquímicas de detección incluyen:

Glucosa capilar con tiras reactivas, con sensibilidad y especificidad del 50-60% respectivamente.

Glucosa plasmática en ayuno con sensibilidad de 56-59% y una especificidad 96-98%.

Prueba de tolerancia a la glucosa con sensibilidad y especificidad del 100%.

- Criterios bioquímicos de laboratorio para la confirmación del diagnóstico de diabetes:

Glucosa en ayuno mayor o igual a 100 mg/dl (ayuno de por lo menos 8 horas)

Glucosa en plasma a las 2 horas mayor o igual a 200mg/dl después de una prueba de tolerancia a la glucosa (según la técnica descrita por la OMS por medio de una carga glucosa anhidra de 75 gr disuelta en agua) [30].

1.5 Marcadores biológicos

El uso de marcadores biológicos junto con el historial clínico, sin lugar a dudas son herramientas para la detección oportuna de individuos jóvenes con potencial para el desarrollo de DM-2. Actualmente no hay duda de la relación directa que existe con los niveles séricos incrementados de interleucina (IL)-6, el factor de necrosis tumoral (TNF)- α y los niveles incrementados de glucosa en sangre en pacientes con DM-2. Particularmente, el nivel incrementado en suero de IL-6 ha sido sugerido como un marcador temprano del desarrollo potencial de la diabetes. Sin embargo, estudios recientes sugieren al factor inhibidor de la migración de macrófagos (MIF) como un marcador de mayor anticipación, así como más certero para el diagnóstico en el desarrollo de la DM-2 [31-34].

MIF es una citocina pleiotrópica, producida durante procesos inflamatorios por varias células, incluyendo células T activadas, macrófagos y por la glándula pituitaria [35]. MIF es una molécula con una potente actividad pro-inflamatoria que lo coloca en una posición clave al inicio de la cascada inflamatoria ya que favorece la síntesis de TNF- α , IFN- γ , IL-6, IL-8, IL-2 e IL-17 [36]. Además presenta una vía de retroalimentación negativa que inhibe la acción de los glucocorticoides [32].

La estructura tridimensional de MIF guarda homología con una enzima de tipo tautomerasa codificada por un dominio prolina N-terminal, que ha sido preservado evolutivamente y que actúa como base catalítica. Sin embargo MIF no presenta actividad enzimática relevante, que sea necesaria para su función biológica. Aunque se ha demostrado que la prolina N-terminal participa, más bien, en la interacción con su receptor CD74 [37].

A diferencia de otras citocinas, MIF se expresa constitutivamente en leucocitos y se almacena en su interior [38], esta característica lo hace un excelente mediador pro-inflamatorio de la inmunidad innata en la defensa anti-microbiana, y en respuesta al estrés [32]. Además MIF se presenta en niveles altos, en pacientes con enfermedades inflamatorias autoinmunes tales como la artritis [39] y la colitis crónica[40]. Y se ha demostrado que además que está involucrada en la patogénesis de otras como la diabetes tipo 2 [34]

MIF ha sido detectada en pacientes obesos, lo que sugiere que puede ser un mediador de macrófagos en el tejido adiposo del paciente [35]. Sin embargo los niveles de MIF en suero pueden ser regulados con metformina (droga anti diabética) [41], y es sabido que la expresión de MIF puede ser regulada por la insulina y que se le relaciona con la resistencia a la insulina [31].

Diversos estudios han demostrado que los niveles en suero de MIF son elevados en pacientes con diabetes tipo 1 y en pacientes con DM-2, sugiriendo que MIF contribuye a la patogénesis de la diabetes [33, 42].

En estudios con ratones deficientes en el gen que codifica para MIF (MIF^{-/-}) y ratones silvestres, se demostró en que la deficiencia de MIF reduce fuertemente la progresión de la diabetes en un modelo de inducción de hiperglicemia inducida por Estreptozotocina (STZ). La ausencia de MIF redujo la producción de citocinas pro-inflamatorias, así como los niveles de resistina, pero no tuvo efecto en la insulina y en la expresión GLUT2 en el páncreas [43]. Incluso en este mismo estudio se vio que mediante la administración del antagonista de MIF (CPSI-1306) se redujo la DM-2 en el modelo murino reduciendo también los niveles de las citocinas pro-inflamatorias.

Estudios preliminares en humanos con DM-2 sugieren que MIF podría ser un objetivo terapéutico en el tratamiento de esta enfermedad, aunque faltan estudios a futuro. En una población pequeña al sur de Alemania se demostró que la concentración altas de MIF contribuye a la resistencia de insulina por la liberación simulada de glucosa y de MIF en los islotes β del páncreas [42].

Por su lado, TNF- α es una adipocitocina involucrada en la inflamación y simula la reacción de la insulina en la fase aguda de la diabetes [44]. TNF- α es secretada principalmente por macrófagos, y por una amplia cantidad de células entre ellas los adipocitos [45, 46]. TNF- α inhibe la traducción de la insulina y tiene efecto en el metabolismo de la glucosa [47, 48]. Diversos estudios han relacionado los niveles incrementados de TNF- α en pacientes con obesidad con un estado de inflamación crónica que contribuye al desarrollo de la resistencia a la insulina como una secuela de la obesidad [49, 50]. Este comportamiento indica que puede afectar e iniciar el progreso de la DM-2.

Actualmente está claramente aceptado que hay una relación entre TNF- α y la insulina. TNF- α se incrementa al inicio de la DM-2 [51], pero parece que no tiene ninguna participación importante en las primeras etapas de la resistencia a la insulina [52], sino hasta etapas posteriores donde tiene una participación más importante en la resistencia a la insulina observada [53]. Respecto a IL-6 altos niveles de esta citocina se han relacionado con la intolerancia oral a la glucosa y con cierta capacidad predictiva en el desarrollo de la DM-2 [54]. Las concentraciones incrementadas de IL-6 tienen una relación positiva a la adiposidad y una relación negativa a la acción de la insulina, pero no tiene efecto alguno en la secreción de la insulina. Sin embargo, IL-6 no tiene ningún efecto en la acción de la insulina cuando los niveles de adiposidad son bajos, mientras que TNF- α afectan la acción de la insulina independientemente de los niveles de adiposidad [55].

El tejido adiposo se encarga de la secreción de IL-6 y otros factores como TNF- α , que afecta la acción de la insulina [42]. El tejido adiposo visceral, cuya abundancia se relaciona con un mayor riesgo cardiovascular, libera de dos a tres veces más IL-6 que el tejido adiposo subcutáneo [56].

Al igual que TNF- α , los pacientes con diabetes y obesidad han mostrado niveles incrementados en sangre de IL-6, sin embargo estos niveles se pudieron regular por medio de insulina [57].

1.6 Genética de MIF

El gen *MIF* está localizado en el cromosoma 22q11.2, es pequeño (0.8 kb) [58] y está compuesto de 3 exones de 205, 173 y 183 pares de bases (pb) y dos intrones de 189 y 95 pb [59], y codifica una proteína de 115 amino ácidos con un peso molecular de 12.5 kDa [58].

El promotor de la región de *MIF* contiene muchas secuencias de unión de ADN para factores de transcripción, AP-1, el factor nuclear- κ B (NF- κ B), GATA y adenosina 3', 5' monofosfato cíclico (cAMP) [59].

La región 5' de *MIF* carece de la caja TATA pero es rica en nucleótidos GC, dos características usualmente asociadas con la presencia de múltiples sitios de inicio de transcripción, y tiene solo un sitio de inicio de ARN localizado 97 pb río arriba del codón de la metionina [60].

Variaciones en el genoma del hospedero puede causar diferentes grados de susceptibilidad a diversas enfermedades como por ejemplo tuberculosis, o a la malaria [58, 59, 61], estas variaciones pueden ser dadas por los polimorfismos en la secuencia del ADN.

1.7 Polimorfismos en la secuencia del DNA

Un polimorfismo es una variación en la secuencia de un lugar determinado del ADN entre los individuos de una población, algunos son cambios en un solo nucleótido (SNPs) de los cuales se han encontrado cerca de 1.42 millones en todo el genoma humano, y muchos se han asociado con la susceptibilidad a enfermedades [62].

Los SNPs se descubrieron gracias a la colaboración de distintas instituciones, cotejando diversos resultados con las bases de datos publicadas por el Centro Nacional para la Información en Biotecnología (NCBI por sus siglas en inglés, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) utilizando diversas técnicas experimentales [62, 63].

1.7.1 Polimorfismos de MIF

En el caso del gene que codifica para *MIF* se han reportado una repetición de un tetra nucleótido en la posición -794 (-794 CATT₍₅₋₈₎ *rs5844572*), tres SNPs en las posiciones -173 (-173 G/C, *rs755622*), +254 (+254 T/C, *rs2096525*) y +656 (+656 C/G, *rs2070766*). Sin embargo los SNPs de las posiciones +254 y +656 están ubicados en intrones por lo que no afectan en la secuencia codificante de *MIF*. Además un SNP intergénico (*rs107888*), entre otros, que no han sido estudiados del todo, pero que han sido validados por ABI TaqMan SNP Genotyping Assays (*rs875643*, *rs9282783*, *rs2070767*, y *rs5751761*) [59, 64]. El SNP *rs1007888* está relacionado con la DM-2, la diabetes gestacional y altas concentraciones de MIF en suero [65]. En total, se han reportado 23 polimorfismos, sin embargo no se ha estudiado si hay o no una relación entre ellos en diferentes enfermedades (Tabla 3) [66].

Número	SNP	Localización	Tipo de cambio
1	<i>rs5760090</i>	5' río arriba	C/T
2	<i>rs75049121*</i>	5' río arriba	A/G
3	<i>rs12628766</i>	5' río arriba	G/T
4	<i>rs875643*</i>	5' río arriba	C/T
5	<i>rs738806</i>	5' río arriba	A/G
6	<i>rs738807</i>	5' río arriba	C/T
7	<i>rs5751759</i>	5' río arriba	A/G
8	<i>rs2012124</i>	Promotor	C/T
9	<i>rs2012133</i>	Promotor	C/G
10	<i>rs12483859</i>	Promotor	C/T
11	<i>rs12485058</i>	Promotor	A/G
12	<i>rs11428310</i>	Promotor	-/A
13	<i>rs5844572</i>	Promotor	-/CATT
14	<i>rs755622</i>	Promotor	G/C
15	<i>rs2096525</i>	Intrón	C/T
16	<i>rs2070766</i>	Intrón	C/G/T
17	<i>rs2000466</i>	3' río abajo	G/T
18	<i>rs1033309</i>	3' río abajo	C/T
19	<i>rs1033310</i>	3' río abajo	A/G
20	<i>rs1033311</i>	3' río abajo	C/T
21	<i>rs6003941</i>	3' río abajo	G/T
22	<i>rs107888</i>	3' río abajo	A/G

Tabla 3. Diferentes polimorfismos detectados en el gen que codifica para MIF [66].

Los estudios de genotipificación se han concentrado en los polimorfismos del micro satélite -794 CATT (5-8) y el -173 G/C (*rs755622*) (Ver tabla 4), este último fue el primero en ser identificado en el 2001 por Donn y colaboradores [67].

Ambos polimorfismos han sido asociados a susceptibilidad en diferentes enfermedades, sin embargo el SNP -173 G/C (*rs755622*) es más constante que los micro satélites -794 CATT (5-8) pues la repetición de estos puede variar [59]. Un ejemplo de esto es el estudio en una población Colombiana con tuberculosis (TB) donde se demostró que el SNP -173 G/C (*rs755622*) está asociado con el riesgo de contraer TB pero no los micro satélites -794 CATT (5-8)[68]. En este caso, los cambios en el genoma del hospedero contribuye al desarrollo de TB [58].

En otro estudio, en una cohorte Keniana en paralelo con infantes de Zambia, demostraron la asociación entre el SNP -173 G/C (*rs755622*), una mayor frecuencia del alelo C, y la susceptibilidad a la malaria severa [61].

Con este mismo SNP -173 G/C (*rs755622*), se ha encontrado una relación con la susceptibilidad al desarrollo de otras enfermedades como la artritis reumatoide, artritis idiopática juvenil, psoriasis, y enfermedades renales [36, 65, 67, 69-71]. Además, se ha reportado que hay una clara relación entre el SNP -173 G/C (*rs755622*) y los niveles incrementados de MIF en suero [65, 72].

```
...CTGGGCTTCATCTCTGGAAGGGTAAGGGGCCATCTTCCGGGTTACCGCCGCATCCCCACCCC  
GGCACAGCGCCTCCTGGCGACTAACATCGGTGACTTAGTGAAAGGACTAAGAAAGACCCGAGGC  
GAGGCCGGAACAGGCCGATTTCTAGCCGCAAGTGGAGAACAGGTTGGAGCGGTGCGCCGGGC  
TTAGCGGCGGTTGCTGGAGGAACGGGCGGAGTCGCCAGGGTCCTGCCCTGCGGGGGTTCGAGCC  
GAGGCAGGCGGTGACTTCCCCACTCGGGGCGGAGCCGCAGCCTCGCGGGGGCGGGGCCTGGCG  
CCGCGGTTGGCGTCACAAAAGGCGGGACCACAGTGGTGTCCGAGAAGTCAGGCACGTAGCTCAG  
CGGCGGCCGCGGCGCGTGTGCCTCTGCGCGGGGTCTCCTGGTCCTTCTGCCATATGCC...
```

Tabla 4. Secuencia y ubicación del SNP -173 G/C, *rs755622*, dentro del promotor de *MIF*. Se resalta en amarillo el sitio donde ocurre el polimorfismo, y en rojo el codón de inicio de traducción de *MIF* [73].

1.8 Diabetes en México

En México, en 2006, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) informó una prevalencia de obesidad abdominal, de acuerdo a la circunferencia de cintura, de 70% en hombres y 74% en mujeres [30]. La prevalencia de sobre peso y obesidad en los adolescentes en México es de 31.9%. Alrededor de 7 de cada 10 adultos padecen sobre peso u obesidad [30].

Los casos de diabetes por diagnóstico, basados en los parámetros anteriores, fueron de 15.4% en los hombres y 19.6% en las mujeres. De estas cifras solo una cuarta parte de los hombres y la quinta parte de las mujeres tenían diabetes bien controlada, de acuerdo con el porcentaje de hemoglobina glucosilada [30].

Según el IMSS:

- Durante el 2010, la prevalencia de DM-2 fue del 10.5% en la población derechohabiente.
- Ocupo el segundo lugar de demanda de consulta en medicina familiar, el quinto lugar en la consulta de especialidades.
- Ocupo el octavo lugar en la consulta de urgencias y como motivo egreso hospitalario.
- 5 de cada 10 pacientes en los programas de diálisis son DM- 2.
- Es la primera causa de los dictámenes de invalidez que corresponde el 14.3% del total, con una relación hombre mujer de 8 a 1.

La DM-2 es un factor de riesgo cardiovascular, se estima que entre 7 y 8 de cada 10 personas con DM-2 mueren por este motivo [30].

2 JUSTIFICACIÓN

Actualmente no cabe la menor duda que la DM-2 representa un verdadero problema de salud pública en México. Por tal motivo es fundamental llevar a cabo estudios que nos permitan identificar en una población joven, menor de 24 años, a los individuos potenciales a desarrollar DM-2. En el presente trabajo de tesis se estudió la expresión en suero de MIF y de las citocinas inflamatorias IL-6 y TNF- α en una población de jóvenes mexicanos, representados por estudiantes de nuevo ingreso a la Universidad, de todos ellos se obtuvo su consentimiento firmado, se les realizó estudio clínico, antropometría y se les tomó una muestra de sangre para realizar química sanguínea y biometría hemática; y se buscó relacionarla con la presencia de 0, 1, 2, 3 ó 4 parámetros de SM.

Además, teniendo en cuenta que los cambios genéticos de MIF pueden jugar un papel importante en el desarrollo de enfermedades, se decidió determinar en algunas muestras el polimorfismo -173 G/C (*rs755622*) del promotor de MIF para explorar si está relacionarlo con el SM y riesgo a desarrollar DM-2.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Establecer la relación de TNF- α , IL-6 y MIF con los niveles de glucosa en sangre en una población de estudiantes de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala e implementar la genotipificación del polimorfismo (SNP) -173 G/C (*rs755622*) de la región del promotor de *MIF*.

3.2 Objetivos particulares

1. Determinar los niveles de TNF- α , IL-6 y MIF en suero de una población de estudiantes hombres y mujeres de la FES-I de 18 a 24 años.
2. Establecer la relación entre las citocinas inflamatorias arriba mencionadas con niveles de glucosa en sangre por abajo y por arriba de 100 mg/dl de glucosa en sangre.
3. Buscar una posible relación entre parámetros de SM y los niveles de TNF- α , IL-6 y MIF de la población arriba mencionada.
4. Implementar la técnica de genotipificación del polimorfismo (SNP) -173 G/C (*rs755622*) de la región del promotor de *MIF*.
5. Buscar una posible relación entre el polimorfismo SNP -173 G/C (*rs755622*) del promotor de *MIF* con parámetros de SM.

4 MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Selección de la población.

Las muestras analizadas en este trabajo de tesis forman parte del proyecto multidisciplinario "Identificación de síndrome metabólico en universitarios de primer ingreso, síndrome de ovario poliquístico" bajo la responsabilidad del Dr. José Rafael Jiménez Flórez. Los 512 jóvenes mexicanos de entre 17 y 30 años de edad, 203 hombres (H) y 323 mujeres (M), fueron estudiantes de nuevo ingreso a la Facultad de Estudios Superiores-Iztacala en los años 2010 y 2012; En el estudio se contempló el registró del sexo, el peso, la talla y la obesidad central (circunferencia abdominal), así como la determinación en sangre de glucosa capilar, colesterol, triglicéridos, HDL y LDL. Estos datos fueron obtenidos por el grupo encabezado por el Dr. Jiménez, pero se utilizaron para buscar una posible relación con los datos de citocinas generados en esta tesis.

4.2 Muestras sanguíneas para la determinación de citocinas.

Se utilizaron muestras de sangre con al menos 8 h de ayuno de la población de alumnos arriba mencionada.

La sangre se centrifugó a 2500 revoluciones por minuto (rpm) para obtener el suero, este se mantuvo a -70°C hasta su uso en la determinación de las citocinas MIF, TNF- α e IL-6 por la técnica de ELISA-Sándwich (marca, PREPROTECH, MÉXICO).

Para la implementación de la técnica para determinar el polimorfismo (SNP) -173 G/C (rs755622) las muestras de sangre fueron proporcionadas por la empresa GENTECH ubicada en Puebla, Puebla.

4.3 Ensayo de ELISA.

Para la detección de MIF, IL-6 y TNF- α , se sensibilizó la placa con el anticuerpo de captura (PEPROTECH, México) a una concentración de 2 μ g/ml de solución de pegado y se agregaron 100 μ l de esta solución a cada pozo. Después de dejó incubar toda la noche a temperatura ambiente y al día siguiente se lavó con búffer de fosfatos (PBS, apéndice 1) tween20 (SIGMA). Se bloqueó el pegado inespecífico con 300 μ l por pozo de un buffer de bloqueo (PBS-BSA 10%, ver apéndice 1, en el caso de MIF se adicionó sucrosa y azida de

sodio) por 2h y se volvió a lavar con PBS-tween20. Se generó por duplicado la curva estándar con MIF recombinante, con una contracción inicial de 4000 pg/ml, seguida por diluciones dobles (4000; 2000; 1000; 500; 250; 125: 62.5; 31.2; 15.6; 7.8 y 0 pg/ml), 100 μ l/pozo. Se agregó 100 μ l de las muestras de suero a analizar por pozo. Se dejó reposar toda la noche a 4°C.

Al día siguiente, se lavó la placa y se añadió 100 μ l/pozo del anticuerpo biotinilado (PREPO-TECH) en a la concentración de 2 μ l/ml, disuelto en PBS-BSA y se agregó 100 μ l a cada pozo, se cubrió de la luz y se dejó reposar por 2 h a temperatura ambiente. Después de volverse a lavar con PBS-tween20, se agregó la estreptavidina peroxidasa a la dilución 1:4000 (PREPO-TECH) y se diluyo en 10 ml de PBS-BSA. Se cubrió la placa y se incubó por 45 min temperatura ambiente, se lavó nuevamente con PBS-tween20. Se agregó 100 μ l de ABTS + peróxido de hidrógeno al 3%. Se incubó a temperatura ambiente hasta que desarrolló color, se leyó en el lector de ELISA THERMO LABSYSTEMS, MULTISKAN ASCENT a 405 nm.

4.4 Extracción de DNA de sangre.

Se obtuvieron 5 ml de sangre, en contenedores con anticoagulante EDTA (Vacutainer), se centrifugaron a 2500 rpm por 10 minutos, se obtuvo un botón y se separó del plasma (sobrenadante), el cual se utilizó para determinación de citocinas.

El paquete celular fue incubado con agitación por 5 min con solución hemolizante (ver apéndice 1), para preparar el paquete de leucocitos y quitar los restos de glóbulos rojos y hemoglobina. Se detuvo la reacción con solución salina fría (PiSA) y se centrifugó por diez minutos a 2500 rpm, para conservar glóbulos blancos y desechar los eritrocitos en el sobrenadante. Esto se repitió hasta 4 veces, cuando ya no hubo presencia de eritrocitos en el paquete celular.

Una vez obtenido el botón libre de eritrocitos, se le agregó buffer de lisis junto con buffer de lisis + proteinasa K (ver apéndice 1), y se dejó incubar a 56° C durante toda la noche. Después se obtuvo el DNA por precipitación Fenol-Cloroformo (SIGMA-ALDRICH).

4.5 Purificación y concentración de DNA por medio de Fenol-Cloroformo.

Se preparó una concentración de DNA en 100 µl de solución de Fenol Tris-EDTA saturado para remover contaminantes proteicos, y se colocó en el vortex por 10 minutos y se centrifugó por 5 minutos a 14000 RPM a temperatura ambiente. Se tomó la fase acuosa y se pasó a otro contenedor, ya que es en esta fase en la que se encuentra el DNA.

Posteriormente para su precipitación en etanol se agregó 1/10 vol. de acetato de sodio (CH₃COONa) 3M pH 6.0, después se agregaron 3 vol. de etanol frío y se mezcló para luego dejarlo incubar a -20° C por 60 minutos. Acto seguido se centrifugó por 20 minutos a 14000 RPM a 4°C y se removió el sobrenadante. Se lavó con etanol para remover sales y pequeñas moléculas orgánicas, centrifugando por 5 minutos para luego remover el sobrenadante. Se secó la pastilla al aire por 5 minutos. Para concluir se disolvió la pastilla con H₂O grado biología molecular para poder procesar posteriormente el DNA.

4.6 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Para los PCR's se utilizaron los siguientes oligonucleótidos para el SNP -173 G/C del promotor de *MIF*: 5'CTGGGCTTCATCTCTGGAAG3' F y 5'TGGCAGAAGGACCAGGAGAC3' R (sintetizados por SIGMA-Aldrich, México).

Se siguió el siguiente programa de ciclos:

Una temperatura de desnaturalización previa de 95°C por 10 minutos seguida de cinco ciclos de 95°C por 15 segundos y de 60°C, alineamiento, por 30 segundos, 72°C, extensión, por 45 segundos, y 30 ciclos de 95°C por 15 segundos, 65°C por 30 segundos, 72°C por 45 segundos y se dejó enfriar a 4°C por 10 segundos.

Se decidió hacer los 5 ciclos previos para evitar pegados inespecíficos y después los 30 para amplificar la secuencia del promotor. Dando un estimado de 443 pb.

4.7 Determinación del polimorfismo -173 G/C (sr755622)

Para determinar el SNP -173 G/C(sr755622) se utilizó la enzima de restricción *Alu I*, para digerir el producto de PCR de 443 pb del gen de *MIF*. Si el polimorfismo está presente el fragmento de 443 pb es digerido, generando dos bandas de 151 y 292 pb.

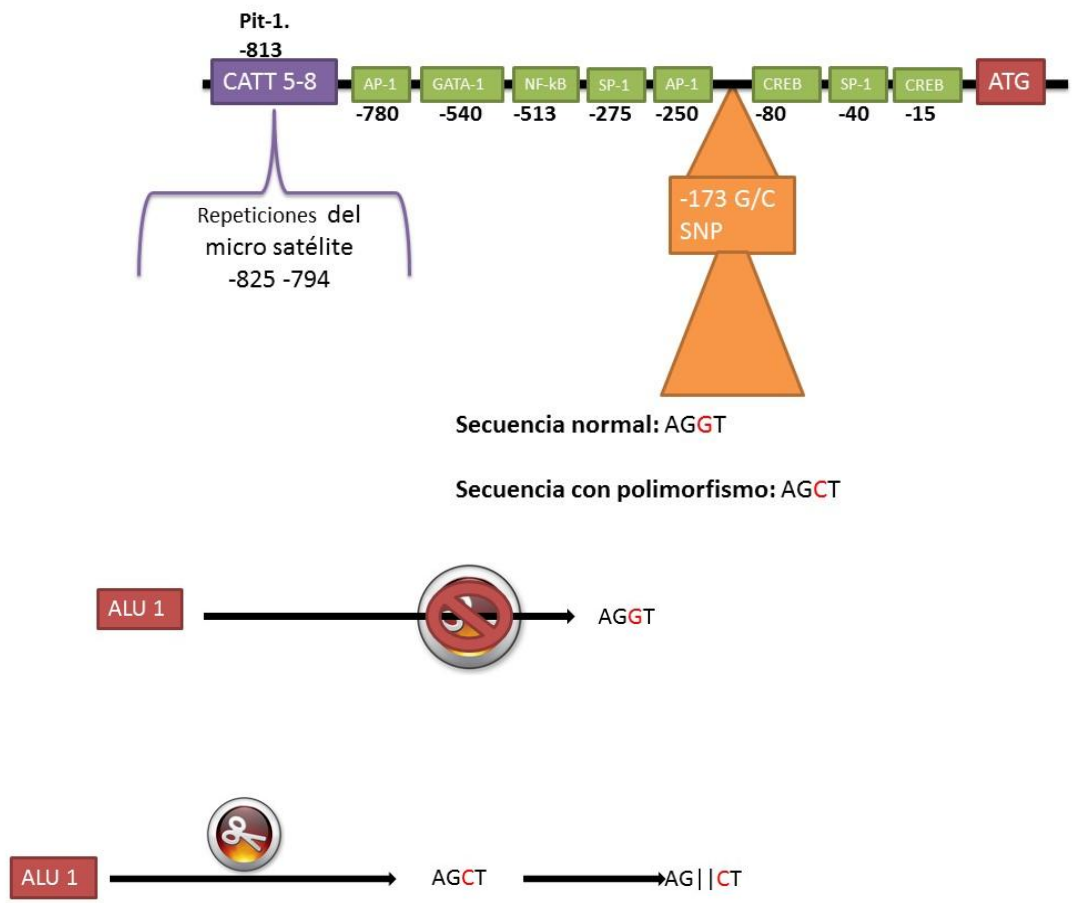


Figura 2: Ubicación de los polimorfismos del promotor de *MIF* y del sitio de corte de *Alu I* (AGCT), y los productos que se obtienen en la electroforesis.

4.8 Análisis estadístico.

Los datos fueron analizados por el programa estadístico GraphPad Prism 6, utilizando las pruebas estadísticas requeridas para cada caso.

5 RESULTADOS

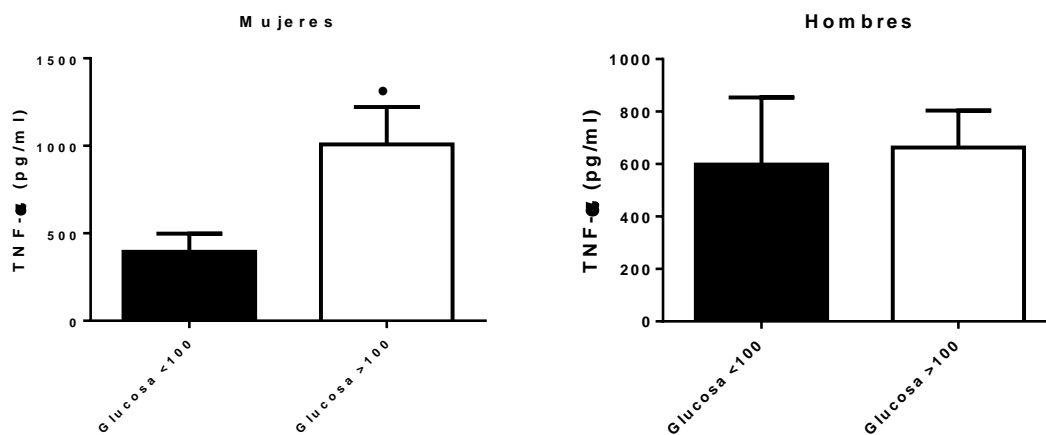
5.1 Población

Se analizaron 510 muestras sanguíneas pertenecientes a una población de alumnos de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala (FES- I), 197 hombres (H) y 312 mujeres (M) entre 17-24 años de edad, a los cuales se les analizó concentración TNF- α , IL-6 y MIF en suero sanguíneo, además de parámetros antropométricos para determinar la presencia de síndrome metabólico, y en caso de haberlo, su relación con la concentración de las citocinas inflamatorias (Anexo 1).

5.2 Relación de la concentración de citocinas por medio de ELISA con la concentración de glucosa

TNF- α e IL-6, muestran un aumento significativo en las concentraciones en suero, cuando la glucosa está por arriba de los parámetros normales (> 100 mg/dl) en mujeres. Sin embargo, aún cuando en los hombres el comportamiento es similar, no hay una diferencia estadísticamente significativa (Figura 3).

Los niveles de MIF en suero fueron más altos en sujetos que presentaron niveles de glucosa por arriba de 100 mg/dl, comparados con los sujetos sanos (media \pm SEM, 1168.0 pg/ml \pm 69.19 vs. 373.8 pg/ml \pm 9.174, $p = 0.0001$) (Figura 3).



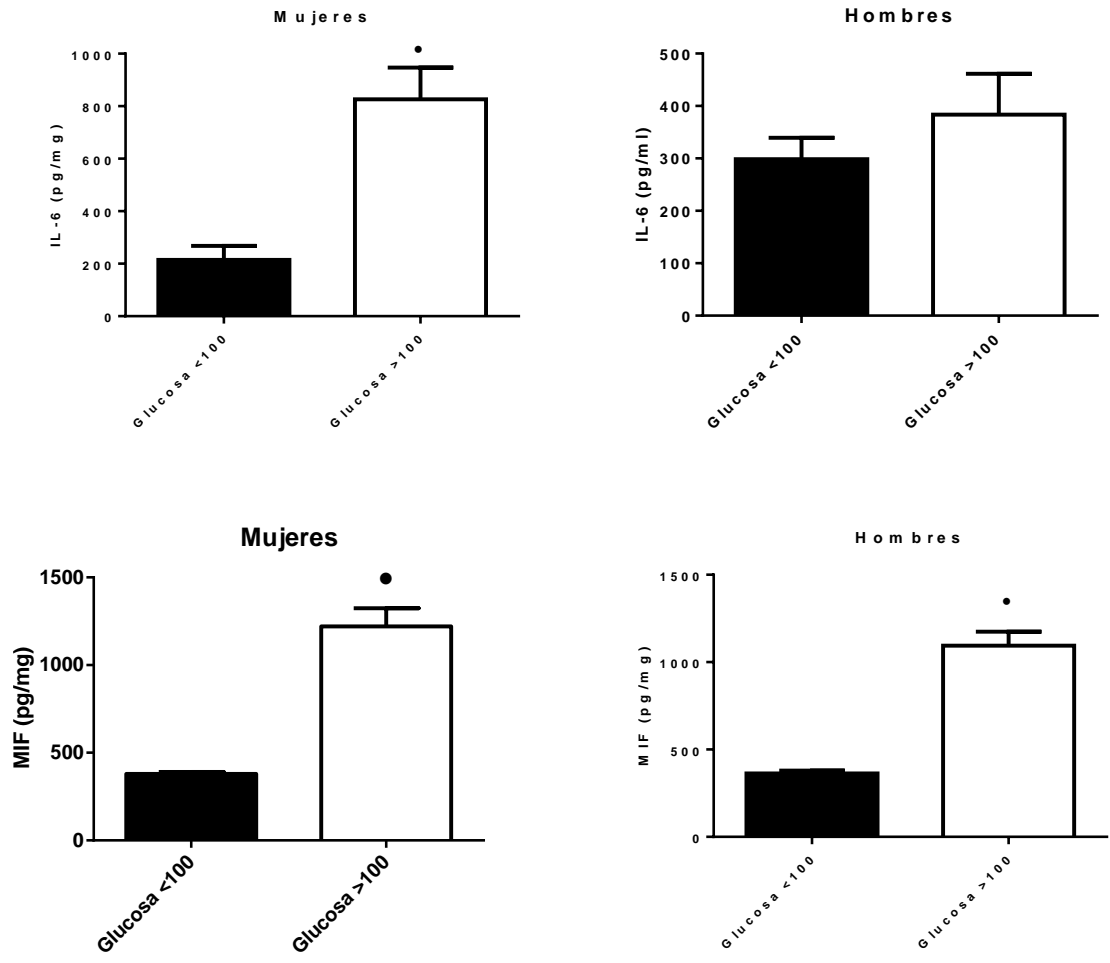


Figura 3: Relación entre TNF- α , IL-6 y MIF con la concentración de glucosa en mujeres y hombres.

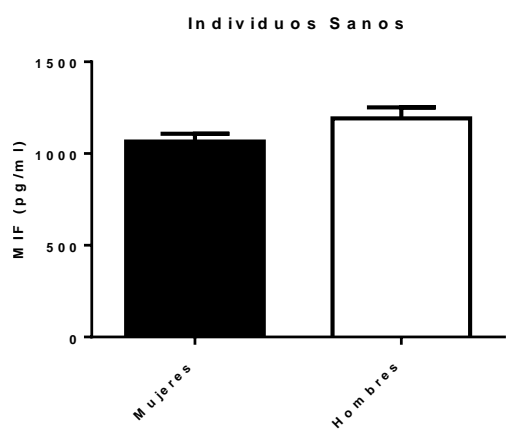


Figura 4: Individuos con glucosas por debajo de los parámetros normales y concentraciones elevadas de MIF.

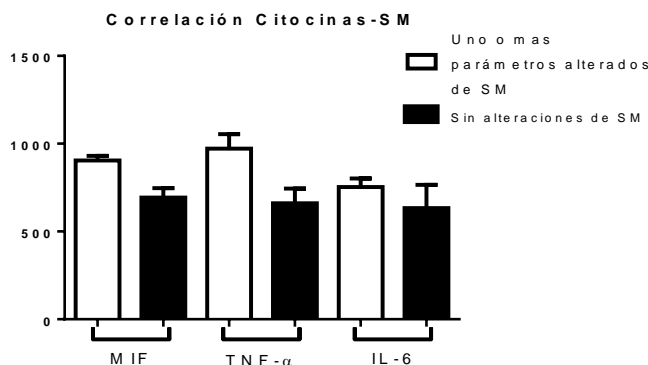
311 sujetos, 122 hombres y 189 mujeres, presentaron niveles de glucosa normal, pero MIF alto, los niveles de fueron significativamente más altos en hombres que en mujeres (1192.0 pg/ml \pm 59.70 H vs. 1066.0 pg/ml \pm 41.99 M, $p= 0.032$) (Figura 4). Además en estos sujetos se detectaron hasta 3 parámetros alterados de SM.

102 sujetos (63 mujeres y 39 hombres) presentaron niveles de glucosa normal y concentraciones de MIF normal.

5.3 Relación de la concentración de glucosa en sangre con los parámetros alterados de síndrome metabólico

Se relacionó las concentraciones de las citocinas (MIF, TNF- α , IL-6) en pacientes que no presentan ninguna alteración, con pacientes que presentan parámetros alterados de síndrome metabólico (SM): glucosa > 100 mg/dl, HDL < 40 mg/dl en hombres y <50 mg/dl en mujeres, diámetro abdominal mayor o igual a 102 cm en varones y mayor o igual a 88 cm en mujeres, y triglicéridos mayores a 150 mg/dl.

Figura 5: Correlación de Parámetros de SM alterados con las citocinas analizadas en este estudio



Observamos que hay mayores concentraciones de las citocinas en suero cuando hay al menos un parámetro de SM alterado (Figura 5). Esto se puede explicar a que los parámetros alterados de SM están relacionados con la inflamación.

Los resultados demostraron que: 10 H y 10 M presentaron 4 parámetros de SM, 38 H y 23 M, 3 parámetros; 35 H y 65 M, 2 parámetros; 54 H y 67 M, un parámetro de SM y 208 sujetos 0 parámetros (sanos 40.5%) como se muestra en la figura 6.

Las concentraciones de MIF mostraron una disparidad entre los sujetos sanos y los sujetos con SM, lo cual podría contribuir a la patogénesis del SM o al desarrollo de enfermedades relacionadas con el SM, como la arterosclerosis y DM2.

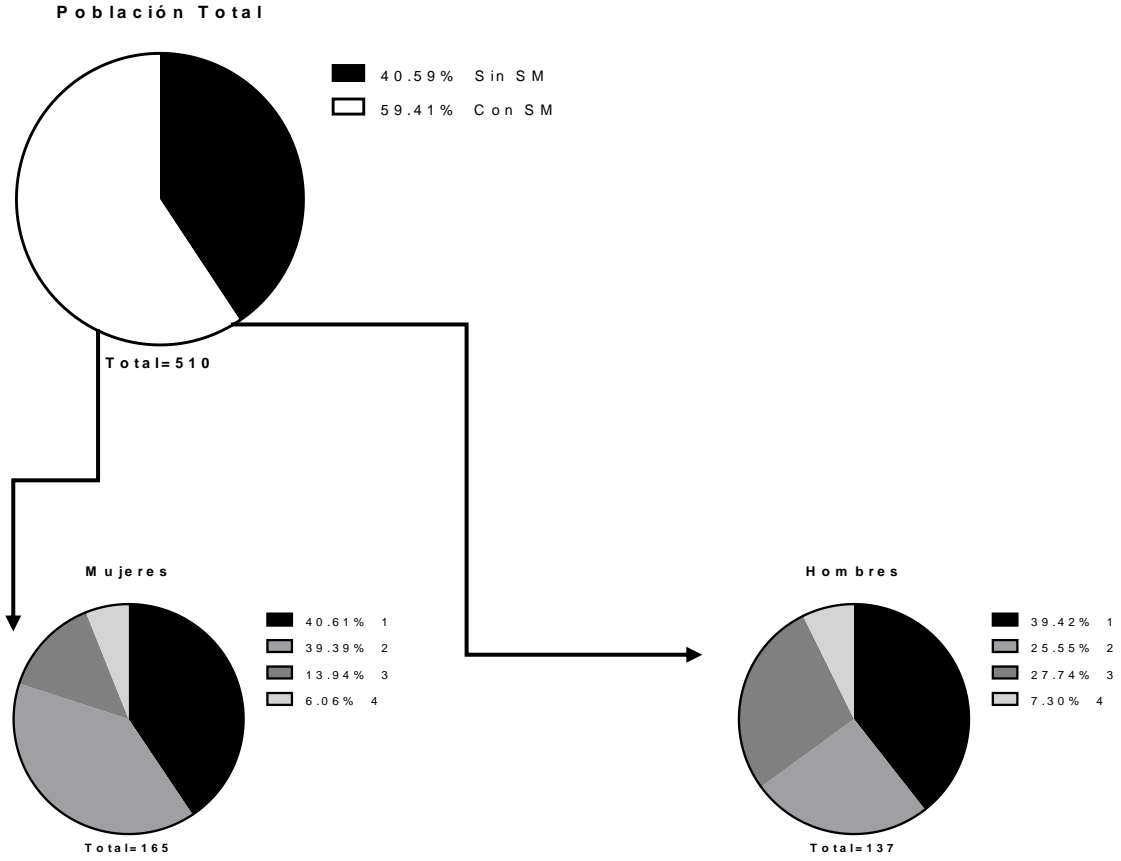


Figura 6: Porcentajes de parámetros de SM alterados en la población de hombres y mujeres

Población con MIF Elevado

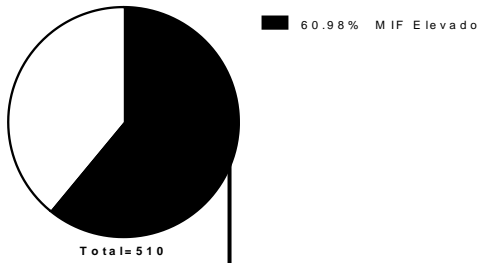
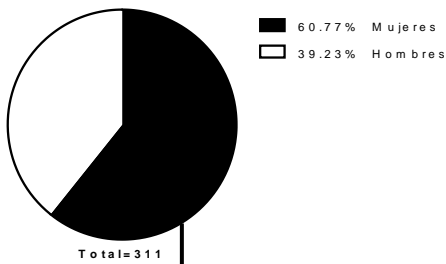
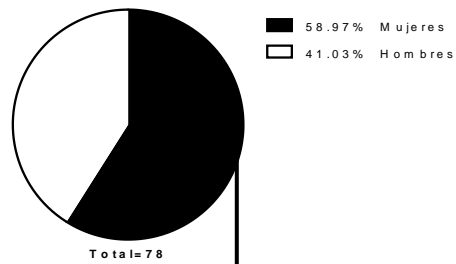


Figura 7: Población y porcentajes de parámetros alterados dentro de la misma con MIF elevado

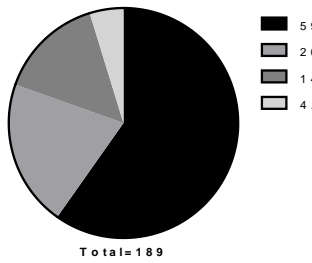
Glucosa normal MIF elevado



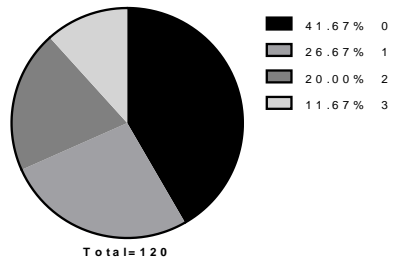
Glucosa Elevada MIF Elevado



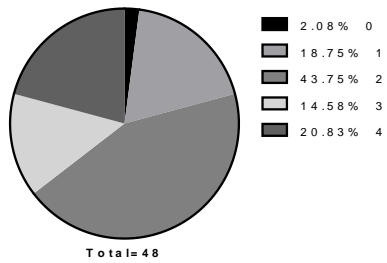
Mujeres Glucosa normal MIF elevado



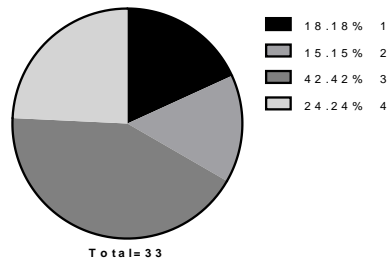
Hombres Glucosa normal MIF Elevado



Mujeres Glucosa elevada MIF Elevado

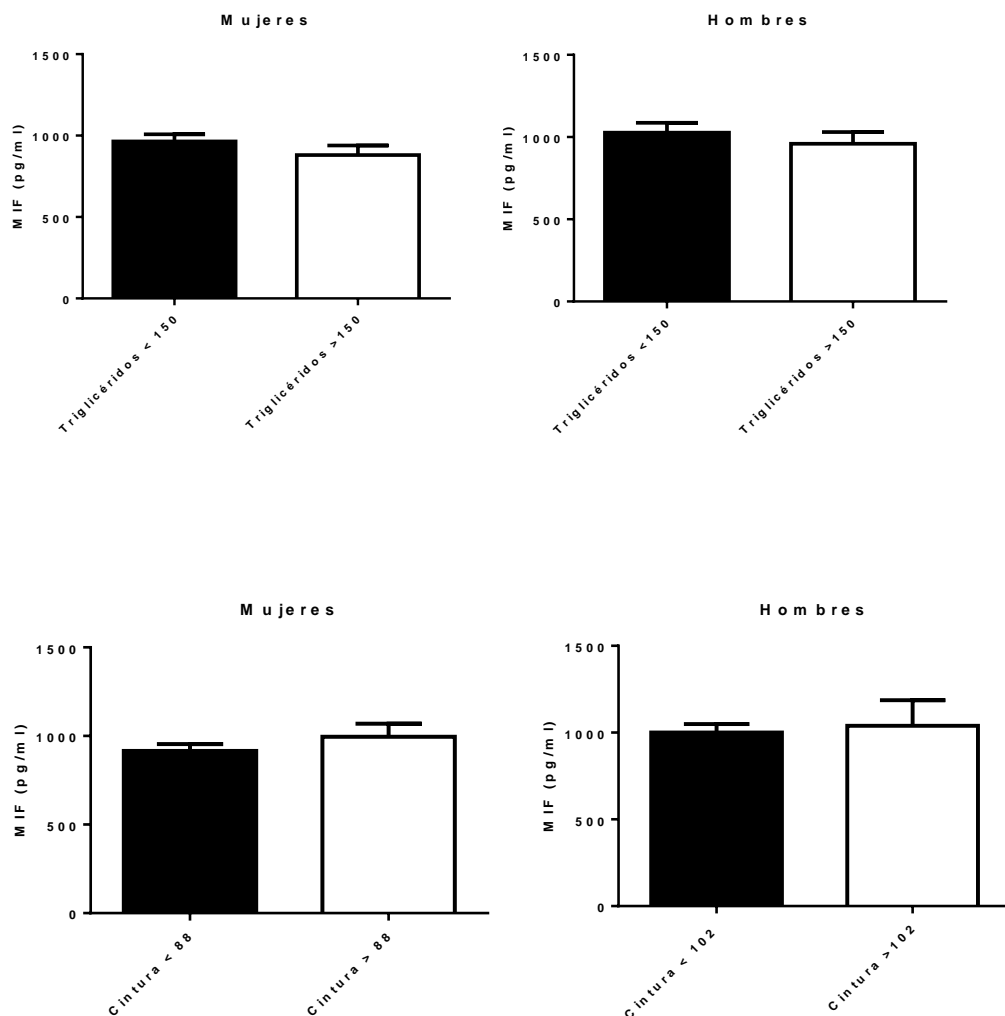


Hombres Glucosa elevada MIF elevado



Se analizó el porcentaje de la población de los individuos con concentraciones elevadas de MIF con objeto de saber la distribución de los parámetros alterados dentro de esta población, ya que si bien no tenían glucosas elevadas, presentaron hasta 3 parámetros alterados, además se buscó encontrar los porcentajes de individuos con parámetros alterados relacionando las concentraciones de MIF elevadas con las glucosas por arriba de 100 mg/dl (Figura 7).

Además, se relacionaron las concentraciones de MIF con los parámetros de SM alterados, y a pesar de que no hay diferencias significativas, se observa mayores concentraciones de MIF cuando los parámetros están alterados, tanto en hombres como mujeres (Figura 8)



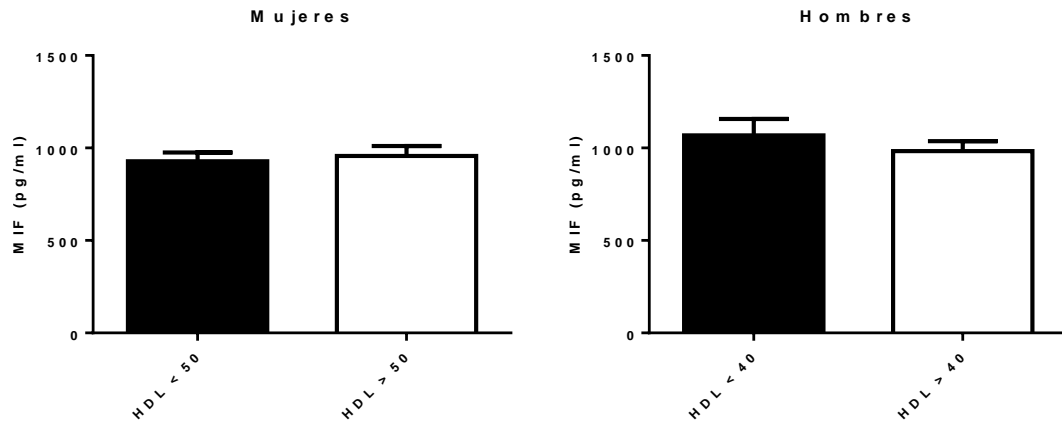


Figura 8: Concentraciones de MIF con respecto a otros parámetros de SM

Cabe mencionar, que todos los individuos al momento de la extracción de sangre se consideraban sanos, ya que ninguno consideraba tener algún parámetro de SM alterado, o algún síntoma de cualquier enfermedad o como resultado dichas alteraciones

5.4 Polimorfismo -173G/C (*sr755622*)

El polimorfismo (SNP) -173 G/C del promotor de MIF está relacionado con diversas enfermedades inflamatorias [59], es por eso que en este estudio decidimos buscar si existía una relación entre el polimorfismo y la diabetes. Así, por medio de PCR de punto final, y la digestión con *Alu* I se determinó la presencia del mismo. En una prueba con 14 individuos seleccionados de manera aleatoria, se encontraron cuatro individuos con el SNP-173G/C (Tabla 5). En la Figura 9 se muestra el análisis de dos de estos individuos, observando el doble bandeo esperado: una banda de 151 pb y otra de 232 pb. En contraste, dos individuos sin el polimorfismo mostraron sólo una banda de 443 pb (Figura 9). Para estar seguros de que el bandeo fue a causa de la digestión con *Alu* I en presencia del SNP, se hizo una secuenciación de DNA (Figura 10).

Tabla 5: Resultados de los PCRs buscando el polimorfismo -173 G/C

Código	Número	I.M.C.	Cintura	Presencia del SNP -173G/C de MIF
142010043	1	25.75	70	*
142010044	2	29.41	100	ND
142010045	3	51.4	100.3	*
142010046	4	23.8	88	*
142010047	5	21.74	81	+
142010048	6	26.35	86	POSITIVO
142010049	7	33.61	111	*
142010050	8	26.8	93	+
142010051	9	31.9	110	ND
142010052	10	24.9	86	*
142010053	11	28.6	103	*
142010054	12	49.17	130	POSITIVO
142010056	13	25.9	91	POSITIVO
142010057	14	24.7	87	POSITIVO

Las muestras marcadas con (*) son aquellas que no presentan el polimorfismo (SNP) -173 G/C del promotor de MIF a diferencia de aquellas POSITIVAS, que presentaron el bandeo esperado al procesar el producto de PCR con la enzima de digestión ALU-I.

Las muestras con el símbolo (+) no presentaron el bandeo esperado para el SNP -173 G/C, sin embargo, podría significar la presencia de algún otro alelo además del esperado del SNP -173, siendo que podría haber cambiado por alguno de los otros también reportados, G/G o C/C de ese mismo SNP [58]. Para lo que necesitaríamos hacer una secuenciación de las muestras para determinar esto con exactitud.

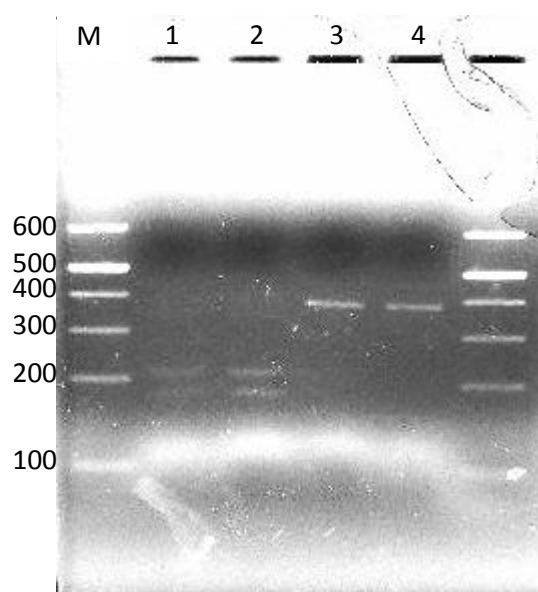
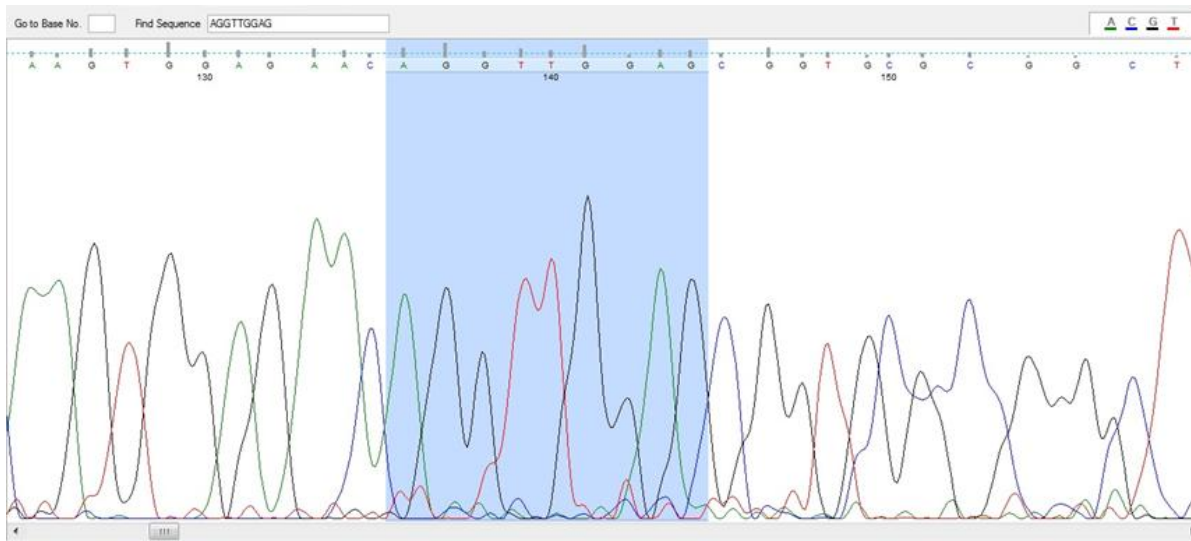


Figura 9: PCR del promotor de MIF con Polimorfismo y sin él; en un gel de agarosa al 1.5% con un marcador molecular de 100 pb

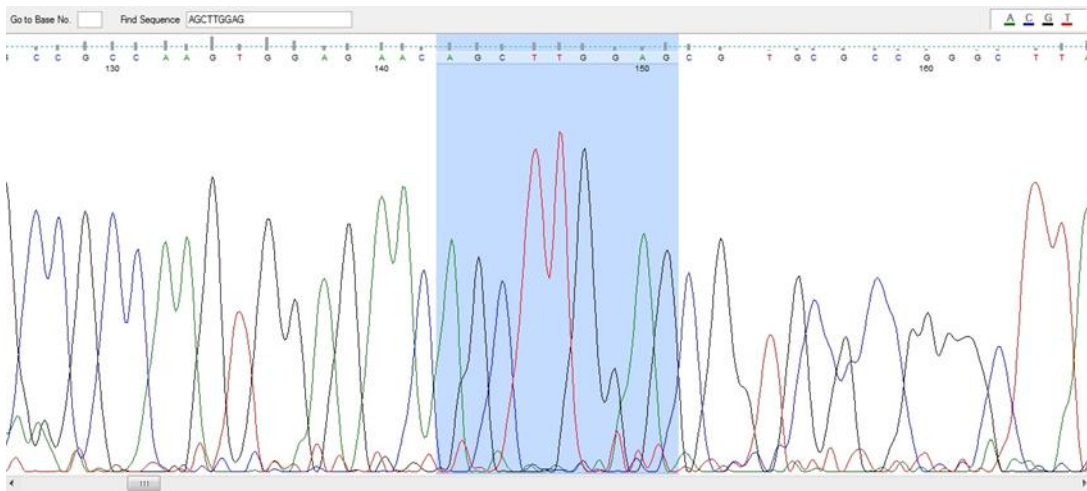
Secuencia de la base de datos del GeneBank: AACAG **G** TTGG

Secuencia del sujeto sin el polimorfismo: AACAG **G** TTGG

Secuencia del sujeto con el polimorfismo AACAG **C** TTGG



Secuencia sin polimorfismo -173 G/C



Secuencia con el polimorfismo -173 G/C

Figura 10: Secuencias de DNA en presencia del polimorfismo -173 G/C y en ausencia del mismo.

6 DISCUSIÓN

La inflamación predice y precede a la DM-2 [47], estudios previos en una población de mexicanos demostró una clara asociación de los niveles elevados de IL-6 y TNF- α con diabetes, e IL-8 en pacientes mayores, y en pacientes obesos. Estos resultados están en concordancia con los resultados que nosotros obtuvimos en este trabajo de tesis, individuos con niveles por arriba de 100 mg/dl tuvieron niveles incrementados de IL-6 y TNF- α y esto estuvo relacionado con parámetros alterados de síndrome metabólico, en algunos individuos desde un parámetro. Esta relación glucosa > 100mg/dl, citocinas inflamatorias incrementadas y parámetros de síndrome metabólico fue más clara en las mujeres que en los hombres. Sin embargo esta información debe ser validada con un estudio poblacional, que nos permita establecer en la población sana mexicana las concentraciones de citocinas inflamatorias, debido a que cada grupo poblacional o étnico tiene sus propias características [74].

Con las reservas propias del estudio que falta sobre la caracterización de las citocinas inflamatorias en la población mexicana, no cabe duda que la presencia de TNF- α puede favorecer la patología diabética, pues éste ha sido asociado con la resistencia a la insulina, y diversos estudios han demostrado que la administración externa de TNF- α puede generar la resistencia a la misma. Además de que en ratones *Knockout* para TNF- α están parcialmente protegidos contra el desarrollo de la resistencia hacia la insulina inducida por la obesidad [44].

Otra citocina inflamatoria claramente asocia a la patología diabética es MIF, pues estudios anteriores demostraron que ratones silvestres (Wild-type) tratados con estreptozotocina (STZ) desarrollaron francos niveles de glucosa en sangre, asociados a niveles incrementados de citocinas inflamatorias y resistina, mientras que ratones *Knockout* para MIF no desarrollaron niveles incrementados de glucosa en sangre y tuvieron los niveles de citocinas inflamatorias reducidos, en comparación con los ratones WT [43].

Por otro lado, se ha relacionado el SNP -173 G/C (*rs755622*) con diversas enfermedades, además las personas portadoras de este polimorfismo presentan niveles elevados de MIF en suero [36, 59, 61, 64-69, 72]. Otro polimorfismo, SNP (*rs1007888*) de *MIF* ha sido relacionado con la diabetes gestacional y diabetes tipo 2 en mujeres [75]. Por lo que nosotros creemos que este polimorfismo podría estar relacionado con los niveles incrementados de citocinas inflamatorias observadas en la población mexicana; sin embargo, falta hacer un estudio poblacional para caracterizar la

frecuencia de este polimorfismo y tratar de correlacionarlo con los niveles de citocinas inflamatorias, y el riesgo a desarrollar DM. En este trabajo de tesis se logró estandarizar la metodología para la determinación del polimorfismo en una muestra de sangre periférica.

7 CONCLUSIONES

Los niveles en suero de las citocinas MIF, TNF- α e IL-6 se vieron incrementadas en pacientes que presentaron glucosa por arriba de 100 mg/dl en el torrente sanguíneo. Además también fueron diferentes según el género, pues las mujeres tuvieron estas citocinas ligeramente más incrementadas que los hombres.

Se detectaron algunos individuos con niveles de MIF incrementados con glucosas menores a 100 mg/dl, (160 hombres y 197 mujeres) para lo cual se tendría que revisar el historial clínico para ver si los pacientes tienen alguna patología inflamatoria que se refleje en la sobreexpresión de MIF. Hay que tener en cuenta que a pesar de que los niveles de glucosa son grandes, no se trata de individuos diagnosticados como diabéticos pero presentaron hasta 3 alteraciones de SM.

Para poder completar el estudio será necesario saber si los donantes de sangre presentan algún tipo de diabetes, o antecedentes familiares de la misma, además de relacionar las concentraciones de MIF en suero, ya que se ha reportado que la presencia del SNP puede influir en la producción de MIF de diferentes maneras en diabéticos tipo uno o dos, como en pacientes sanos [65, 72, 75].

8 Apéndice

8.1 Soluciones

- **Solución de fosfatos (PBS)**

1. 10 L, pH 7.4
2. 80 g *NaCl*
3. 11.6 g *Na₂HPO₃*
4. 2.0 g *KCl*

- **PBS + BSA**

Solución de fosfatos (PBS) con 1% de Albúmina (BSA) como solución de bloqueo.

En el caso de ELISA de MIF se le agregó 5% de sucrosa y 0.05% de azida de sodio.

- **PBS/Tween**

1. 1 L de PBS
2. 0.5 ml Tween 20

- **ABTS**

Adicionar 150 mg de ABTS en 500 ml de 0.1 M de ácido cítrico en *H₂O* destilada y con *NaOH* llevar a pH 4.53 y hacer alícuotas de 11 ml en tubos y congelar a -70°C

- **Solución Hemolizante**

Solución A:

1. Cloruro de Amonio (*ClNH₄*) 0.16M
2. *H₂O*

Solución B:

1. Tris Base (0.17M)
2. *H₂O*

Tomar 8 partes de la solución A y mezclar con 2 de la solución B, ajustar pH 7.4

- **Búffer de lisis**

1. 200 μ l de *NaCl*
2. 5 mM de ácido etinediaminatetraacético (EDTA)
3. 0.2% dodecil sulfato de sodio (SDS)
4. 100 mM tris *HCl* pH 8.5, se afora con *H₂O* destilada hasta un litro

9 ANEXO 1

9.1 Tablas de Población

#	Clave	Sexo	Edad (años)	MIF (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	PESO (kg)	Talla	Glucosa (mg/dl)	Colest	CINTURA (cm)	HDL	LDL	Triglic (mg/dl)	Total SM
1	782253	F	23	535	39.8	67.3	79.5	151	98	216	96.5	40	142	168	2
2	782302	F	20	695	107.9	1210.3	50	158	83	135	79	44	84	37	0
3	782259	F	21	525	34.7	31.6	56	156	87	164	73	51	98	76	0
4	782255	F	24	380	ND	33.04	53	155	95	165	78.5	49	91	124	0
5	782258	F	20	475	43.3	ND	70	156	91	220	92.5	41	142	181	2
6	782218	M	21	620	150.5	ND	71	174	85	165	89	42	97	131	0
7	782260	F	23	367.5	31.03	88.6	75	157	90	202	106	51	124	134	1
8	782254	F	20	362.5	84.1	ND	73.5	151	87	123	98	31	68	121	2
9	782219	F	23	337.5	ND	52.3	64	156	72	161	87	38	89	168	3
10	782256	F	24	645	ND	68.8	98	162	99	163	117	42	92	145	1
11	782227	F	19	705	1629.7	682.1	65	148	89	114	84	40	59	77	0
12	782217	M	20	430	57.1	172.3	62	166	89	185	76	50	103	159	1
13	782233	F	28	472.5	247.8	33.04	66	152	79	243	87	47	167	145	1
14	782220	F	25	427.5	443.3	206.97	55	155	78	188	75	83	84	107	0
15	782221	F	27	720	1105.8	335.03	62	149	81	163	97	47	91	127	1
16	782257	F	27	362.5	39.8	24987.9	103	150	85	198	106	58	123	83	1
17	782222	F	20	737.5	20.5	33.50	47	157	71	136	71	59	66	54	0
18	782265	F	19	510	36.6	ND	63	153	82	161	87	49	90	112	1
19	782262	F	21	357.5	63.8	36.2	51	148	78	145	74	63	72	50	0

#	Clave	Sexo	Edad (años)	MIF (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	PESO (kg)	Talla	Glucosa (mg/dl)	Colest	CINTURA (cm)	HDL	LDL	Triglic (mg/dl)	Total SM
20	782301	F	21	277.5	99.3	57.3	50.5	152	105	132	75	39	75	88	2
21	782238	M	20	332.5	43.3	42.5	74	170	93	223	88	47	156	99	2
22	782261	F	23	387.5	26.3	ND	67	154	90	125	93	42	69	72	1
23	782263	F	23	347.5	52.5	39.7	83.5	152	77	228	110	52	139	185	2
24	782234	M	21	535	8829.7	13451.97	56	164	92	179	71.5	62	97	99	0
25	782223	F	20	370	93.97	65.7	49	152	96	107	84	56	37	66	0
26	782228	F	21	460	154.7	55.99	51	144	83	150	87	46	89	77	1
27	782225	M	21	342.5	27.02	68.8	66.5	173	89	207	79.5	48	126	161	2
28	782231	M	23	332.5	ND	ND	75	175	96	175	80	52	89	172	1
29	782288	M	21	472.5	ND	ND	79	172	97	145	80	53	85	37	0
30	782292	F	20	392.5	18.8	29.5	48	159	87	153	65	49	87	87	0
31	782237	M	22	362.5	385.9	64.3	118	176	94	175	122	27	72	381	3
32	782232	F	28	365	193.1	124.96	73	168	81	203	87	46	130	134	0
33	782266	M	21	320	22.3	44.5	69	174	101	154	86	46	80	142	1
34	782284	F	20	465	69.3	108.9	51.5	152	90	187	80	34	114	197	2
35	782216	F	27	455	240.99	51.1	53.5	165	94	161	70	51	88	111	0
36	782264	F	23	375	254.7	ND	63	155	93	146	87	52	85	43	0
37	782295	M	21	230	25.6	46.6	89	164	86	143	98	43	90	52	2
38	782275	F	22	320	838.2	ND	50	159	95	172	72	41	116	77	0
39	782215	F	25	275	16.9	43.5	101	180	93	194	110	54	118	111	1
40	782282	M	19	540	261.9	53.5	55.5	170	87	150	74.5	46	82	110	1
41	782271	F	28	280	21.1	28.8	69	148	87	237	95.5	54	149	168	2
42	782281	F	27	442.5	39.8	ND	60.5	152	91	169	76	36	113	100	1
43	782299	M	27	497.5	1499.7	193.2	100	180	94	244	101	23	75	1041	3
44	782294	M	21	352.5	31.0	122.1	60	175	82	139	78	57	72	50	0

#	Clave	Sexo	Edad (años)	MIF (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	PESO (kg)	Talla	Glucosa (mg/dl)	Colest	CINTURA (cm)	HDL	LDL	Triglic (mg/dl)	Total SM
45	782280	M	19	445	1380.1	221.7	66.5	164	95	153	83	47	91	77	1
46	782241	F	20	490	28.6	ND	52.5	156	75	165	84	56	89	100	0
47	782287	M	21	425	19.9	41.6	59	156	81	172	75	50	103	96	0
48	782243	F	18	305	77.4	ND	55	158	86	135	76	52	68	76	0
49	782248	M	31	335	27.8	ND	73.5	169	91	208	88	43	141	119	1
50	782235	F	22	350	62.02	ND	57	161	93	122	75	41	69	58	0
51	782239	F	25	410	86.5	97.1	51	154	82	156	67.5	72	70	68	0
52	782290	F	20	367.5	17.3	ND	69.5	164	90	196	85	34	127	174	2
53	782269	F	19	255	96.6	ND	58	154	85	112	88	52	29	151	2
54	782283	M	22	367.5	ND	ND	65	164	88	144	81	36	79	145	1
55	782242	F	20	442.5	67.4	ND	61	158	86	156	80	58	78	100	0
56	782268	F	20	390	18.8	ND	57	156	94	160	75	53	89	91	0
57	782277	M	22	287.5	ND	6457.1	77	160	90	221	100	44	151	129	2
58	782240	M	24	402.5	22.3	37.1	60	161	78	150	78	50	90	52	0
59	782297	F	21	477.5	33.7	819.5	65	154	92	139	82	44	79	79	0
60	782276	F	18	352.5	ND	33.04	49	146	95	190	83.5	38	132	99	1
61	782298	M	21	1125	142.4	61.4	87	170	95	169	89	46	82	206	2
62	782272	F	27	480	27.02	28.1	78	158	88	167	99	37	90	201	3
63	782296	F	20	342.5	75.3	28.1	82.5	155	82	133	99	43	75	76	1
64	782273	F	26	382.5	65.6	34.6	77	159	89	165	88	41	93	156	2
65	782274	F	25	440	38.7	54.7	71.5	161	93	133	89	35	80	91	2
66	782278	F	21	432.5	163.5	34.6	57	160	86	152	80	59	78	76	0

#	Clave	Sexo	Edad (años)	MIF (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	PESO (kg)	Talla	Glucosa (mg/dl)	Colest	CINTURA (cm)	HDL	LDL	Triglic (mg/dl)	Total SM
67	782245	F	19	435	276.8	226.9	62.5	155	103	145	77	47	80	92	1
68	782247	M	20	357.5	234.4	ND	64	168	89	164	76.5	48	104	59	1
69	782291	F	24	1252.5	13012.7	1292.5	51.5	161	84	134	75	50	74	48	0
70	782246	F	18	650	104.98	407.5	80	167	84	166	97.5	51	83	162	2
71	782244	F	31	1092.5	22.9	707.5	57	156	93	160	83	42	93	125	0
72	782270	F	22	nd	2915.6	1392.5	77	160	83	186	96	49	105	159	2
73	782279	F	25	1600	ND	262.5	53	150	97	196	76	49	117	149	0
74	782303	F	21	nd	885.99	517.5	73	163	87	120	94	36	66	88	2
75	782293	F	22	nd	495.2	507.5	63.5	159	88	186	86	36	113	184	3
76	782099	F	21	nd	nd	1312.5	45	152	80	149	68.5	45	90	68	0
77	782096	F	20	nd	62.02	417.5	68	154	71	183	91.5	55	114	71	1
78	782095	M	19	2120	ND	2562.5	63	174	89	126	73	45	64	87	0
79	782092	F	27	1267.5	ND	1522.5	61.5	151	86	118	84.5	47	56	75	0
80	782105	F	19	2467.5	292.6	162.5	65.3	159	100	157	88	52	85	98	1
81	782090	F	22	2340	1075.6	467.5	64	151	86	159	86	56	84	95	1
82	782114	F	21	2075	2210.2	817.5	48.5	155	83	123	74	44	66	67	0
83	782123	F	27	1630	ND	92.5	60	160	87	168	76.5	42	113	66	0
84	782101	M	20	1607	ND	152.5	87	163	103	179	108	39	109	156	4
85	782024	M	30	2145	21.6	127.5	128	170	91	278	132	46	190	206	3
86	782105	F	19	3877	67.4	182.5	65.3	159	100	157	88	52	85	98	1
87	782103	F	21	2702.5	815.3	652.5	51.4	150	95	185	75.5	53	107	124	0
88	782100	F	18	2297.5	ND	1147.5	49	152	91	160	75	61	83	80	0
89	782089	M	21	1785	ND	2902.5	80	182	87	159	84	43	82	171	2

#	Clave	Sexo	Edad (años)	MIF (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	PESO (kg)	Talla	Glucosa (mg/dl)	Colest	CINTURA (cm)	HDL	LDL	Triglic (mg/dl)	Total SM
90	782097	M	24	1537.5	134.7	362.5	71.5	170	71	141	82	43	87	55	1
91	782102	M	20	2487.5	nd	1707.5	65	174	93	115	78	48	53	69	1
92	782191	F	19	3430	17648.3	2772.5	64.3	149	91	147	85.5	41	80	130	1
93	782169	F	24	2997	234.4	1312.5	56.5	156	106	142	79.5	42	55	226	2
94	782183	F	24	2397.5	ND	1357.5	68.5	151.5	83	173	94	49	93	156	2
95	782188	M	22	875	ND	27.5	83.5	169	99	223	99	77	128	88	1
96	782214	F	30	1340	1075.6	527.5	75.5	151.5	93	199	98.5	50	114	174	2
97	782198	F	26	1952.5	55.5	112.5	49	147	85	151	72.5	49	82	100	0
98	782189	M	26	2090	284.6	1227.5	96.7	166	85	151	106	63	62	130	1
99	782134	F	26	1937.5	4935.2	232.5	60	154	85	182	77	45	114	116	0
100	782154	F	20	1212.5	ND	2707.5	65.2	144	97	196	82	58	114	120	0
101	782177	M	26	1942.5	ND	397.5	69	173	97	199	85.5	32	114	264	2
102	782252	F	24	1187.5	300.8	227.5	64	154	84	155	85	55	86	70	0
103	782170	M	22	1557.5	99.3	557.5	70	169	95	209	84	55	124	149	0
104	782174	M	19	2282	79.6	102.5	94.8	175	116	150	98	46	81	114	3
105	782172	M	26	922.5	ND	377.5	78.5	166	84	269	92	46	205	86	2
106	782249	F	23	575	ND	767.5	53	157	86	119	71	50	61	42	0
107	782186	M	25	1177.5	99.3	587.5	73.5	170	89	148	84.5	40	88	102	0
108	782175	M	21	1250	37.7	632.5	53.2	165	85	118	69	40	60	92	0
109	782251	F	21	1260	131.02	332.5	55.5	158	75	161	76.5	63	87	56	0
110	782206	F	55	2727	37.7	717.5	80	153	188	196	108	41	89	328	3
111	782173	F	19	840	ND	62.5	86.5	163	91	176	103	41	114	106	1
112	782194	F	29	1192.5	ND	87.5	66.5	167	96	152	83.5	59	82	56	0
113	782184	F	21	530	21.6	92.5	52.5	149.5	84	124	73.5	53	62	47	0
114	782171	F	25	867.5	99.3	122.5	78.8	154	95	190	100	42	103	225	2
115	782176	M	21	805	34.7	167.5	66	163	94	196	80.5	53	127	80	0

#	Clave	Sexo	Edad (años)	MIF (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	PESO (kg)	Talla	Glucosa (mg/dl)	Colest	CINTURA (cm)	HDL	LDL	Triglic (mg/dl)	Total SM
116	782192	F	19	992.5	ND	ND	79	160.5	83	164	90	38	99	137	2
117	782202	F	21	542.5	ND	527.5	60	153	91	143	83.5	45	77	104	0
118	782197	F	23	1015	42.1	242.5	71.5	155	96	147	95	40	79	139	1
119	782207	F	30	810	69.3	2002.5	63.5	161	79	128	85	53	66	43	0
120	782193	M	20	2372	48.3	182.5	91.2	173	102	120	100	30	69	107	3
121	782178	M	27	587.5	ND	827.5	81	166	98	207	95	50	121	179	2
122	782168	F	24	660	ND	207.5	69.2	171	85	106	87.5	51	44	53	1
123	782155	M	24	572.5	ND	42.5	64.8	174	91	122	75	49	62	55	1
124	782160	M	19	1147.5	ND	452.5	90.5	170	94	118	102.5	34	53	155	3
125	782159	F	20	732.5	39.8	127.5	60	166.5	94	164	77.5	69	84	54	0
126	782164	F	21	662.5	20.5	272.5	49	148.5	84	196	77.5	54	124	89	0
127	782203	F	20	557.5	ND	417.5	61.5	156	79	205	93.5	38	144	112	2
128	782150	F	26	667.5	39.8	#¡REF!	66.5	155	80	247	87	79	98	349	2
129	782127	F	22	662.5	276.8	#¡REF!	55	169	87	167	77	41	102	118	0
130	782140	F	24	585	ND	#¡REF!	56	148.5	94	146	78	46	82	91	0
131	782157	F	37	907.5	ND	ND	75.5	150	95	237	90	49	127	305	2
132	782133	F	20	625	ND	ND	50	148.5	80	168	80	47	99	109	0
133	782125	F	23	679.5	154.7	3940	96	164	108	143	103.5	42	87	72	2
134	782165	F	19	954.5	42.1	2360	53	156	87	165	75	58	94	65	0
135	782125	F	23	1784.5	10.5	2270	96	164	108	143	103.5	42	87	72	2
136	782161	M	23	1699.5	39.8	1720	57.2	165.5	79	176	73.5	61	97	91	0
137	782152	F	20	1704.5	81.8	4110	68.8	156	89	143	93	58	76	43	1
138	782132	F	22	564.5	55.5	1150	74.5	158.5	91	123	104.5	46	65	60	1
139	782120	M	21	2709.5	29.4	1980	98	170	93	145	108.5	37	93	75	2
140	782116	M	23	1899.5	20.5	1310	81	178	94	177	75	46	79	258	2

#	Clave	Sexo	Edad (años)	MIF (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	PESO (kg)	Talla	Glucosa (mg/dl)	Colest	CINTURA (cm)	HDL	LDL	Triglic (mg/dl)	Total SM
141	782130	M	22	1934.5	18.8	1110	60.5	183	83	107	71	43	51	66	1
142	782129	F	21	3714.5	35.6	570	72	158	92	161	98.5	48	94	93	1
143	782138	F	22	1209.5	14.3	1190	51	154	89	166	71.5	67	89	50	0
144	782148	M	19	1594.5	146.4	1760	85.2	174	90	147	98.5	43	78	129	2
145	782144	M	22	2279.5	8.9	1740	69	169	86	145	86	40	82	113	1
146	782179	F	19	1219.5	21.05	920	47.3	161	87	116	67	58	47	55	0
147	782190	F	18	2404.5	1722.5	7370	86.5	160	102	163	97.5	35	84	220	4
148	782208	F	22	874.5	14.3	1650	50.5	160	92	146	70	39	82	127	1
149	782139	F	20	894.5	16.9	1460	80	169	93	183	102	48	121	67	1
150	782136	F	21	1254.5	568.8	1970	56	163	103	131	70.5	47	67	87	1
151	782196	F	21	1324.5	11.1	1210	56	159	94	144	75	52	80	59	0
152	782205	M	23	1349.5	75.3	2030	61.6	172.5	88	150	86	45	90	76	1
153	782146	F	26	2009.5	34.7	1210	64	149.5	93	197	84	52	127	87	0
154	782210	F	22	1324.5	29.4	1290	52.6	158	85	152	83.5	39	98	75	1
155	782140	F	24	829.5	14.7	2190	56	148.5	94	146	78	46	82	91	0
156	782213	M	19	1059.5	23.5	560	65.5	166	93	172	76.5	49	101	109	1
157	782128	M	19	5804.5	419.4	770	59	176.5	90	166	76	52	97	86	0
158	782151	F	20	1079.5	71.2	910	58	151	80	162	84	48	98	82	0
159	782195	F	19	3789.5	40.9	680	84	158.5	87	170	112.5	36	112	108	2
160	782158	F	20	2184.5	12.1	1600	71.5	154	94	147	87.5	57	69	104	0
161	782207	F	30	1139.5	15.1	1440	63.5	161	79	128	85	53	66	43	0
162	782143	F	19	1024.5	131.02	2010	71.5	168	83	140	101	39	77	119	2
163	782162	M	22	929.5	75.3	2080	66.3	163.5	96	138	89.5	49	78	57	1
164	782126	F	21	1249.5	14.3	1020	71	160	96	149	91.5	47	86	80	1
165	782142	M	30	1609.5	53.997	1030	73.5	160	91	181	87	42	114	127	1

#	Clave	Sexo	Edad (años)	MIF (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	PESO (kg)	Talla	Glucosa (mg/dl)	Colest	CINTURA (cm)	HDL	LDL	Triglic	Total SM
166	782131	F	24	644.5	8.4	890	94.5	161	80	143	116	39	86	88	2
167	782135	M	21	594.5	35.6	1060	71.3	167	84	184	81	77	95	60	0
168	782137	M	30	734.5	42.1	1300	64	163	97	212	82.5	41	148	113	1
169	782113	F	21	534.5	62.02	1110	40	144	79	140	67	60	67	66	0
170	782117	F	20	3524.5	35.6	1360	50.5	160	92	161	68.5	52	96	64	0
171	782122	F	26	524.5	13.9	1240	67	158	91	200	89.5	56	119	126	1
172	782143	F	19	1239.5	12.8	910	71.5	168	83	140	101	39	77	119	2
173	782141	F	45	674.5	15.5	5040	80	168	83	222	97	55	150	84	1
174	782106	F	21	1229.5	455.7	840	49	151	101	144	69	60	68	79	1
175	782110	F	24	764.5	21.1	840	60	150	90	188	93.5	43	113	159	2
176	782111	M	21	629.5	16.4	760	77	173	89	162	83	47	95	101	0
177	782109	F	20	474.5	10.2	1150	64	151	97	192	92	56	110	132	1
178	782145	F	22	1974.5	19.4	1100	59.3	154.3	82	185	82	49	107	144	0
179	782119	F	28	539.5	9.7	1080	77.5	161	114	202	101	41	125	179	3
180	782091	F	22	524.5	13.1	1270	48.5	143	82	197	84.5	68	117	62	0
181	782093	F	18	2099.5	47.01	5210	50.5	154	77	168	74.5	55	103	52	0
182	782051	F	19	839.5	12.4	1510	50	156	86	163	78	53	89	104	0
183	782067	F	20	1504.5	nd	4470	44.5	148	81	117	69	57	50	51	0
184	782066	M	19	1009.5	84.1	1730	55	171	83	186	76	57	115	72	0
185	782078	M	30	884.5	75.3	860	68	169	85	259	86	53	160	226	1
186	782076	M	21	1439.5	nd	4310	89.5	168	105	188	101	39	120	144	3
187	782065	F	27	729.5	62.02	1530	85	161	104	235	98	61	145	145	2
188	782068	M	23	654.5	45.7	7230	79	180	95	146	87	63	66	85	0
189	782069	F	31	444.5	16.9	740	52	150	91	165	81	41	102	110	0
190	782070	M	25	1009.5	669.3	5490	63	163	85	181	82.5	53	113	77	0

#	Clave	Sexo	Edad (años)	MIF (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	PESO (kg)	Talla	Glucosa (mg/dl)	Colest	CINTURA (cm)	HDL	LDL	Triglic (mg/dl)	Total SM
191	782075	F	23	929.5	134.2	3320	58	157	81	156	80	44	85	136	0
192	782074	F	24	549.5	11.10	560	45.5	147	82	177	76	66	99	58	0
193	782050	F	26	784.5	21.0	2290	68.5	160	87	169	91	50	99	100	1
194	782098	F	20	874.5	536.3	3020	53	148	98	174	79	45	100	147	0
195	782048	F	21	874.5	707.5	3660	102	159	90	194	121	42	127	123	1
196	782046	F	23	1199.5	nd	4470	70	153	94	179	91	46	103	151	2
197	782047	F	19	949.5	768.8	3670	51.5	159	84	167	74	53	99	77	0
198	782044	F	23	749.5	116.9	2130	83	153	87	196	108	42	100	268	2
199	782076	M	21	809.5	20.4	1140	89.5	168	105	188	101	39	120	144	3
200	782057	M	19	630	215.7	210.2	75	174	82	170	89	40	88	209	3
201	782056	F	20	635	102.3	463.9	82.5	174	93	152	89	36	75	205	3
202	782061	F	23	800	455.7	6015.4	74	163	89	153	101.5	52	87	68	1
203	782058	F	19	1225	13.2	238.2	56	150	90	152	80.5	41	86	123	0
204	782060	F	21	780	13.6	101.4	55	150	83	135	81	51	73	54	0
205	782059	F	24	710	125.7	147.5	67.5	156	87	155	89	24	89	212	3
206	782049	F	30	770	135.7	167.1	58	152	94	251	88	36	161	472	3
207	782064	F	25	930	195.7	nd	70.5	153	88	162	99	49	96	83	1
208	782043	F	25	855	55.7	409.4	57.5	164	85	126	78	47	69	52	0
209	782063	F	26	625	0	219.1	52.5	155	80	156	81	59	86	57	0
210	782055	F	18	ND	435.7	1160.1	45	152	83	112	71	44	53	75	0
211	782036	F	22	555	10.6	138.6	57.5	164	86	182	74	50	113	93	0
212	782039	M	28	770	ND	281.3	68.5	163	87	248	92	40	171	439	3
213	782037	M	21	1000	549	1209.4	51	152	99	163	89	55	91	84	1
214	782038	M	26	760	45.7	253.5	80	164	87	234	98	40	118	743	3
215	782052	F	37	600	ND	170.6	79.5	157	102	190	97	42	119	145	2

#	Clave	Sexo	Edad (años)	MIF (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	PESO (kg)	Talla	Glucosa (mg/dl)	Colest	CINTURA (cm)	HDL	LDL	Triglic (mg/dl)	Total SM
216	782062	F	20	1320	242.3	201.6	58.5	151	106	153	89	36	69	239	4
217	782032	F	33	1800	235.7	197.4	77.5	154	86	193	105	61	105	134	1
218	782025	ND	ND	ND	ND	764.8	ND	ND	95	131	ND	38	75	89	1
219	782028	M	22	1600	ND	233.2	80	164	95	114	93	19	15	399	3
220	782030	M	22	2200	235.7	922.5	57	160	89	122	78	49	60	63	1
221	782042	F	26	960	79	nd	62.5	165	83	168	85	75	73	102	0
222	782053	M	22	820	59	525.6	64	170	76	147	72.5	66	70	55	0
223	782054	F	29	1530	nd	1619	74.5	149	104	240	99	38	131	355	4
224	782041	M	19	1920	102.3	346.5	69.5	172	87	141	79	31	75	175	2
225	782031	F	19	640	172.3	493.8	54	156	87	150	74.5	46	84	99	0
226	782033	F	19	nd	445.7	814.1	49.5	154	88	146	70	52	67	135	0
227	782034	F	26	1160	146	144.4	54.5	150	84	167	70.5	56	101	52	0
228	782029	F	22	890	185.7	3803.8	49	162	89	168	87.5	84	61	114	1
229	1794836	F	19	930	149	435.8	71.1	152	87	165	98	47	87	156	3
230	1794879	F	18	1190	172.3	1428.8	55.4	159	100	169	75	49	89	153	2
231	1794813	M	20	1090	ND	144.4	85.9	174	104	135	95	38	79	88	3
232	1794851	M	18	750	ND	264.3	89.5	174.5	103	135	99	35	71	144	3
233	1795018	F	21	1080	185.7	177.9	54.7	164	97	140	73	57	69	71	0
234	1794819	F	20	910	195.7	473.6	41.3	149	97	138	65	56	64	89	0
235	1794817	F	18	1000	ND	ND	73.6	162	95	169	81	38	90	206	2
236	1794841	F	22	1000	119	258.9	80.5	163	109	155	95	29	69	285	4
237	1794871	F	20	1460	195.7	525.6	73.4	154	102	156	90	39	96	107	3
238	1794858	F	18	980	75.7	nd	52.1	156	95	158	69	56	85	84	0
239	1794811	M	18	940	150.0	1045.3	71.5	178	96	154	84	55	83	81	0
240	1794888	F	20	1060	89	444.9	60.5	164	93	159	74	64	80	75	0

#	Clave	Sexo	Edad (años)	MIF (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	PESO (kg)	Talla	Glucosa (mg/dl)	Colest	CINTURA (cm)	HDL	LDL	Triglic (mg/dl)	Total SM
241	1794866	F	18	860	89	238.2	99.2	163	88	141	101	37	71	167	3
242	1794911	F	19	680	49	248.3	51.2	140	102	141	85	39	74	138	3
243	1794741	F	19	950	195.7	nd	40.3	151	87	165	68	57	87	104	0
244	1794792	M	24	880	ND	293.3	84.3	181	95	184	98	30	107	237	3
245	1794750	F	18	1330	142.3	1160.1	67.2	167	101	131	90	44	66	105	2
246	1794793	F	18	1320	79	493.8	71.2	163	102	140	92	37	70	163	4
247	1794806	F	19	770	55.7	525.6	88.8	160	94	178	88.5	43	94	204	2
248	1794816	M	18	1450	222.3	1045.3	82.3	181	103	166	93	60	79	137	2
249	1794774	F	18	1090	215.7	361.3	52.2	156	91	143	77	51	81	57	0
250	1794880	M	18	1080	2.3	150.6	51	166	89	173	70.5	53	108	60	0
251	1794831	F	17	360	125.7	1912.7	64.5	159	86	172	88	36	104	160	3
252	1794739	M	20	920	69	1184.5	74.3	171	95	150	73.5	46	89	77	1
253	1794749	M	18	1230	135.7	620.9	63.4	172	90	169	79	46	95	141	1
254	1794735	F	18	1030	65.7	135.7	67	158	87	192	87	38	93	304	2
255	1794737	F	18	1010	2.89	147.5	66.1	158	98	159	85	33	55	356	2
256	1794771	F	18	1270	155.7	147.5	69.3	155	102	108	88	40	56	62	2
257	1794788	F	18	1190	75.7	197.4	61.3	153	96	143	86	36	75	162	2
258	1794843	F	19	1400	182.3	167.1	62.3	153	98	188	82	30	117	207	2
259	1794745	M	19	1770	ND	157	92.8	173.7	96	179	94	38	83	288	3
260	1794781	M	18	770	119	163.7	68.4	166	99	180	78	62	103	73	0
261	1795031	M	18	1210	339	197.4	72.1	176	92	156	81	42	96	90	0
262	1795032	M	18	1410	79	147.5	72.1	164	96	151	71	71	64	82	0
263	1794993	F	18	530	22.3	157	63.2	156	97	216	79	64	130	109	0
264	1795015	F	17	1710	95.7	ND	51.7	160	95	194	78	65	110	93	0
265	1794766	F	18	1080	235.0	718.4	68.7	149	100	124	97	42	67	77	2

#	Clave	Sexo	Edad (años)	MIF (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	PESO (kg)	Talla	Glucosa (mg/dl)	Colest	CINTURA (cm)	HDL	LDL	Triglic (mg/dl)	Total SM
266	1794756	M	18	640	172.3	119.8	89	167	102	141	108	27	82	162	4
267	1795039	M	18	760	155.7	95.2	91	176	106	137	104	37	68	161	4
268	1793541	F	19	670	193.4	352.9	50.6	155	87	148	77	61	73	70	0
269	1793527	M	18	980	78.3	304.1	68.6	169	95	132	88	47	71	72	1
270	1793542	M	18	1355	ND	180.7	62	168	93	160	75	53	92	76	0
271	1795001	M	18	822.5	ND	380.1	70.8	171	97	143	70	52	78	64	0
272	1795022	M	19	710	259.3	282.3	67.4	165	95	152	82	52	88	60	0
273	1795006	F	19	685	50.40	861.2	58	158	90	188	71	75	97	82	0
274	1793538	F	19	660	31	2181.4	50.9	160	95	138	73	51	71	78	0
275	1795005	F	20	612.5	163.0	n	60	163	105	195	79	41	123	156	2
276	1794995	M	18	520	22.5	139.3	62.7	168	102	194	88	25	99	560	3
277	1795038	M	20	582.5	300.3	409.5	85	170	101	158	94	33	61	320	4
278	1795045	M	22	475	ND	1396.4	127	174	99	149	123	28	81	201	3
279	1793545	M	18	377.5	107.5	715.1	55.3	165	91	125	71	47	67	54	0
280	1795029	M	17	ND	ND	689.1	54.2	175	96	161	69	49	97	73	1
281	1795041	M	17	752.5	ND	ND	64.4	173	90	146	74	47	83	80	0
282	1795047	F	18	1002.5	ND	2101.8	42.4	153	93	108	62	54	47	37	0
283	1795035	F	18	597.5	ND	252.5	74.3	144	95	162	101	42	78	210	2
284	1793535	M	19	612.5	147.8	111.5	61.1	171	93	154	76	59	69	128	0
285	1793552	M	18	810	13.1	1396.4	40.6	151	97	139	61	44	77	92	1
286	1794998	F	18	475	14.1	315.7	68.7	161	103	127	81	39	69	95	2
287	1795014	F	18	715	97.5	315.7	69.5	155	97	179	93	48	89	211	2
288	1795019	F	18	812.5	ND	ND	67.7	159	107	179	88	34	122	113	4
289	1795033	F	18	445	175.4	1745.3	65.3	154	102	145	86	42	72	155	3
290	1793318	F	19	737.5	86.30	380.1	42	156	97	142	72	53	76	67	0

#	Clave	Sexo	Edad (años)	MIF (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	PESO (kg)	Talla	Glucosa (mg/dl)	Colest	CINTURA (cm)	HDL	LDL	Triglic (mg/dl)	Total SM
291	1794865	F	18	380	ND	829.8	113	168	100	130	126	36	62	161	3
292	1793311	M	22	507.5	130.8	394.5	77.3	170	106	252	89	54	158	199	3
293	1793312	M	20	475	80.2	1296.3	64.6	180	88	211	81.5	54	120	186	1
294	1793181	F	18	517.5	137.3	352.9	49.6	149	94	156	74	47	87	108	0
295	1793314	F	18	297.5	18.0	74.1	48.1	161	97	123	72	55	58	50	0
296	1793317	F	18	890	529.2	71.4	62	154	105	190	81	43	100	234	2
297	1793310	M	20	390	141.3	57.1	73.3	177	97	136	80	42	78	81	1
298	1793166	M	19	972.5	171.9	1037.2	70.5	166	100	130	88	33	78	96	1
299	1793194	M	20	785	293.0	639.7	69.5	168	101	137	83	37	82	89	2
300	1793157	F	18	857.5	628	202.1	61.5	164	80	190	76	40	113	185	1
301	1793191	F	18	642.5	884.3	ND	77.2	168	94	152	84	63	73	82	0
302	1793168	M	20	462.5	279.1	92.6	61	168.5	93	135	80	50	72	64	0
303	1793087	F	19	760	ND	2025.1	51.5	161	91	200	72	62	116	111	0
304	1793064	F	18	592.5	ND	1951.2	43.2	152	94	141	60.5	50	80	56	0
305	1793203	M	21	955	241.0	ND	62.5	168	90	144	79	49	82	64	1
306	1793043	M	22	687.5	ND	ND	62.1	169	77	162	70	55	93	71	0
307	1793085	F	19	592.5	357.9	ND	76.5	158	87	144	83	44	69	153	1
308	1793053	M	18	470	219.5	282.3	68.9	180	101	181	83	56	98	137	1
309	1793056	M	19	612.5	176.1	409.5	57	159	101	172	83	48	96	140	1
310	1793057	M	18	687.5	184.2	ND	57.7	170	84	161	69	48	69	222	1
311	1793084	M	21	580	332.6	593.8	86.9	170	94	163	102	41	89	166	2
312	1793044	F	18	590	144.2	92.6	48.5	143	83	143	75	48	73	112	0
313	1793046	F	19	535	287.2	92.6	55.5	154	98	172	82	59	92	103	0
314	1793063	F	18	402.5	340.8	134.2	91.1	154	86	157	95	40	93	122	1
315	1793065	F	18	365	555.7	2627.0	52.5	155	88	145	74	42	85	89	0

#	Clave	Sexo	Edad (años)	MIF (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	PESO (kg)	Talla	Glucosa (mg/dl)	Colest	CINTURA (cm)	HDL	LDL	Triglic (mg/dl)	Total SM
316	1793073	F	19	800	1302.1	ND	61.5	165	91	135	80	46	69	98	0
317	1793074	F	18	1175	ND	2101.8	50.3	149	89	171	74	54	81	178	1
318	1793320	F	18	640	2132.5	ND	61.1	162	99	201	88	42	126	412	2
319	1793058	M	19	690	555.7	ND	73	178	94	164	74	78	73	66	0
320	1793059	M	18	415	316.7	120.1	62.1	176	92	149	73	51	82	78	0
321	1793070	M	17	912.5	86.30	174.1	53.3	166	84	141	72	56	73	62	0
322	1793071	M	20	885	ND	352.9	102	176	103	170	105	42	92	179	3
323	1793061	M	19	457.5	1276.1	155.8	81.4	171	84	169	88.7	35	85	247	3
324	1793062	M	18	852.5	1477.8	120.1	108	172	90	177	113	43	108	131	2
325	1793072	M	19	610	842.1	394.5	75.6	175	94	184	88	34	67	415	2
326	1793079	M	20	482.5	19.0	ND	52	162	107	165	72.5	54	89	111	1
327	1793093	M	18	292.5	266.9	120.1	92.3	168	96	141	100	39	74	140	2
328	1793051	F	24	497.5	ND	799.5	61.1	169	76	176	78	41	90	223	1
329	1793060	F	18	700	213.2	441.1	74.5	166	93	170	85	46	99	126	0
330	1793067	F	18	647.5	253.1	829.8	68.5	163	89	156	83	49	90	84	0
331	1793068	F	18	1100	86.3	0	66.8	154	93	187	78	52	103	158	1
332	1793076	F	18	910	86.3	782.5	60.5	156.5	90	122	80	35	73	72	1
333	1793080	F	21	650	33.26	0	66	152	105	149	83	58	72	93	1
334	1793083	F	22	2330	18.5	0	62.1	161	90	194	79	49	125	100	0
335	1793479	F	18	830	479.9	907.5	63.5	163	106	183	86	45	120	88	2
336	1793505	F	21	720	254.1	1782.5	74.4	162	124	168	98	36	82	251	4
337	1793289	M	21	ND	3311.4	582.5	87.5	172	90	168	96	37	83	238	3
338	1793160	M	19	910	99.9	0	65.5	176	90	124	85	33	72	96	1
339	1793150	F	21	1070	41.4	0	58	154	92	171	83	60	97	70	0
340	1793161	F	18	790	152.1	2482.5	56.7	148	99	170	83	49	107	69	0

#	Clave	Sexo	Edad (años)	MIF (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	PESO (kg)	Talla	Glucosa (mg/dl)	Colest	CINTURA (cm)	HDL	LDL	Triglic (mg/dl)	Total SM
341	1793174	F	18	920	45.7	1182.5	76	170	98	206	88	65	118	113	1
342	1793175	F	22	870	137.9	ND	62	162	91	158	68	39	96	117	1
343	1793176	F	18	1530	167.7	1582.5	81	158	95	150	87	46	82	109	1
344	1793180	F	18	960	23.6	557.5	70	170	94	113	81	43	58	62	0
345	1793208	F	19	980	175.4	1157.5	54	160	83	119	69	47	63	47	0
346	1793210	F	18	410	16.8	1032.5	63	162	97	165	82	51	69	226	1
347	1793211	F	18	490	184.2	107.5	42	163	96	151	65	40	90	106	0
348	1793144	M	18	1890	147.8	1032.5	83.3	170	96	161	74	54	80	137	0
349	1793207	M	19	710	127.6	682.5	50	168	92	177	81	55	109	66	0
350	1793179	F	21	910	ND	1682.5	50	156	89	156	72	52	91	65	0
351	1793149	M	18	950	763.7	807.5	81.7	176	104	193	89	39	123	153	3
352	1793222	M	19	750	1373.3	757.5	102	181	95	251	124	37	162	262	3
353	1793212	F	18	510	27.3	0	57.5	153	98	237	85	43	154	198	1
354	1793224	F	19	910	167.0	2957.5	53	166	92	144	69	59	75	52	0
355	1793220	F	18	990	99.9	157.5	53.2	160	94	137	71	61	63	63	0
356	1793163	M	19	1090	ND	0	57.4	173.5	105	145	72	53	75	83	1
357	1793217	M	18	1040	ND	582.5	62.5	168	88	165	80	35	93	187	2
358	1793215	F	19	1160	23.6	432.5	58	161	91	129	83	54	58	86	0
359	1793216	F	18	370	309.05	482.5	66	148	102	138	86	56	68	68	1
360	1793228	F	21	850	38.5	107.5	73	157	94	145	93	47	85	63	1
361	1793229	F	18	740	ND	1857.5	58	152	92	176	77	45	95	178	1
362	1793230	F	18	1060	ND	632.5	51	158	101	176	77	62	98	80	1
363	1793231	F	19	1160	ND	1807.5	102	159	93	142	119	43	87	58	1
364	1793234	F	17	350	64.4	82.5	70.9	166	95	169	82	50	92	133	0
365	1793214	M	18	310	316.7	907.5	64	171	96	158	74	43	102	66	1

#	Clave	Sexo	Edad (años)	MIF (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	PESO (kg)	Talla	Glucosa (mg/dl)	Colest	CINTURA (cm)	HDL	LDL	Triglic (mg/dl)	Total SM
366	1793162	M	18	530	542.3	1757.5	144	188	90	182	126	49	100	164	3
367	1793204	F	18	850	862.98	732.5	65.6	152	100	173	84	41	95	185	2
368	1793223	F	19	1750	ND	457.5	93	172	106	144	89	43	82	97	2
369	1793225	F	21	1000	435.2	282.5	86	154	90	199	107	47	113	194	2
370	1793232	F	19	350	468.3	232.5	73.4	158	99	200	92	45	117	192	2
371	1793293	M	18	320	141.3	57.5	62	170	92	152	82	46	91	75	1
372	1793277	F	18	420	26.0	1582.5	56	161	87	154	68	54	77	117	0
373	1793236	M	23	640	1185.9	682.5	78.3	171	94	144	96.5	37	82	124	2
374	1793241	M	19	1200	569.5	232.5	77	174	93	166	89	39	93	170	2
375	1793242	M	18	670	171.9	107.5	59.3	171	91	156	81.5	39	86	155	2
376	1793279	M	18	560	366.7	0	72	166	93	178	87	49	85	219	2
377	1793285	M	19	590	163.7	632.5	59	170	90	205	76	58	111	180	1
378	1793233	F	18	620	516.4	ND	41	149	93	155	68	40	64	254	1
379	1793274	M	18	750	102.8	2182.5	64	176	97	155	73	50	88	83	0
380	1793275	M	20	800	80.5	1982.5	70	176	87	187	85	59	114	70	0
381	1793272	M	18	1150	105.4	432.5	91.1	178	88	183	90	30	114	195	2
382	1793270	F	18	630	273.5	0	62	157	100	169	82	46	110	66	0
383	1793276	M	23	370	137.9	557.5	54	160	91	181	73	55	109	87	0
384	1794944	F	18	980	55.6	0	47.8	148	89	157	71	66	72	96	0
385	1793294	M	17	520	108.0	1457.5	78	175	97	172	92	48	103	106	0
386	1793295	M	20	720	80.5	ND	70	168	96	151	84	46	69	178	1
387	1793278	F	18	990	ND	607.5	55	164	92	147	74	47	71	147	0
388	1793302	F	18	580	366.7	232.5	97	169	96	151	116	38	75	188	3
389	1794992	F	19	600	100.4	32.5		164	99	170	79	68	77	123	0
390	1794965	F	18	380	324.5	1307.5	55	155	101	160	80	47	82	156	2
391	1794970	F	19	530	612.8	2707.5	56	157	102	224	81	68	121	175	2

#	Clave	Sexo	Edad (años)	MIF (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	PESO (kg)	Talla	Glucosa (mg/dl)	Colest	CINTURA (cm)	HDL	LDL	Triglic (mg/dl)	Total SM
392	1793511	M	17	1510	28.7	282.5	62.5	165	90	146	79	54	78	70	0
393	1793109	F	18	1220	28.7	0	40.9	155.5	86	155	59	52	92	54	0
394	1793128	M	17	960	44.60	0	73.1	177	95	131	88	46	72	65	0
395	1793090	F	18	440	119.1	0	50.1	158.5	89	205	70	54	114	187	1
396	1793094	F	20	830	28.0	0	55	156	90	158	78.5	47	98	65	0
397	1793097	F	18	970	21.4	7.5	61.9	155	79	160	81	55	89	79	0
398	1793098	F	20	650	148.4	0	54.5	154	95	126	78	35	77	72	1
399	1793099	F	18	790	108	332.5	64.6	158.5	94	131	79	44	70	84	0
400	1793104	F	18	770	82.5	82.5	54	157	86	152	81	46	81	127	0
401	1793105	F	18	410	141.3	ND	51.5	156	101	158	74	47	83	138	1
402	1793114	F	18	860	ND	ND	44	159	89	135	63	45	76	69	0
403	1793110	M	18	800	324.5	732.5	74.1	171.5	108	166	99	44	84	188	4
404	1793117	M	18	870	906.2	757.5	93.6	175	111	189	109	44	97	242	4
405	1793089	F	18	870	542.3	157.5	65.3	158	100	166	100	50	75	207	2
406	1793115	M	19	1810	1102.01	407.5	72.8	172.5	98	165	90	47	99	94	2
407	1793116	M	18	1200	1129.3	582.5	86.2	174	95	170	96	45	96	147	2
408	1793119	F	18	890	259.3	1807.5	53.3	158	84	142	73	65	61	81	0
409	1793155	F	18	1020	ND	2232.5	47.4	150	86	143	68	58	73	60	0
410	1793123	F	19	1160	208.10	1357.5	51.5	156	86	173	68.5	54	103	82	0
411	1793138	M	19	1270	ND	1407.5	52	161	89	157	73.5	39	100	91	1
412	1793118	F	18	ND	213.2	0	55	155.5	87	135	82	42	64	144	0
413	1793121	F	20	1480	801.9	0	54.3	156	91	184	69	55	93	182	1
414	1793134	F	20	680	203.1	857.5	57.2	152	102	197	81	61	115	105	1
415	1793154	F	21	1130	159.0	682.5	56.4	155.5	91	184	82	54	95	173	1
416	1793122	M	18	840	213.2	2107.5	52.5	162	99	162	77	57	88	86	0

#	Clave	Sexo	Edad (años)	MIF (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	PESO (kg)	Talla	Glucosa (mg/dl)	Colest	CINTURA (cm)	HDL	LDL	Triglic (mg/dl)	Total SM
417	1793153	F	18	830	48.0	7.5	45	149	81	172	72	51	107	69	0
418	1793111	M	20	1770	253.1	432.5	91.2	172	115	176	93	32	101	213	4
419	1793125	M	19	890	1276.1	557.5	89.5	170	97	169	95	40	85	218	3
420	1793137	M	18	960	175.4	1607.5	68	171	93	140	82	48	78	72	0
421	1793091	M	22	910	99.9	557.5	69.6	167	82	187	92	61	110	79	0
422	1793441	F	18	1670	241.0	ND	59.5	158	86	161	76.5	50	88	117	0
423	1793454	F	22	1030	102.4	1782.5	46.8	163	97	135	67	51	67	83	0
424	1793434	M	20	1380	906.2	882.5	72.3	168	98	123	89	49	60	69	1
425	1793124	M	21	960	301.6	482.5	66.9	174	99	196	80	55	106	173	1
426	1793439	M	18	1420	1340.1	957.5	72	172	103	161	91	43	99	97	3
427	1793431	F	18	ND	64.4	1832.5	52.9	162	87	191	62	61	106	118	0
428	1793430	M	20	770	80.2	2107.5	57.5	169	95	171	76	70	85	80	0
429	1793518	F	19	1480	ND	ND	82.5	166	101	189	98.5	35	120	168	4
430	1794935	F	18	1440	61.3	832.5	66.2	153	97	204	79	62	122	98	0
431	1793424	M	17	1080	491.8	957.5	88	170	111	146	101.5	44	82	102	3
432	1793432	M	19	1720	999.3	682.5	97.1	174	94	119	101	31	52	180	3
433	1794775	M	18	1360	63	832.5	63.9	175	89	184	76.5	52	107	125	0
434	1794990	F	18	2070	ND	ND	48.2	154	92	145	61	52	78	76	0
435	1794947	F	18	1340	72.7	2282.5	53.6	159	96	174	74.5	90	69	77	0
436	1794761	M	19	1530	1215.2	2007.5	53.6	165	98	127	76	45	69	65	1
437	1794973	F	18	910	30.2	1307.5	46.2	155	90	178	73	54	108	81	0
438	1793437	F	19	1190	1185.9	457.5	58.6	152	112	163	78.5	35	77	254	3
439	1793133	M	18	860	404.4	1707.5	96.5	167	89	209	108	30	81	698	3
440	1794707	M	18	1640	218.5	2182.5	63.9	168	92	105	84	50	49	30	0
441	1794693	F	20	1100	118.6	2457.5	55.1	150	98	162	75	56	93	65	0

#	Clave	Sexo	Edad (años)	MIF (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	PESO (kg)	Talla	Glucosa (mg/dl)	Colest	CINTURA (cm)	HDL	LDL	Triglic (mg/dl)	Total SM
442	1794630	F	18	880	445.97	1707.5	67.3	152.5	98	171	91	46	74	254	3
443	1794680	M	18	1400	503.96	1882.5	112	175	103	233	110.5	35	141	286	4
444	1794702	F	18	670	727.2	1132.5	48.1	158	87	149	71	57	81	57	0
445	1794679	M	23	800	1797.02	1807.5	77.6	183	97	207	84.5	51	135	105	0
446	1794637	F	18	1130	1590.2	ND	47.9	161	92	148	67	70	62	79	0
447	1794687	F	18	770	59.80	2182.5	56.5	164	90	188	79	56	106	132	0
448	1794644	F	17	1080	316.7	82.5	64.3	159	101	184	81	46	91	233	2
449	1794670	M	18	910	241.0	757.5	62	160	96	137	78	58	66	66	0
450	1794649	F	18	620	260.4	882.5	81.5	161.5	105	190	100	42	107	205	3
451	1794699	F	18	880	598.03	1082.5	60.7	159	95	229	86	46	142	203	2
452	1794660	M	18	1630	102.4	1332.5	52.8	172	97	136	76	45	68	116	0
453	1794688	M	20	820	35.8	0	56.5	162	95	143	73	54	76	67	0
454	1794641	F	18	ND	ND	2732.5	67.6	164	106	163	96	43	99	104	2
455	1794640	M	18	1320	260.4	257.5	89.8	168	107	158	104	47	90	104	2
456	1794653	M	18	690	280.3	1132.5	79	172	97	183	96	35	116	159	2
457	1794708	M	17	850	583.6	432.5	98.9	194	100	276	101	41	207	139	1
458	1794591	M	18	1220	213.2	1007.5	59.1	170	89	143	68	63	69	55	0
459	1794624	M	18	990	48.0	957.5	65	172	85	154	83	55	86	63	0
460	1794590	F	18	ND	ND	ND	50	160	97	175	74	57	101	83	0
461	1794586	F	21	870	148.4	0	81.6	169.5	106	170	100	42	105	115	2
462	1794587	F	18	1500	340.8	0	67	160	102	233	82	42	152	197	2
463	1794613	F	17	710	491.8	282.5	80.8	155	112	211	106	34	126	257	4
464	1793354	M	18	840	1307.7	707.5	81	178	109	165	95	38	101	131	3
465	1794559	M	18	2140	324.5	1057.5	89.3	178.5	98	161	94	38	81	208	3
466	1793333	M	18	1580	332.6	0	88.6	175	99	126	90	27	74	123	1

#	Clave	Sexo	Edad (años)	MIF (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	PESO (kg)	Talla	Glucosa (mg/dl)	Colest	CINTURA (cm)	HDL	LDL	Triglic (mg/dl)	Total SM
467	1794572	F	18	1600	445.97	1932.5	43.5	154	92	153	73	54	83	82	0
468	1794608	M	19	890	273.5	0	65.7	165	98	162	82	43	94	124	0
469	1794623	M	18	1190	ND	1607.5	57.2	162	89	143	75	51	77	73	0
470	1794593	F	20	750	1024.1	2482.5	53.6	159	96	135	74	53	72	52	0
471	1794609	F	20	580	628	832.5	86	164	99	155	75	61	81	66	0
472	1794607	F	18	1590	349.2	0	95.4	158.5	108	169	119	25	60	549	4
473	1794604	M	19	760	294.3	207.5	84.6	167	106	189	105	41	106	211	3
474	1794622	M	20	460	366.7	ND	74.9	169	102	220	90.5	34	147	195	4
475	1794625	M	18	790	ND	343.3	71.4	179	95	146	77	54	82	50	0
476	1793330	F	18	90	ND	258.9	57.1	161	100	202	79	49	119	168	1
477	1794589	F	18	120	ND	298.1	62.1	155	95	163	83	42	89	159	1
478	1794594	F	18	290	ND	253.7	75.5	160	98	173	98	37	82	268	3
479	1794565	M	20	120	ND	275.05	90.5	176	99	206	105	34	128	218	3
480	1793325	F	18	140	ND	234.1	47.8	149.5	87	150	71	60	79	56	0
481	1793398	F	18	ND	ND	Hi	39	151	83	145	70	57	78	51	0
482	1794554	F	18	520	ND	310.4	52.9	158	101	154	74	49	85	100	1
483	1794569	F	18	460	ND	403.4	51.8	151	101	199	81	48	119	159	2
484	1794560	M	17	420	ND	248.7	83.2	166.5	102	209	105	48	130	157	4
485	1793379	M	18	250	ND	503.6	53	172.5	115	161	76	49	98	70	1
486	1794619	F	17	330	ND	211.6	58.1	158	99	145	74	56	78	53	0
487	1793336	F	17	1230	ND	280.6	73.4	161	105	166	86	48	88	152	3
488	1793357	F	18	700	ND	379.8	79.1	160.5	93	223	95	34	126	315	3
489	1793368	F	17	1020	ND	364.7	76.6	160.5	101	129	95	47	64	89	2
490	1793399	F	18	1070	ND	464.6	94.6	174	96	182	114	39	107	181	3
491	1793415	M	18	2400	ND	4017.4	90.3	170	99	168	105	33	81	407	3

#	Clave	Sexo	Edad (años)	MIF (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	PESO (kg)	Talla	Glucosa (mg/dl)	Colest	CINTURA (cm)	HDL	LDL	Triglic (mg/dl)	Total SM
492	1793338	M	18	300	ND	229.4	52.6	166	103	131	72	56	64	56	1
493	1793351	M	18	1410	ND	298.1	74.5	170	65	226	89	47	148	153	2
494	1793391	M	24	930	ND	379.8	78.9	173.5	98	188	98	44	106	190	2
495	1793380	M	18	310	ND	483.7	53.5	164.5	87	130	73	47	70	64	1
496	1793390	M	18	430	ND	437.3	65.9	178	88	142	84	65	70	36	0
497	1793414	M	22	360	ND	695.3	72.4	179	98	189	82	69	104	79	0
498	1793327	F	19	250	ND	280.6	41.7	154	83	130	73	56	58	79	0
499	1793386	M	18	960	ND	474.04	67.6	159	103	191	91	37	135	93	2
500	1793355	M	21	1650	ND	387.5	75.9	174.5	97	178	94	55	96	135	1
501	1793416	M	21	1680	ND	446.2	61	172	104	201	80.5	69	115	87	1
502	1793411	F	18	2120	ND	hi	55.6	155	90	202	75	57	128	84	0
503	1793346	M	18	110	ND	483.7	111	174	107	121	112	35	62	122	3
504	1793397	M	17	190	ND	195.2	98	182.5	99	180	106	34	101	224	3
505	1793324	M	22	1930	ND	483.7	65.5	168	84	178	88	44	89	226	3
506	1793384	M	19	2000	ND	524.3	88.1	171	99	151	104	35	97	95	2
507	1793389	M	18	ND	ND	420.03	71.1	173.5	105	162	97	50	89	117	2
508	1793401	M	22	1190	ND	545.9	78	173.5	100	177	96	44	107	131	2
509	1793402	M	19	1300	ND	387.5	53.4	169	88	163	72	37	104	112	1
510	1793182	F	18	1790	975.2	770.3	78	168	86	174	89	49	94	153	2

10 REFERENCIAS

1. ASSOCIATION, A.D., *Diagnosis and classification of diabetes mellitus*. Diabetes Care, 2011. 34.
2. Hu, F.B., et al., *Elevated risk of cardiovascular disease prior to clinical diagnosis of type 2 diabetes*. Diabetes Care, 2002. 25(7): p. 1129-34.
3. Wild, S., et al., *Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030*. Diabetes Care, 2004. 27(5): p. 1047-53.
4. Renders, C.M., et al., *Interventions to improve the management of diabetes in primary care, outpatient, and community settings: a systematic review*. Diabetes Care, 2001. 24(10): p. 1821-33.
5. Fernandez Mejia, C., *Molecular Basis of Type 2 Diabetes*. Mol Endo, 2006. 87: p. 87.
6. Brownlee, M., *Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications*. Nature, 2001. 414(6865): p. 813-20.
7. Wilson, D.K., et al., *An unlikely sugar substrate site in the 1.65 Å structure of the human aldose reductase holoenzyme implicated in diabetic complications*. Science, 1992. 257(5066): p. 81-4.
8. Engerman, R.L., T.S. Kern, and M.E. Larson, *Nerve conduction and aldose reductase inhibition during 5 years of diabetes or galactosaemia in dogs*. Diabetologia, 1994. 37(2): p. 141-4.
9. *A randomized trial of sorbinil, an aldose reductase inhibitor, in diabetic retinopathy. Sorbinil Retinopathy Trial Research Group*. Arch Ophthalmol, 1990. 108(9): p. 1234-44.
10. Greene, D.A., J.C. Arezzo, and M.B. Brown, *Effect of aldose reductase inhibition on nerve conduction and morphometry in diabetic neuropathy. Zenarestat Study Group*. Neurology, 1999. 53(3): p. 580-91.
11. Stitt, A.W., et al., *Advanced glycation end products (AGEs) co-localize with AGE receptors in the retinal vasculature of diabetic and of AGE-infused rats*. Am J Pathol, 1997. 150(2): p. 523-31.
12. Horie, K., et al., *Immunohistochemical colocalization of glycoxidation products and lipid peroxidation products in diabetic renal glomerular lesions. Implication for glycoxidative stress in the pathogenesis of diabetic nephropathy*. J Clin Invest, 1997. 100(12): p. 2995-3004.
13. Degenhardt, T.P., S.R. Thorpe, and J.W. Baynes, *Chemical modification of proteins by methylglyoxal*. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 1998. 44(7): p. 1139-45.
14. Wells-Knecht, K.J., et al., *Mechanism of autoxidative glycosylation: identification of glyoxal and arabinose as intermediates in the autoxidative modification of proteins by glucose*. Biochemistry, 1995. 34(11): p. 3702-9.
15. Thornalley, P.J., *The glyoxalase system: new developments towards functional characterization of a metabolic pathway fundamental to biological life*. Biochem J, 1990. 269(1): p. 1-11.
16. Soulis-Liparota, T., et al., *Retardation by aminoguanidine of development of albuminuria, mesangial expansion, and tissue fluorescence in streptozocin-induced diabetic rat*. Diabetes, 1991. 40(10): p. 1328-34.
17. Nakamura, S., et al., *Progression of nephropathy in spontaneous diabetic rats is prevented by OPB-9195, a novel inhibitor of advanced glycation*. Diabetes, 1997. 46(5): p. 895-9.

18. Hammes, H.P., et al., *Aminoguanidine treatment inhibits the development of experimental diabetic retinopathy*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1991. 88(24): p. 11555-8.
19. Lu, M., et al., *Advanced glycation end products increase retinal vascular endothelial growth factor expression*. J Clin Invest, 1998. 101(6): p. 1219-24.
20. Keogh, R.J., M.E. Dunlop, and R.G. Larkins, *Effect of inhibition of aldose reductase on glucose flux, diacylglycerol formation, protein kinase C, and phospholipase A2 activation*. Metabolism, 1997. 46(1): p. 41-7.
21. Ishii, H., et al., *Amelioration of vascular dysfunctions in diabetic rats by an oral PKC beta inhibitor*. Science, 1996. 272(5262): p. 728-31.
22. Kolm-Litty, V., et al., *High glucose-induced transforming growth factor beta1 production is mediated by the hexosamine pathway in porcine glomerular mesangial cells*. J Clin Invest, 1998. 101(1): p. 160-9.
23. Du, X.L., et al., *Hyperglycemia-induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. 97(22): p. 12222-6.
24. Marshall, S., V. Bacote, and R.R. Traxinger, *Discovery of a metabolic pathway mediating glucose-induced desensitization of the glucose transport system. Role of hexosamine biosynthesis in the induction of insulin resistance*. J Biol Chem, 1991. 266(8): p. 4706-12.
25. Handelsman, Y., et al., *American Association of Clinical Endocrinologists Medical Guidelines for Clinical Practice for developing a diabetes mellitus comprehensive care plan*. Endocr Pract, 2011. 17 Suppl 2: p. 1-53.
26. Brown, A.F., et al., *Guidelines for improving the care of the older person with diabetes mellitus*. J Am Geriatr Soc, 2003. 51(5 Suppl Guidelines): p. S265-80.
27. Zimmet, P., M.M.A. KG, and M. Serrano Rios, *[A new international diabetes federation worldwide definition of the metabolic syndrome: the rationale and the results]*. Rev Esp Cardiol, 2005. 58(12): p. 1371-6.
28. Eckel, R.H., S.M. Grundy, and P.Z. Zimmet, *The metabolic syndrome*. Lancet, 2005. 365(9468): p. 1415-28.
29. Cortázar-Galarza, *Guía de práctica clínica sobre diabetes tipo 2* Guías de práctica clínica en el SNS2008. 181.
30. Social, I.M.d.S., *Diagnóstico y Tratamiento de la Diabetes Mellitus tipo 2*. 2009.
31. Sakaue, S., et al., *Regulation of macrophage migration inhibitory factor (MIF) expression by glucose and insulin in adipocytes in vitro*. Mol Med, 1999. 5(6): p. 361-71.
32. Calandra, T. and T. Roger, *Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of innate immunity*. Nat Rev Immunol, 2003. 3(10): p. 791-800.
33. Hanifi-Moghaddam, P., et al., *An association of autoantibody status and serum cytokine levels in type 1 diabetes*. Diabetes, 2003. 52(5): p. 1137-42.
34. Toso, C., et al., *The role of macrophage migration inhibitory factor on glucose metabolism and diabetes*. Diabetologia, 2008. 51(11): p. 1937-46.
35. Ghanim, H., et al., *Circulating mononuclear cells in the obese are in a proinflammatory state*. Circulation, 2004. 110(12): p. 1564-71.
36. Baugh, J.A., et al., *A functional promoter polymorphism in the macrophage migration inhibitory factor (MIF) gene associated with disease severity in rheumatoid arthritis*. Genes Immun, 2002. 3(3): p. 170-6.
37. Fingerle-Rowson, G., et al., *A tautomerase-null macrophage migration-inhibitory factor (MIF) gene knock-in mouse model reveals that protein interactions and not enzymatic*

- activity mediate MIF-dependent growth regulation.* Mol Cell Biol, 2009. 29(7): p. 1922-32.
38. Jesús Tapia-Jurado, R.C.-E., Carlos Alberto Peña-Pérez, Adriana Denise Zepeda-Mendoza, and A.D.B.-G. Alejandra Jimena García-Martínez, Eduardo E. Montalvo-Javé, *Bases Moleculares de la Sepsis.* Sociedad Médica del Hospital General de México, 2013.
 39. Morand, E.F., M. Leech, and J. Bernhagen, *MIF: a new cytokine link between rheumatoid arthritis and atherosclerosis.* Nat Rev Drug Discov, 2006. 5(5): p. 399-410.
 40. de Jong, Y.P., et al., *Development of chronic colitis is dependent on the cytokine MIF.* Nat Immunol, 2001. 2(11): p. 1061-6.
 41. Dandona, P., et al., *Increased plasma concentration of macrophage migration inhibitory factor (MIF) and MIF mRNA in mononuclear cells in the obese and the suppressive action of metformin.* J Clin Endocrinol Metab, 2004. 89(10): p. 5043-7.
 42. Herder, C., et al., *Association of systemic concentrations of macrophage migration inhibitory factor with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes: results from the Cooperative Health Research in the Region of Augsburg, Survey 4 (KORA S4).* Diabetes Care, 2006. 29(2): p. 368-71.
 43. Sanchez-Zamora, Y., et al., *Macrophage migration inhibitory factor is a therapeutic target in treatment of non-insulin-dependent diabetes mellitus.* FASEB J, 2010. 24(7): p. 2583-90.
 44. Moller, D.E., *Potential role of TNF-alpha in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes.* Trends Endocrinol Metab, 2000. 11(6): p. 212-7.
 45. Beutler, B. and A. Cerami, *The biology of cachectin/TNF--a primary mediator of the host response.* Annu Rev Immunol, 1989. 7: p. 625-55.
 46. Gimeno, R.E. and L.D. Klamon, *Adipose tissue as an active endocrine organ: recent advances.* Curr Opin Pharmacol, 2005. 5(2): p. 122-8.
 47. Zou, C. and J. Shao, *Role of adipocytokines in obesity-associated insulin resistance.* J Nutr Biochem, 2008. 19(5): p. 277-86.
 48. Aguirre, V., et al., *The c-Jun NH(2)-terminal kinase promotes insulin resistance during association with insulin receptor substrate-1 and phosphorylation of Ser(307).* J Biol Chem, 2000. 275(12): p. 9047-54.
 49. Hotamisligil, G.S., N.S. Shargill, and B.M. Spiegelman, *Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance.* Science, 1993. 259(5091): p. 87-91.
 50. Hotamisligil, G.S. and B.M. Spiegelman, *Tumor necrosis factor alpha: a key component of the obesity-diabetes link.* Diabetes, 1994. 43(11): p. 1271-8.
 51. Miyazaki, Y., et al., *Tumor necrosis factor alpha and insulin resistance in obese type 2 diabetic patients.* Int J Obes Relat Metab Disord, 2003. 27(1): p. 88-94.
 52. Bluher, M., J. Kratzsch, and R. Paschke, *Plasma levels of tumor necrosis factor-alpha, angiotensin II, growth hormone, and IGF-I are not elevated in insulin-resistant obese individuals with impaired glucose tolerance.* Diabetes Care, 2001. 24(2): p. 328-34.
 53. Swaroop, J.J., D. Rajarajeswari, and J.N. Naidu, *Association of TNF-alpha with insulin resistance in type 2 diabetes mellitus.* Indian J Med Res, 2012. 135: p. 127-30.
 54. Di Gregorio, G.B., et al., *Lipid and carbohydrate metabolism in mice with a targeted mutation in the IL-6 gene: absence of development of age-related obesity.* Am J Physiol Endocrinol Metab, 2004. 287(1): p. E182-7.
 55. Vozarova, B., et al., *Circulating interleukin-6 in relation to adiposity, insulin action, and insulin secretion.* Obes Res, 2001. 9(7): p. 414-7.

56. Fried, S.K., D.A. Bunkin, and A.S. Greenberg, *Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: depot difference and regulation by glucocorticoid*. J Clin Endocrinol Metab, 1998. 83(3): p. 847-50.
57. Goyal, R., et al., *Evaluation of TNF-alpha and IL-6 Levels in Obese and Non-obese Diabetics: Pre- and Postinsulin Effects*. N Am J Med Sci, 2012. 4(4): p. 180-4.
58. Li, Y., et al., *Association of tuberculosis and polymorphisms in the promoter region of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in a Southwestern China Han population*. Cytokine, 2012. 60(1): p. 64-7.
59. Renner, P., T. Roger, and T. Calandra, *Macrophage migration inhibitory factor: gene polymorphisms and susceptibility to inflammatory diseases*. Clin Infect Dis, 2005. 41 Suppl 7: p. S513-9.
60. Paralkar, V. and G. Wistow, *Cloning the human gene for macrophage migration inhibitory factor (MIF)*. Genomics, 1994. 19(1): p. 48-51.
61. Awandare, G.A., et al., *A macrophage migration inhibitory factor promoter polymorphism is associated with high-density parasitemia in children with malaria*. Genes Immun, 2006. 7(7): p. 568-75.
62. Sachidanandam, R., et al., *A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms*. Nature, 2001. 409(6822): p. 928-33.
63. Marth, G.T., et al., *A general approach to single-nucleotide polymorphism discovery*. Nat Genet, 1999. 23(4): p. 452-6.
64. Gao, L., et al., *Macrophage migration inhibitory factor in acute lung injury: expression, biomarker, and associations*. Transl Res, 2007. 150(1): p. 18-29.
65. Donn, R., et al., *Mutation screening of the macrophage migration inhibitory factor gene: positive association of a functional polymorphism of macrophage migration inhibitory factor with juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Rheum, 2002. 46(9): p. 2402-9.
66. Martin, R.J., et al., *Polymorphisms of the macrophage migration inhibitory factor gene in a UK population with Type 1 diabetes mellitus*. Diabet Med, 2010. 27(2): p. 143-9.
67. Donn, R.P., et al., *A novel 5'-flanking region polymorphism of macrophage migration inhibitory factor is associated with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis*. Arthritis Rheum, 2001. 44(8): p. 1782-5.
68. Gomez, L.M., et al., *Macrophage migration inhibitory factor gene influences the risk of developing tuberculosis in northwestern Colombian population*. Tissue Antigens, 2007. 70(1): p. 28-33.
69. Wu, J., et al., *Association of MIF promoter polymorphisms with psoriasis in a Han population in northeastern China*. J Dermatol Sci, 2009. 53(3): p. 212-5.
70. Donn, R.P., et al., *Macrophage migration inhibitory factor gene polymorphism is associated with psoriasis*. J Invest Dermatol, 2004. 123(3): p. 484-7.
71. Tripathi, G., et al., *Association of proinflammatory cytokines with end stage renal disease*. Cytokine, 2010. 50(3): p. 278-83.
72. Herder, C., et al., *Effect of macrophage migration inhibitory factor (MIF) gene variants and MIF serum concentrations on the risk of type 2 diabetes: results from the MONICA/KORA Augsburg Case-Cohort Study, 1984-2002*. Diabetologia, 2008. 51(2): p. 276-84.
73. NCBI. SNP rs755622. 2014; Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=755622.
74. Mirza, S., et al., *Type 2-diabetes is associated with elevated levels of TNF-alpha, IL-6 and adiponectin and low levels of leptin in a population of Mexican Americans: a cross-sectional study*. Cytokine, 2012. 57(1): p. 136-42.

75. Aslani, S., et al., *Genetic variation in macrophage migration inhibitory factor associated with gestational diabetes mellitus and metabolic syndrome*. *Horm Metab Res*, 2011. 43(8): p. 557-61.