

 	Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán Comité de Ética en Investigación/Comité de Investigación		Código:
			Rev. 1
	Solicitud de evaluación de protocolos de investigación		Hoja: 1 de 9

No. de registro CIIBH: FNU-2308-17/20-1

1. Título del proyecto				
Evaluación del perfil inflamatorio y metabólico del tejido adiposo de sujetos con normopeso y con exceso de peso que cursen o no con resistencia a la insulina, para conocer la relación de la adiposidad con la funcionalidad de las lipoproteínas de alta densidad y el riesgo cardiometabólico				
2. Número y versión del protocolo (incluya la fecha de la versión)				
30 junio 2017				
3. Tipo de investigación				
Tipo de investigación	Seleccione una opción			
Farmacológica				
Biomédica	X			
Epidemiológica				
Intercambiabilidad				
Otra				
4. Investigadores				
4a. Identificación				
INVESTIGADOR	Posición institucional	Posición en el proyecto	Teléfono (ext.)	Correo-E
Dr. Ivan Torre Villalvazo	Investigador en el Departamento de Fisiología de la Nutrición	Investigador principal	2809	ivan.inn@gmail.com
Dr. Armando Tovar Palacio	Jefe Departamento Fisiología de la Nutrición	Investigador asociado	2802	tovar.ar@gmail.com
Dr. Juan Gabriel Juárez Rojas	Investigador en el Departamento de Endocrinología, Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez	Investigador principal	55732911 ext. 1272	gaboyk2@gmail.com
M. en C. Aida Xochitl Medina Urrutia	Investigador en el Departamento de Endocrinología, Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez	Investigador asociado	55732911 ext. 1272	aidaxm@yahoo.com
4b. Pertinencia del grupo de investigadores con respecto del proyecto				
Investigador	Pertenencia al SNI	Experiencia en estudios de investigación		
Dr. Ivan Torre Villalvazo	SNI nivel 1	Si		
Dr. Armando Tovar Palacio	SNI nivel 3	Si		
Dr. Juan Gabriel Juárez Rojas	SNI nivel 1	Si		
M. en C. Aida Xochitl Medina Urrutia	SNI nivel 1	Si		

5. Instituciones participantes		
Institución (Razón social y dirección)	Papel que cumplirá en el proyecto	Otorgó aprobación al proyecto?
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán	Análisis de metabolitos y hormonas en suero. Análisis de proteínas y miRNAS en biopsias de tejido adiposo. Análisis histológico de biopsias. Cultivo celular.	Si
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez	Identificación y reclutamiento de participantes. Obtención de muestra de sangre y biopsia de tejido adiposo. Análisis de metabolitos y hormonas en suero. Separación de lipoproteínas.	Si
Centro coordinador (Aplicable solo para estudios multicéntricos)		

6. Patrocinio

6a. Organismos patrocinadores

Este proyecto se sometió al premio de Investigación en Biomedicina Dr. Rubén Lisker 2017

6b. Especificar si los investigadores reciben pago (monetario o en especie) por su participación específica en la investigación.

No

7. Resumen (Límite 400 palabras)

La resistencia a la insulina (RI) es una condición en la cual se altera el metabolismo de hidratos de carbono y lípidos de los diferentes órganos metabólicos. lo anterior da lugar al desarrollo de enfermedades crónico degenerativas como aterosclerosis, diabetes tipo 2 y enfermedad cardiovascular. La RI es una comorbilidad común en pacientes con exceso de peso, sin embargo numerosos pacientes con exceso de peso no presenten RI mientras que algunos pacientes normopeso cursan con RI. Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) son responsables del transporte reverso del colesterol, modulando el metabolismo de lípidos en los órganos periféricos. Las HDL también participan en la neutralización de radicales libres por su acción antioxidante, lo que incrementa sus efectos cardiometabólicos protectores. En los últimos años se han identificado miRNAS específicos dentro de las HDL, los cuales ejercen diferentes efectos sobre los órganos periféricos. Sin embargo, no se conoce el papel del tejido adiposo sobre la función de las HDL y su contenido de miRNAS, ni el impacto de esta relación sobre los parámetros metabólicos de pacientes normopeso y con exceso de peso. Por lo que en el presente estudio se plantea evaluar las características fisicoquímicas, funcionales y perfil de miRNAS de las lipoproteínas de alta densidad, aisladas de sujetos en normopeso y con exceso de peso que cursen o no con resistencia a la insulina. También se analizará la relación de las HDL con el contenido de transportadores y receptores asociados al metabolismo de lipoproteínas, así como con los marcadores inflamatorios en biopsias de tejido adiposo y con el contenido de miRNAS en adipocitos diferenciados de células precursoras. Nosotros proponemos que en comparación con los sujetos sin resistencia a la insulina, las HDL de pacientes en normopeso y con exceso de peso pero con resistencia a la insulina, presentarán características fisicoquímicas y funcionales anormales, en asociación con un perfil de miRNAS también anormal, independiente del índice de masa corporal. Estas alteraciones se asociarán con una menor expresión de proteínas asociadas al metabolismo de lipoproteínas y mayor activación inflamatoria del tejido adiposo subcutáneo. Finalmente, el perfil de miRNAS en los adipocitos en cultivo se modificará adversamente, en respuesta a estímulos que semejen la condición de resistencia a la insulina. Lo anterior podría indicar que la actividad de las HDL es modulada por la función del tejido adiposo y la transferencia de miRNAS de los adipocitos a las HDL.

8. Antecedentes

En las últimas décadas, la prevalencia de obesidad se ha incrementado drásticamente a nivel mundial, lo que ha generado un problema creciente de salud debido a su estrecha relación con el desarrollo de múltiples enfermedades metabólicas entre las que se encuentran la aterosclerosis, diabetes mellitus tipo 2 y la enfermedad cardiovascular, condiciones que ocupan los primeros lugares como causas de mortalidad en México (1-3). Una de las causas de las alteraciones metabólicas que se observan en la obesidad es la pérdida de la función adecuada del tejido adiposo. El

incremento en el volumen de tejido adiposo en la obesidad promueve en los adipocitos, el aumento en volumen (hipertrofia) o en número (hiperplasia). Se ha mostrado que los adipocitos hipertróficos presentan resistencia a la insulina y secretan mayor cantidad de citocinas proinflamatorias incluyendo interleucina 6 (IL-6), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y proteína quimioatrayente de monocitos (MCP-1) (3-5).

El tejido adiposo participa activamente en el metabolismo de lípidos del organismo ya que controla la lipólisis en el ayuno y períodos de mayor demanda de sustratos energéticos, como el ejercicio. Además, el tejido adiposo participa en el metabolismo de colesterol al captar colesterol de aceptores extracelulares (6), para llevar a cabo diferentes funciones metabólicas (7, 8). El tejido adiposo modula el contenido de colesterol en las lipoproteínas de alta densidad (HDL). En condiciones normales, el colesterol es liberado del adipocito a las HDL a través de transportadores como el cassette de unión a ATP tipo A1 (ABCA1) y el receptor pepenador B1 (SR-B1) (9-12). Experimentos en modelos celulares y animales han mostrado que la alteración en la función del tejido adiposo en estados de resistencia a la insulina, se asocia con menor lipidación de las HDL por disminución de la disponibilidad de los transportadores ABCA1 y SR-B1 (12). Adicionalmente, otros investigadores han señalado que en modelos animales y en humanos, la resistencia a la insulina se asocia con la presencia de tejido adiposo hipertrófico caracterizado por expresión y secreción elevadas de citocinas proinflamatorias y mayor reclutamiento de macrófagos (13, 14). En conjunto, estos reportes sugieren que en la resistencia a la insulina, los adipocitos tienen mayor actividad inflamatoria y menor lipidación de las HDL (12-14). Sin embargo, ningún estudio ha investigado estas anomalías en humanos con y sin resistencia a la insulina y, hasta donde sabemos ningún trabajo ha analizado el efecto de la lipidación alterada de las HDL por el tejido adiposo, sobre las actividades antioxidante, antiinflamatoria y la capacidad para promover el eflujo de colesterol de estas lipoproteínas.

Las HDL participan activamente en el metabolismo del colesterol. En las etapas iniciales del metabolismo de las HDL, la apolipoproteína AI (apo AI) sintetizada en hígado e intestino, es capaz de remover colesterol libre de los tejidos periféricos para su transporte posterior hacia el hígado. Este eflujo de colesterol es uno de los primeros pasos en el transporte reverso del colesterol y da origen a las HDL nacientes, que pueden continuar captando lípidos hasta formar HDL maduras. Estas HDL de mayor tamaño intercambian con otras lipoproteínas circulantes el colesterol que es llevado al hígado, para ser reciclado o eliminado a través de los ácidos biliares (17). Durante este proceso de remodelación de las HDL, diferentes apolipoproteínas, enzimas, transportadores y receptores, actúan concertadamente para regular las concentraciones de la lipoproteína y dar origen a partículas que difieren en su composición, tamaño, carga y actividad biológica (18). Entre las actividades ateroprotectoras más importantes de las HDL, se encuentran el eflujo y transporte reverso de colesterol (19), la inhibición de la oxidación de lípidos a través de la enzima paraoxonasa y la reducción de la síntesis de proteínas inflamatorias como la proteína C reactiva y las moléculas de adhesión celular vascular (VCAM) e intercelular (ICAM) (20, 21). Reportes de nuestro grupo y de otros investigadores han mostrado que en estados de resistencia a la insulina, las HDL tienen una distribución anormal caracterizada por menor proporción de HDL grandes y mayor proporción de HDL pequeñas. Además, las HDL de sujetos con resistencia a la insulina tienen mayor contenido de triglicéridos y menor cantidad de colesterol (22-25). Estas anomalías se asocian a menor capacidad para promover el transporte reverso de colesterol y con la reducción de sus actividades antioxidante y antiinflamatoria (22-25).

Estudios recientes han mostrado que las HDL contienen micro RNAs (miRNAs) (15). Estos pequeños RNAs tienen una función moduladora ya que en el interior de las células bloquean la traducción de diferentes RNAs mensajeros y por ende reducen la velocidad de rutas metabólicas específicas. Se ha demostrado que algunos miRNAs contenidos en las HDL pueden ingresar a células del endotelio vascular, modulando su función (16). De este modo el contenido particular de miRNAs en las HDL puede ejercer efectos importantes en los tejidos periféricos cardioprotectores. Sin embargo, no se sabe el origen de estos miRNAs en las HDL y su regulación durante los estados de obesidad y resistencia a la insulina.

9. Definición del problema

Estudios recientes en humanos, de quienes se obtuvieron biopsias de tejido adiposo abdominal subcutáneo, mostraron que el acumulo de grasa abdominal visceral evaluado por tomografía computada, se asocia con estrés inflamatorio y mayor infiltración de macrófagos en el tejido adiposo (13,28,29). Adicionalmente, experimentos realizados únicamente in vitro y en modelos animales han mostrado que la inflamación de bajo grado, expresada por

la elevación moderada de IL-6, TNF- α y MCP-1, es capaz de alterar el eflujo de colesterol de los adipocitos hacia la apo AI y las HDL, por reducción de la expresión de los transportadores ABCA1 y SR-B1 (12). En los últimos años se han identificado miRNAs específicos dentro de las HDL, los cuales ejercen diferentes efectos sobre los órganos periféricos. Sin embargo, no se conoce el papel del tejido adiposo sobre la función de las HDL y su contenido de miRNAs, ni el impacto de esta relación sobre los parámetros metabólicos de pacientes normopeso y con exceso de peso. Por tanto, este proyecto propone investigar las características fisicoquímicas, funcionales y perfil de miRNAs de las lipoproteínas de alta densidad aisladas de sujetos en normopeso y con exceso de peso que cursen o no con resistencia a la insulina y analizar su relación con el contenido de transportadores y receptores relacionados con el metabolismo de lipoproteínas, así como de marcadores inflamatorios en biopsias de tejido adiposo y el contenido de miRNAs en adipocitos diferenciados de células precursoras.

10. Justificación

Datos publicados por nuestro grupo que han analizado adultos de origen mestizo mexicano sin antecedentes de enfermedad arterial coronaria, indican que aproximadamente 80% de esta población tiene exceso de peso definido por índice de masa corporal o circunferencia de cintura (30-32). Análisis más específicos de esta misma cohorte indican que más de la mitad de la población (56.6%) tiene grasa abdominal visceral elevada y 70% de estos sujetos presentan resistencia a la insulina. Además, se encontró que aproximadamente una tercera parte (30.3%) de los sujetos con grasa abdominal visceral normal tuvieron resistencia a la insulina y ~50% tuvieron valores bajos de C-HDL (33). Numerosos estudios han demostrado que la concentración disminuida de C-HDL es predictor de morbi-mortalidad cardiovascular (17-20). Más recientemente, se ha demostrado que las anomalías en estructura y función de las HDL, predicen con mayor fuerza los eventos cardiovasculares futuros (17-20). Nosotros proponemos que en comparación con los sujetos sin resistencia a la insulina, las HDL de pacientes en normopeso y con exceso de peso pero con resistencia a la insulina, presentarán características fisicoquímicas y funcionales anormales, en asociación con un perfil de miRNAs también anormal, independiente del índice de masa corporal. Estas alteraciones se asociarán con una menor expresión de proteínas asociadas al metabolismo de lipoproteínas y mayor activación inflamatoria del tejido adiposo subcutáneo. Finalmente, el perfil de miRNAs en los adipocitos en cultivo se modificará adversamente, en respuesta a estímulos que semejen la condición de resistencia a la insulina. Lo anterior podría indicar que la actividad de las HDL es modulada por la función del tejido adiposo y la transferencia de miRNAs de los adipocitos a las HDL. El estudio de la asociación de estas características funcionales del tejido adiposo, con la estructura y función de las HDL, permitirá ampliar el conocimiento sobre algunos de los factores involucrados en la aparición de anomalías metabólicas propias de la obesidad y podría ser de utilidad para establecer estrategias más adecuadas en la prevención de las enfermedades que acompañan a este problema que ha alcanzado cifras alarmantes en México y en el mundo.

11. Hipótesis

En comparación con los sujetos sin resistencia a la insulina, las HDL de pacientes en normopeso y con exceso de peso pero con resistencia a la insulina, presentarán características fisicoquímicas y funcionales anormales, en asociación con un perfil de miRNAs también anormal, independiente del índice de masa corporal. Estas alteraciones se asociarán con una menor expresión de proteínas asociadas al metabolismo de lipoproteínas y mayor activación inflamatoria del tejido adiposo subcutáneo. Finalmente, el perfil de miRNAs en los adipocitos en cultivo se modificará adversamente, en respuesta a estímulos que semejen la condición de resistencia a la insulina. Lo anterior podría indicar que la actividad de las HDL es modulada por la función del tejido adiposo y la transferencia de miRNAs de los adipocitos a las HDL.

12. Objetivos.

Objetivo principal

Evaluar las características fisicoquímicas, funcionales y perfil de miRNAs de las lipoproteínas de alta densidad aisladas de sujetos en normopeso y con exceso de peso que cursen o no con resistencia a la insulina y analizar su relación con el contenido de transportadores y receptores relacionados con el metabolismo de lipoproteínas, así como de marcadores inflamatorios en biopsias de tejido adiposo y el contenido de miRNAs en adipocitos diferenciados de células precursoras.

Objetivos Específicos.

En pacientes con normopeso y con exceso de peso, con y sin resistencia a la insulina se obtendrá:

- 1) Suero para evaluar la concentración de:
 - a) Citocinas IL-6, TNF- α y leptina

- b) La hormona adiponectina en sus tres formas multiméricas
- c) Las moléculas de adhesión celular vascular (VCAM) e intercelular (ICAM)
- d) Glucosa e insulina, así como el perfil de lípidos
- e) La actividad paraoxonasa como indicador de la actividad antioxidante de las HDL

2) Se aislarán las HDL circulantes para:

- a) Analizar la distribución de subclases y el tamaño promedio de las partículas
- b) Determinar la composición de lípidos
- c) Evaluar la actividad antiinflamatoria
- d) Cuantificar el flujo de colesterol hacia las lipoproteínas
- e) Determinar el perfil de miRNAs transportados por las HDL

3) Biopsia de tejido adiposo abdominal subcutáneo para evaluar la abundancia de las siguientes proteínas:

- a) El transportador ABCA1
- b) Los receptores de lipoproteínas SR-B1 y LDLr
- c) Los marcadores inflamatorios p-JNK, CHOP y MCP-1
- d) La hormona adiponectina en sus tres formas multiméricas

4) Biopsia de tejido adiposo abdominal subcutáneo para realizar análisis histológico y evaluar

- a) Morfología (área de los adipocitos, estructuras en forma de corona)
- b) Contenido de macrófagos M1 y M2 por inmunofluorescencia

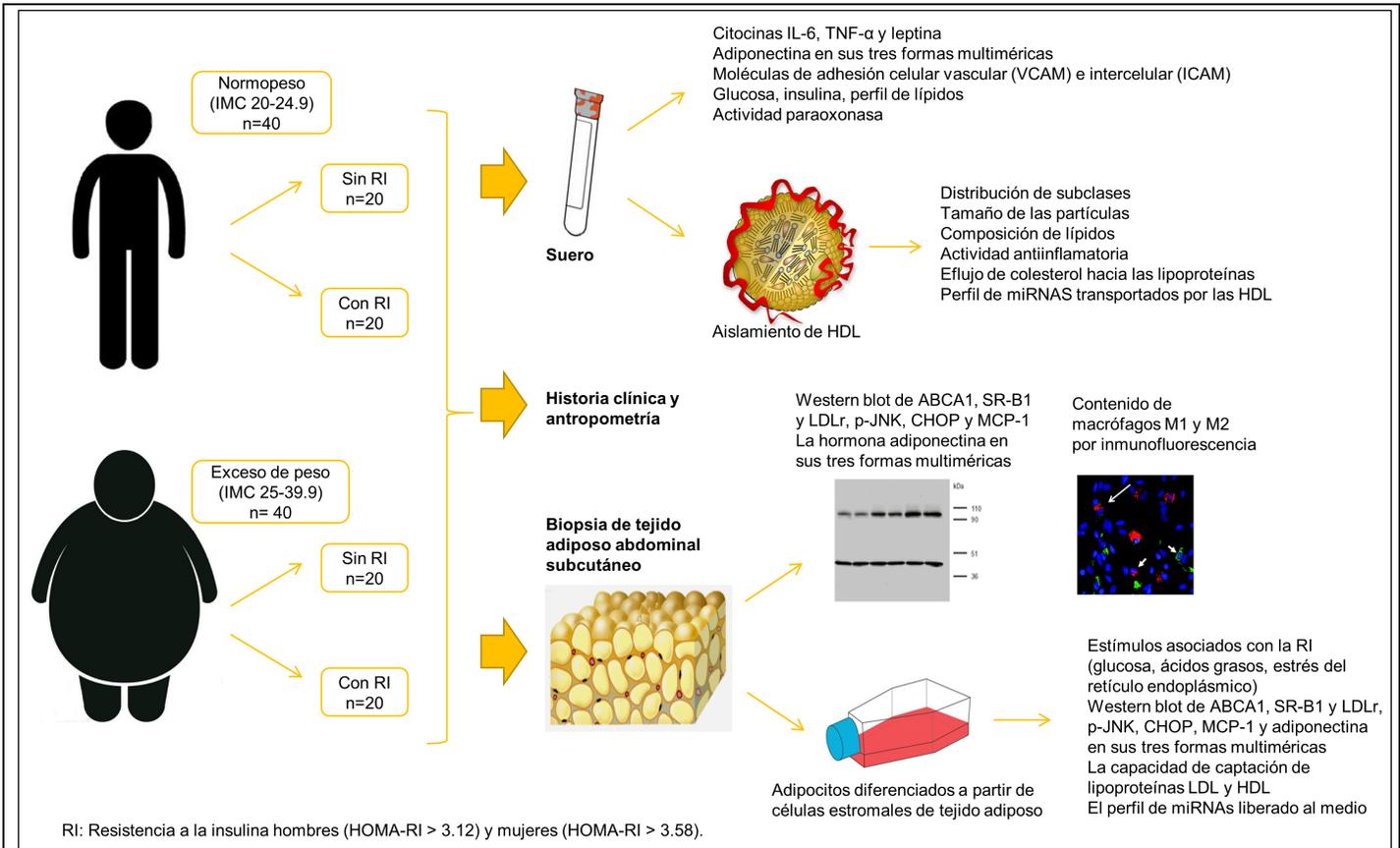
5) En adipocitos diferenciados a partir de células estromales de tejido adiposo humano, evaluar el efecto de diferentes estímulos asociados con la resistencia a la insulina sobre:

- a) El transportador ABCA1, los receptores de lipoproteínas SR-B1 y LDLr, los marcadores inflamatorios p-JNK, CHOP y MCP-1 y la hormona adiponectina en sus tres formas multiméricas
- b) La capacidad de captación de lipoproteínas LDL y HDL
- c) El perfil de miRNAs liberados al medio

13. Metodología: Diseño general.

Los participantes serán seleccionados del estudio Genética de la Enfermedad Aterosclerosa (GEA), que tiene como objetivos analizar las bases genómicas que predisponen a la enfermedad arterial coronaria (EAC) y examinar la relación de factores de riesgo tradicionales y emergentes con la aterosclerosis establecida y con la forma subclínica de la enfermedad, en población mexicana (30-33). Este estudio incluyó 1500 individuos de ambos géneros con edad de 35-70 años, sin historia de EAC. Todos los sujetos cuentan con una extensa caracterización en la que se consideró la aplicación de cuestionarios estandarizados para obtener información demográfica, socioeconómica, factores de riesgo cardiovascular, mediciones antropométricas, registro de la tensión arterial sistólica y diastólica, determinaciones bioquímicas como colesterol total, colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (C-HDL), triglicéridos (TG), apolipoproteína A, apolipoproteína B, glucosa, insulina, proteína C reactiva, adiponectina y enzimas hepáticas. A partir de esta base de datos se dividirán a los participantes en relación al índice de masa corporal (IMC) y el modelo de evaluación homeostática de resistencia a la insulina (HOMA-IR) de la siguiente manera:

Los participantes que no tengan criterios de exclusión se estratificarán de la siguiente forma: 1) sujetos normopeso y sin RI (grupo de referencia); 2) sujetos con normopeso pero con RI; 3) sujetos con exceso de peso sin RI; y 4) sujetos con exceso de peso y RI. De estos cuatro grupos se seleccionarán 20 individuos, pareando por edad y género.



14. Temporalidad del estudio.

Tipo de estudio	Seleccione una opción
Retrospectivo	
Prospectivo	X

15. Proceso de asignación de los grupos en estudio

Maniobra	Si. Los pacientes se dividirán en los grupos experimentales de acuerdo a los parámetros bioquímicos y antropométricos	No	No aplica
Aleatorización			
Estudio abierto			
Estudio ciego simple			
Estudio doble ciego			
Estudio triple ciego			

16. Descripción de las maniobras o las intervenciones

Las personas seleccionadas serán invitadas a participar en el estudio y aquellas que acepten, firmarán un consentimiento informado previo a la toma de muestra sanguínea y a la biopsia del tejido adiposo abdominal. La muestra de sangre se obtendrá previo ayuno de al menos 10 horas. En esta muestra se medirá la concentración de glucosa, colesterol total, TG y C-HDL. La biopsia de tejido adiposo será obtenida en el Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez por un médico cirujano especializado. Esta maniobra consistirá en la toma de una muestra de tejido graso subcutáneo de la región abdominal a través de una incisión no mayor de 1 cm cercana al ombligo, con previa administración de anestesia local. La muestra consistirá en dos fragmentos de 1 cm². Uno de ellos se colocará en un criotubo de 1 ml, se congelará en nitrógeno líquido y se almacenará a -70°C hasta su uso. La segunda muestra se colocará en un casete de inclusión y almacenará en formalina 10% hasta su procesamiento.

17. Tratamientos (si aplica) (incluya una tabla para cada medicamento en estudio)

Medicamento 1	Incluya la información correspondiente	No	No aplica
Nombre			
¿Cumple con "Buenas			

prácticas de fabricación”?			
Códigos, etiquetado, almacenamiento, retención y resguardo de las muestras de medicamento			
Forma farmacéutica			
Dosis			
Intervalo de administración			
Vía de administración			
Velocidad de administración			
Duración del tratamiento			
18. Seguimiento			
	Incluya la información correspondiente	No	No aplica
Número de fases del estudio	1		
Número de visitas y su programación (incluya los horarios)	1 Los pacientes serán citados una sola vez, en horario de 7 a 10 horas		
Duración de cada fase del estudio	Una hora		
Estudios de laboratorio y gabinete que serán usados	glucosa, colesterol total, TG y C-HDL		
Duración total del seguimiento		x	
Métodos de muestreo	En esa única vista se realizará la toma de muestra sanguínea y a la biopsia del tejido adiposo abdominal		
Opciones de tratamiento que se ofrecerán al término del estudio	Se ofrecerá al paciente un plan de alimentación personalizado		
19. Manejo de sobredosis			
No aplica			
20. Terapia de rescate			
No aplica			
21. Terapias concomitantes permitidas			
No aplica			
22. Terapias concomitantes prohibidas			
No aplica			
23. Definición de las variables de seguimiento			
No aplica			
24. Métodos que se usarán para la recolección de la información			
Los datos obtenidos de análisis bioquímicos y hormonales en suero, así como los datos de biología molecular se capturarán codificando a los pacientes, para garantizar el anonimato			
25. Procedimiento de monitoreo y auditorías durante el desarrollo del estudio			
Los cuatro investigadores involucrados en el proyecto tendrán acceso a la base de datos y se realizarán reuniones bimestrales para monitorear y discutir resultados			

<p>26. Criterios de falla y de éxito</p>
<p>Falla: error en determinaciones que impida la obtención de resultados confiables Éxito: capacidad de obtener resultados reproducibles en cada uno de los análisis planeados</p>
<p>27. Tamaño de muestra (por favor incluya la fórmula empleada para el cálculo y la fuente de información en que se fundamentaron los supuestos)</p>
<p>Considerando que no existen estudios en los que se haya analizado los aspectos funcionales del tejido adiposo en sujetos con peso normal y exceso de peso (excluyendo a individuos con obesidad mórbida), el cálculo del tamaño de muestra se realizó con los datos obtenidos de una muestra de sujetos con obesidad mórbida (IMC: 46.2 ± 7.5) sin diabetes, a los que se les realizó cirugía bariátrica y se les dio seguimiento por un año en el que mantuvieron una pérdida de peso significativa (IMC: 34.0 ± 4.5). La disminución en el peso incrementó la sensibilidad a la insulina (HOMA-RI basal: $2.9 [2.1-4.6]$ vs HOMA-RI final: $1.0 [0.5-1.6]$; $p < 0.001$) y redujo el porcentaje de macrófagos en el tejido adiposo (3.8 ± 2.2 vs 1.9 ± 1.2; $p = 0.01$). Tomando en cuenta la diferencia de medias en el contenido de macrófagos, así como un alfa de 0.05 y un poder estadístico de 80%, se realizó el cálculo del tamaño de muestra y se obtuvo un total de 14 participantes por grupo. Adicionando un 30% a la muestra calculada, se incluirán 20 participantes en cada uno de los grupos.</p> <p>Referencia: Hagman DK, Larson I, Kuzma JN, Cromer G, Makar K, Rubinow KB, Foster-Schubert KE, van Yserloo B, Billing PS, Landerholm RW, Crouthamel M, Flum DR, Cummings DE, Kratz M. The short-term and long-term effects of bariatric/metabolic surgery on subcutaneous adipose tissue inflammation in humans. <i>Metabolism</i> 2017; 70: 12-22.</p>
<p>28. Descripción de las técnicas, aparatos y/o instrumentos que se utilizarán en la medición (Incluidos: equipos mecánicos, electrónicos, cibernéticos especiales)</p>
<p>Análisis de proteínas de biopsia de tejido adiposo por western blot La muestra congelada se homogenizará en buffer RIPA y cuantificará con el reactivo de Folin-Ciocalteu como está descrito (35). Se separarán las proteínas en gel de poliacrilamida y transferirán a membranas de PVDF para bloquearlas con solución de bloqueo (BioRad) e incubarlas con anticuerpos específicos para las siguientes proteínas: El transportador ABCA1, Los receptores de lipoproteínas SR-B1 y LDLr, los marcadores inflamatorios p-JNK, CHOP y MCP-1 y la hormona adiponectina en sus tres formas multiméricas. Como control de carga se determinará la abundancia de actina y tubulina. Posterior al lavado del exceso de anticuerpo primario, las membranas se incubarán con un anticuerpo secundario acoplado a peroxidasa (HRP) y revelado con sustrato quimioluminiscente (Millipore). Las imágenes de las bandas se obtendrán con un digitalizador ChemiDoc (BioRad), localizado en el Departamento de Fisiología de la Nutrición del INCMNSZ.</p> <p>Análisis histológico de las biopsias de tejido adiposo Las muestras de tejido adiposo fijadas en formalina se deshidratarán en etanol, pasarán por xilenos para finalmente ser incluidas en parafina. Se realizarán cortes de 4 micras y se teñirán con hematoxilina y eosina para evaluar morfología y área de adipocitos. Esto se realizará usando el programa Adiposoft asociado a ImageJ (NIH) como se ha descrito (35). La determinación de la proporción de macrófagos M1 y M2 en el tejido adiposo se realizará por inmunofluorescencia, donde se incubarán las laminillas con anticuerpos específicos para cada población (TLR4 para M1 y CD163 para M2) para posteriormente incubarse con anticuerpos secundarios unidos a TexasRed. Las laminillas se montarán en medio de montaje con DAPI y se observarán en un microscopio de fluorescencia localizado en el Departamento de Fisiología de la Nutrición del INCMNSZ.</p> <p>Análisis de metabolitos, hormonas y citocinas en suero A las personas que hayan aceptado participar en el estudio y firmado el consentimiento informado, se les tomará una muestra de sangre venosa previo ayuno de al menos 10 horas. En esta muestra fresca se medirá la concentración de glucosa, colesterol total, TG y C-HDL, utilizando métodos enzimáticos colorimétricos (Roche/Hitachi, Alemania), en un autoanalizador Hitachi 902 (Hitachi LTD, Tokio, Japón). El colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) se calculará usando la fórmula de DeLong, et al (36). En el laboratorio de Endocrinología del Instituto Nacional de Cardiología, la reproducibilidad y precisión de las determinaciones de los lípidos y lipoproteínas son evaluadas periódicamente por el Programa de Estandarización de Lípidos del Centro de Control y Prevención de Enfermedades (LSP CDC, Atlanta, GA, EE.UU.). La proteína C reactiva de alta sensibilidad (PCR) se determinará en plasma por inmunonefelometría, en un nefelómetro BN ProSpec (DadeBehring MarburgGmbH, Alemania). La insulina se cuantificará en suero por radioinmunoanálisis (Millipore RIA ST Charles, Missouri, EE.UU.). La concentración de</p>

adiponectina en suero se evaluará mediante ELISA (R&D systems, Minneapolis EUA, Quantine Kit), con coeficientes de variación intra e interensayo menores al 10. La cuantificación de las moléculas de adhesión (VCAM e ICAM) se realizará en muestras de suero, utilizando inmunoensayos en placas de ELISA (R&D systems). El coeficiente de variación intra e interensayo de estas determinaciones es menor al 3.5 y 7.8%, respectivamente.

Aislamiento y caracterización funcional de las HDL

Determinación de subpoblaciones: Las subpoblaciones de HDL serán determinadas en HDL aisladas por ultracentrifugación secuencial, mediante electroforesis nativa en gel de poliacrilamida (gradiente 4% al 25%) (37, 38). En cada gel se utilizarán como referencia marcadores de alto peso molecular (Pharmacia, Piscataway, NJ), con diámetros conocidos (tiroglobulina 17 nm, ferritina 12.2 nm, catalasa 10.4 nm, lactato deshidrogenasa 8.2 nm, y albúmina 7,1 nm). Previa tinción con azul de Coomassie R250, las proporciones relativas de las diferentes subpoblaciones de HDL serán cuantificadas por densitometría óptica, con los siguientes intervalos: HDL3c 7.21-7.76nm, HDL3b 7.76-8.17 nm, HDL3a 8.17-8.77 nm, HDL2a 8.77-9.71 nm y HDL2b 9.71-12.93 nm. El tamaño promedio de la partícula se calcula en base a la proporción relativa de cada una de las subpoblaciones.

Composición de las HDL: La proteína total, el CT, el colesterol libre, los fosfolípidos y el contenido de triglicéridos en las HDL aisladas, serán determinados mediante ensayos enzimático-colorimétricos (Wako Diagnostics, USA), en un autoanalizador de Hitachi 902. El contenido de colesterol esterificado (CE) se calcula multiplicando la diferencia entre el colesterol total y libre por 1.67 (37, 38). La masa total de la lipoproteína se calcula como la suma de todos sus componentes.

Eflujo de colesterol: El eflujo de colesterol se determinará in-vitro utilizando la línea celular Fu5AH, siguiendo el procedimiento descrito por de la Llera Moya et al., (39) con algunas modificaciones. Brevemente, las células Fu5AH son mantenidas en medio mínimo esencial (MEM) suplementado con suero fetal bovino al 5%. Los ensayos serán realizados en placas de 24 pozos, se cultivan 250 000 células/pozo durante 24h, posteriormente las células son marcadas (1, 2-3H colesterol, Perkin-Elmer, 0.5 μ Ci/pozo), después de 24h las células son lavadas y equilibradas en MEM suplementado con albúmina al 0.5% durante 18h. Finalmente, las células son lavadas e incubadas durante 4h a 37 °C, con el suero de cada participante diluido al 2.5%, o con suero depletado de apoB (20 μ g proteína-HDL/pozo). La radiactividad del medio y las células es cuantificada, y el porcentaje de eflujo de colesterol calculado. Todas las determinaciones se realizarán por triplicado y en cada ensayo se corre un control positivo (HDL obtenidas por precipitación con dextrán-sulfato) y un suero estándar para comprobar la variabilidad del ensayo. El coeficiente de variación para este ensayo es menor al 10%.

Actividad paraoxonasa. La actividad paraoxonasa en suero se cuantificará fotométricamente (Beckman DU650, Fullerton, CA) usando paraoxon (Sigma- Aldrich D9286) como sustrato, la tasa de producción del para-nitrofenol se determina a 412 nm. La actividad paraoxonasa se expresa como la cantidad de para-nitrofenol formado en nanomoles por minuto por mililitro de suero.

Análisis del contenido de miRNAs. Los miRNAs se aislarán de las lipoproteínas HDL obtenidas por ultracentrifugación usando el kit miRNeasy Serum/Plasma (Qiagen, Germantown, MD) como se ha descrito (16). Posteriormente, se generará una biblioteca con los miRNAs obtenidos usando el kit TrueSeq Small RNA library Prep Kit (Illumina), posteriormente las muestras se cargarán en un cartucho de secuenciación MiniSeq Mid output Kit (Illumina) para ser secuenciadas en un sistema de secuenciamiento MiniSeq (Illumina). Con este análisis se pretende encontrar un pequeño número de miRNAs expresados de manera diferencial en los cuatro grupos de pacientes.

Cultivos celulares

De cinco pacientes del grupo de normopeso sin RI se obtendrán células estromales de tejido adiposo por el método de separación por colagenasa descrito por Rodbell (40). Estas células se cultivarán en cajas de cultivo de seis pozos por 7 días, hasta alcanzar confluencia. Posterior a esto, se estimulará la diferenciación a adipocitos al cultivarlos por 7 días en medio suplementado con insulina, dexametasona, IBMX y pioglitazona como se ha descrito (41). Ya diferenciados, los adipocitos se someterán a diferentes estímulos asociados con la resistencia a la insulina como son:

- 1) Medio alto en glucosa e insulina
- 2) Medio alto en ácidos grasos
- 3) Medio con tunicamicina (un inductor de estrés del retículo endoplásmico)

Las células se someterán a estos estímulos por 24 horas. Posteriormente se obtendrá proteína para evaluar ABCA1, SR-B1, LDLr, p-JNK, CHOP, MCP-1, adiponectina en sus tres formas multiméricas por western blot como se describió

<p>anteriormente. También se obtendrá RNA total usando el kit mirVana (Thermo Fisher) para determinar la expresión de los miRNAs liberados al medio utilizando los reactivos y equipos mencionados anteriormente. En un segundo experimento se incubarán las células con lipoproteínas marcadas con una molécula fluorescente (Kalen Biomedical, LLC) y se someterán al mismo diseño experimental para determinar la capacidad de captación de lipoproteínas bajo las diferentes condiciones experimentales.</p>
<p>29. Descripción de los formatos de evaluación, cuestionarios, tablas de cotejo, etc., señalando los criterios de validez, reproducibilidad y controles de calidad que se tengan de los mismos</p>
<p>No se aplicarán cuestionarios a los pacientes</p>
<p>30. ¿El protocolo implica el manejo y etiquetado de muestras biológicas?. En caso de ser aplicable, mencione los procedimientos que se usarán</p>
<p>Las muestras de sangre así como las biopsias de tejido adiposo se almacenarán en criotubos de 1.5ml, rotuladas con el número de codificación que se le asignará a cada paciente. Las muestras se almacenarán juntas en cajas de cartón para criopreservación en un ultracongelador en el Departamento de fisiología de la Nutrición del INCMNSZ.</p>
<p>31. Información correspondiente para asegurar que las muestras biológicas obtenidas no serán utilizadas para líneas celulares permanentes ni inmortales o fines no relacionados al estudio</p>
<p>De 5 pacientes sanos, adicionalmente a la obtención de biopsia de tejido adiposo para histología y determinación de miRNAs, se aislarán células del estroma vascular para hacer cultivo primario de adipocitos. Estos adipocitos se mantendrán en cultivo por 15 días, tras los cuales serán procesados para obtención de proteína y miRNAs. Ninguna célula se mantendrá más de ese tiempo.</p>
<p>32. Descripción de los grupos de tratamiento</p>
<p>A los pacientes no se les someterá a ningún tratamiento.</p>
<p>33. Mecanismos para la asignación de los tratamientos</p>
<p>No aplica</p>
<p>34. Si se emplea un grupo con placebo, incluya su justificación</p>
<p>No aplica</p>
<p>35. Criterios para el retiro prematuro de algún participante del estudio (se refiere a situaciones previamente definidas por los investigadores, que obliguen al retiro prematuro de un sujeto del estudio)</p>
<p>No aplica</p>
<p>36. Procedimientos para el retiro de algún participante del estudio (se refiere a los procedimientos a seguir por los investigadores, en caso de que se cumpla con alguno de los criterios definidos en el apartado anterior, por ejemplo: información por escrito al sujeto de estudio de su retiro y sus causas)</p>
<p>No aplica</p>
<p>37. Criterios y procedimientos para la suspensión prematura (temporal o definitiva) del estudio. (se refiere a las situaciones, previamente definidas por los investigadores, que obliguen a la suspensión del estudio, y a los procedimientos a seguir para su notificación a los comités correspondientes).</p>
<p>No aplica</p>
<p>38. Criterios de selección</p>
<p>a) Criterios de inclusión (Deberá incluir la definición de los grupos de edad, sexo y la severidad del padecimiento que serán permitidos en el estudio)</p>
<p>El grupo de pacientes normopeso estará compuesto por participantes con IMC (kg/m²) entre 20 y 24.9, mientras que el grupo con exceso de peso estará compuesto por participantes con IMC entre 25 y 39.9. La resistencia a la insulina (RI) se definirá con el HOMA-RI (insulina [μUI/mL] X glucosa [mmol] / 22.5) mayor a la percentila 75, el cual es en hombres (HOMA-RI > 3.12) y en mujeres (HOMA-RI > 3.58). Este punto de corte se calculó empleando una submuestra del estudio GEA e incluyó a sujetos sanos con IMC < 30, sin diabetes, glucosa de ayuno < 100 mg/dL, tensión arterial < 140/90 mmHg, C-HDL > de 40 mg/dL en hombres y > 50 mg/dL en mujeres, y triglicéridos < 150 mg/dL.</p>
<p>b) Criterios de exclusión</p>
<p>De los 1500 sujetos caracterizados del estudio GEA, se excluirá a aquellos con IMC ≥ 40, diabetes, tratamiento con estatinas, hipertigliceridemia severa (TG > 600 mg/dl), daño renal (tasa de filtración glomerular > 60 U/L) y con consumo elevado de alcohol > 30 g/día a la fecha de la entrevista.</p>
<p>c) Criterios de eliminación</p>

Pacientes que no deseen participar y firmar carta de consentimiento informado.

39. Desenlaces y variables

Determinaciones en Suero:

Citocinas IL-6, TNF- α y leptina

La hormona adiponectina en sus tres formas multiméricas

Las moléculas de adhesión celular vascular (VCAM) e intercelular (ICAM)

Glucosa e insulina, así como el perfil de lípidos

La actividad paraoxonasa como indicador de la actividad antioxidante de las HDL

Se aislarán las HDL circulantes para:

Analizar la distribución de subclases y el tamaño promedio de las partículas

Determinar la composición de lípidos

Evaluar la actividad antiinflamatoria

Cuantificar el eflujo de colesterol hacia las lipoproteínas

Determinar el perfil de miRNAs transportados por las HDL

En las biopsias de tejido adiposo abdominal subcutáneo se evaluará la abundancia de las siguientes proteínas:

El transportador ABCA1

Los receptores de lipoproteínas SR-B1 y LDLr

Los marcadores inflamatorios p-JNK, CHOP y MCP-1

La hormona adiponectina en sus tres formas multiméricas

En las biopsias de tejido adiposo abdominal subcutáneo se realizará análisis histológico y evaluará

Morfología (área de los adipocitos, estructuras en forma de corona)

Contenido de macrófagos M1 y M2 por inmunofluorescencia

En adipocitos diferenciados a partir de células estromales de tejido adiposo humano, evaluar el efecto de diferentes estímulos asociados con la resistencia a la insulina sobre:

El transportador ABCA1, los receptores de lipoproteínas SR-B1 y LDLr, los marcadores inflamatorios p-JNK, CHOP y MCP-1 y la hormona adiponectina en sus tres formas multiméricas

La capacidad de captación de lipoproteínas LDL y HDL

El perfil de miRNAs liberados al medio

40. Métodos que serán usados para ponerse en contacto con los pacientes

Se les llamará por teléfono para invitarlos a participar en el protocolo

41. Análisis estadístico (Descripción del plan de procesamiento y presentación de la información. Incluya la justificación de las pruebas estadísticas que serán usadas)

Las variables continuas serán expresadas en promedios y en desviación estándar y las variables dicotómicas como frecuencias y porcentajes. Las variables continuas se evaluarán mediante Z de Kolmogorov-Smirnov para analizar su tipo de distribución. En caso de que los datos no tuvieran una distribución de normal, se realizará la transformación logarítmica antes del análisis. Posteriormente, los datos se analizarán con la prueba de ANOVA de una vía. El valor significativo de p se establece en < 0.05 de una cola. Los datos serán analizados por el programa SPSS (versión 15.00 SPSS Inc. Chicago. IL).

42. Justificación del tamaño de muestra (incluya el poder del estudio y el valor de p que será considerado como significativo)

Tomando en cuenta la diferencia de medias en el contenido de macrófagos, así como un alfa de 0.05 y un poder estadístico de 80%, se realizó el cálculo del tamaño de muestra y se obtuvo un total de 14 participantes por grupo. Adicionando un 30% a la muestra calculada, se incluirán 20 participantes en cada uno de los grupos.

43. Potencial de reclutamiento (número de sujetos que se pretende reclutar)

60 pacientes

44. En caso de ser multicéntrico, incluya el número global y el número local de la muestra
45. Procedimientos para reportar desviaciones del plan estadístico original
Los investigadores se mantendrán en estrecha comunicación para reportar cualquier desviación del plan y tomar decisiones colegiadas.
46. Molestias posibles resultantes del estudio
Respecto a la toma de muestra sanguínea: Dolor en el sitio de la punción, mareo o sensación de desmayo. En cuanto a la toma de muestra del tejido adiposo subcutáneo: dolor en el área de uno a diez días posteriores a la toma de muestra.
47. Riesgos potenciales
Los riesgos de la toma de muestra sanguínea son: posibilidad de sangrado ligero o moretón en el sitio de la punción. En cuanto a la toma de muestra del tejido adiposo subcutáneo los riesgos son: posibilidad de sangrado en el área de la incisión, inflamación o infección de la herida.
48. Métodos de detección de riesgos anticipados
EL cirujano entrevistará al paciente para determinar cualquier riesgo inherente al procedimiento quirúrgico de obtención de biopsia de tejido adiposo subcutáneo del área abdominal.
49. Medidas de seguridad para el diagnóstico oportuno y prevención de los riesgos
El personal que extraerá la muestra sanguínea y la biopsia de tejido adiposo está capacitado para ello, lo que minimizará los riesgos de complicaciones.
50. Procedimientos a seguir para resolver los riesgos en caso de que se presenten
Se le proporcionará un teléfono celular de urgencias al paciente en caso de algún inconveniente.
51. Beneficios directos esperados
El paciente recibirá los resultados de sus análisis de laboratorio y se le ofrecerá un plan de alimentación personalizado
52. Beneficios indirectos esperados
El estudio de la asociación de estas características funcionales del tejido adiposo, con la estructura y función de las HDL, permitirá ampliar el conocimiento sobre algunos de los factores involucrados en la aparición de anomalías metabólicas propias de la obesidad y podría ser de utilidad para establecer estrategias más adecuadas en la prevención de las enfermedades que acompañan a este problema que ha alcanzado cifras alarmantes en México y en el mundo.
53. Ponderación general de riesgos contra beneficios del estudio propuesto
El beneficio del proyecto trasciende los posibles riesgos asociados a la toma de muestra sanguínea y obtención de biopsia de tejido adiposo subcutáneo abdominal de 60 pacientes.
54. Especifique costos (directos/indirectos, monetarios, en tiempo de participación, visitas/traslados) que la investigación genere para los sujetos del estudio
El paciente tendrá que trasladarse al Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez para el procedimiento, lo que le costará tiempo de traslado y tiempo de procedimiento, así como los gastos de traslado.
55. Especifique si las consultas, exámenes de laboratorio/gabinete y tratamientos médicos/quirúrgicos, generados con motivo del estudio serán o no cubiertos por el paciente/sujeto de investigación
Ningun procedimiento o estudio será sufragado por el paciente.
56. Informe quién cubrirá los costos asociados a la investigación
El Departamento de Fisiología de la Nutrición del INCMNSZ así como el Departamento de Endocrinología del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez aportarán una cantidad aproximada de \$10,000 pesos proveniente del presupuesto departamental. El proyecto se sometió al Premio de Investigación en Biomedicina Dr. Rubén Lisker 2017
57. En caso de que corresponda, especifica los incentivos que se ofrecerán (se entiende incentivo como un ofrecimiento o influencia que compele a realizar una acción sin que implique una desviación importante con nuestro plan general de vida; v. gr.: dar un libro por haber participado)
Nota: Una compensación/incentivo fuera de proporción se considera una actitud coercitiva
A los participantes se les proporcionarán los resultados de sus análisis bioquímicos en suero y se les ofrecerá un plan de alimentación personalizado.
58. Citas bibliográficas.

1. Esser N, Legrand-Poels S, Piette J, Scheen AJ, Paquot N. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes Res ClinPract* 2014;105(2):141-50.
2. Blüher M. Adipose tissue dysfunction contributes to obesity related metabolic diseases. *Best Pract Res ClinEndocrinolMetab* 2013;27(2):163-77.
3. Klötting N, Blüher M. Adipocyte dysfunction, inflammation and metabolic syndrome. *Rev EndocrMetabDisord* 2014;15(4):277-87.
4. Yu BL, Zhao SP, Hu JR. Cholesterol imbalance in adipocytes: a possible mechanism of adipocytes dysfunction in obesity. *Obes Rev* 2010;11(8):560-7.
5. Qatanani M, Lazar MA. Mechanisms of obesity-associated insulin resistance: many choices on the menu. *Genes Dev* 2007;21(12):1443-55.
6. Verghese PB, Arrese EL, Soulages JL. Stimulation of lipolysis enhances the rate of cholesterol efflux to HDL in adipocytes. *Mol Cell Biochem* 2007;302(1-2):241-8.
7. Dugail I, Le Lay S, Varret M, Le Liepvre X, Dagher G, Ferré P. New insights into how adipocytes sense their triglyceride stores. Is cholesterol a signal? *HormMetab Res* 2003;35(4):204-10.
8. Le Lay S, Krief S, Farnier C, Lefrère I, Le Liepvre X, Bazin R, Ferré P, Dugail I. Cholesterol, a cell size-dependent signal that regulates glucose metabolism and gene expression in adipocytes. *J BiolChem* 2001;276(20):16904-10.
9. Le Lay S, Robichon C, Le Liepvre X, Dagher G, Ferré P, Dugail I. Regulation of ABCA1 expression and cholesterol efflux during adipose differentiation of 3T3-L1 cells. *J Lipid Res* 2003;44(8):1499-507.
10. Howard AD, Verghese PB, Arrese EL, Soulages JL. Characterization of apoA-I-dependent lipid efflux from adipocytes and role of ABCA1. *Mol Cell Biochem* 2010;343(1-2):115-24.
11. deHaan W, Bhattacharjee A, Ruddle P, Kang MH, Hayden MR. ABCA1 in adipocytes regulates adipose tissue lipid content, glucose tolerance, and insulin sensitivity. *J Lipid Res* 2014;55(3):516-23.
12. Zhang Y, McGillicuddy FC, Hinkle CC, O'Neill S, Glick JM, Rothblat GH, Reilly MP. Adipocyte modulation of high-density lipoprotein cholesterol. *Circulation* 2010;121(11):1347-55.
13. Lê KA, Mahurkar S, Alderete TL, Hasson RE, Adam TC, Kim JS, Beale E, Xie C, Greenberg AS, Allayee H, Goran MI. Subcutaneous adipose tissue macrophage infiltration is associated with hepatic and visceral fat deposition, hyperinsulinemia, and stimulation of NF- κ B stress pathway. *Diabetes* 2011;60(11):2802-9.
14. Wentworth JM, Naselli G, Brown WA, Doyle L, Phipson B, Smyth GK, Wabitsch M, O'Brien PE, Harrison LC. Pro-inflammatory CD11c+CD206+ adipose tissue macrophages are associated with insulin resistance in human obesity. *Diabetes* 2010;59(7):1648-56.
15. Rayner KJ, Moore KJ. MicroRNA control of high-density lipoprotein metabolism and function. *Circ Res* 2014;114(1):183-92.
16. Niculescu LS, Simionescu N, Sanda GM, Carnuta MG, Stancu CS, Popescu AC, Popescu MR, Vlad A, Dimulescu DR, Simionescu M, Sima AV. miR-486 and miR-92a Identified in Circulating HDL Discriminate between Stable and Vulnerable Coronary Artery Disease Patients. *PLoS One* 2015;10:e0140958.
17. Uehara Y, Saku K. High-density lipoprotein and atherosclerosis: Roles of lipid transporters. *World J Cardiol* 2014;6(10):1049-59.
18. Rader DJ, Hovingh GK. HDL and cardiovascular disease. *Lancet* 2014;384(9943):618-25.
19. Alwaili K, Awan Z, Alshahrani A, Genest J. High-density lipoproteins and cardiovascular disease: 2010 update. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2010;8(3):413-23.
20. deGoma EM, deGoma RL, Rader DJ. Beyond high-density lipoprotein cholesterol levels evaluating high-density lipoprotein function as influenced by novel therapeutic approaches. *J Am Coll Cardiol* 2008;51(23):2199-211.
21. Umemoto T, Han CY, Mitra P, Averill MM, Tang C, Goodspeed L, Omer M, Subramanian S, Wang S, Den Hartigh LJ, Wei H, Kim EJ, Kim J, O'Brien KD, Chait A. Apolipoprotein AI and high-density lipoprotein have anti-inflammatory effects on adipocytes via cholesterol transporters: ATP-binding cassette A-1, ATP-binding cassette G-1, and scavenger receptor B-1. *Circ Res* 2013;112(10):1345-54.
22. Posadas-Sánchez R, Posadas-Romero C, Mendoza-Pérez E, Caracas-Portilla NA, Cardoso-Saldaña G, Medina-Urrutia A, Jorge-Galarza E, Juárez-Rojas JG. Cholesterol efflux and metabolic abnormalities associated with low high-density-lipoprotein-cholesterol and high triglycerides in statin-treated coronary men with low-density lipoprotein-cholesterol <70 mg/dl. *Am J Cardiol* 2012;109(5):636-41.
23. Medina-Urrutia A, Juárez-Rojas JG, Cardoso-Saldaña G, Jorge-Galarza E, Posadas-Sánchez R, Martínez-Alvarado R, Caracas-Portilla N, Mendoza Pérez E, Posadas-Romero C. Abnormal high-density lipoproteins in overweight

adolescents with atherogenic dyslipidemia. *Pediatrics* 2011;127(6):e1521-7.

24. Juárez-Rojas JG, Medina-Urrutia AX, Jorge-Galarza E, Caracas-Portilla NA, Posadas-Sánchez R, Cardoso-Saldaña GC, Goycochea-Robles MV, Silveira LH, Lino-Pérez L, Mas-Oliva J, Pérez-Méndez O, Posadas-Romero C. Pioglitazone improves the cardiovascular profile in patients with uncomplicated systemic lupus erythematosus: a double-blind randomized clinical trial. *Lupus* 2012;21(1):27-35.

25. Medina-Urrutia A, Juárez-Rojas JG, Martínez-Alvarado R, Jorge-Galarza E, Posadas-Sánchez R, Cardoso-Saldaña G, Caracas-Portilla N, Mendoza-Perez E, Posadas-Romero C. High-density lipoprotein subclasses distribution and composition in Mexican adolescents with low HDL cholesterol and/or high triglyceride concentrations, and its association with insulin and C-reactive protein. *Atherosclerosis* 2008;201(2):392-7.

26. Falta referencia

27. Falta referencia

28. Després JP. Body fat distribution and risk of cardiovascular disease: an update. *Circulation* 2012;126(10):1301-13.

29. Landgraf K, Rockstroh D, Wagner IV, Weise S, Tauscher R, Schwartze JT, Löffler D, Bühligen U, Wojan M, Till H, Kratzsch J, Kiess W, Blüher M, Körner A. Evidence of early alterations in adipose tissue biology and function and its association with obesity-related inflammation and insulin resistance in children. *Diabetes* 2015;64(4):1249-61.

30. González-Salazar MC, Medina-Urrutia AX, Juárez-Rojas JG, Cardoso-Saldaña GC, Posadas-Sánchez R, Martínez-Alvarado R, Jorge-Galarza E, Posadas-Romero C. [Dietary patterns and physical activity in the Mexican population: association with fatty liver]. *Gac Med Mex* 2014;150 Suppl 1:39-47.

31. Posadas-Romero C, Jorge-Galarza E, Posadas-Sánchez R, Acuña-Valerio J, Juárez-Rojas JG, Kimura-Hayama E, Medina-Urrutia A, Cardoso-Saldaña GC. Fatty liver largely explains associations of subclinical hypothyroidism with insulin resistance, metabolic syndrome, and subclinical coronary atherosclerosis. *Eur J Endocrinol* 2014;171(3):319-25.

32. Martínez-Alvarado M del R, Juárez-Rojas JG, Medina-Urrutia AX, Cardoso-Saldaña GC, González-Salazar M del C, Posadas-Sánchez R, Jorge-Galarza E, Mendoza-Pérez E, Vargas-Alarcón G, Posadas-Romero C. Association of fatty liver with cardiovascular risk factors and subclinical atherosclerosis in a Mexican population. *Rev Invest Clin* 2014;66(5):407-14.

33. Medina-Urrutia A, Posadas-Romero C, Posadas-Sánchez R, Jorge-Galarza E, Villarreal-Molina T, González-Salazar M del C, Cardoso-Saldaña G, Vargas-Alarcón G, Torres-Tamayo M, Juárez-Rojas JG. Role of adiponectin and free fatty acids on the association between abdominal visceral fat and insulin resistance. *Cardiovasc Diabetol*. 2015;14:20. doi: 10.1186/s12933-015-0184-5.

34. Hagman DK, Larson I, Kuzma JN, Cromer G, Makar K, Rubinow KB, Foster-Schubert KE, van Yserloo B, Billing PS, Landerholm RW, Crouthamel M, Flum DR, Cummings DE, Kratz M. The short-term and long-term effects of bariatric/metabolic surgery on subcutaneous adipose tissue inflammation in humans. *Metabolism* 2017; 70: 12-22.

35. Leal-Díaz AM, Noriega LG, Torre-Villalvazo I, Torres N, Alemán-Escondrillas G, López-Romero P, Sánchez-Tapia M, Aguilar-López M, Furuzawa-Carballeda J, Velázquez-Villegas LA, Avila-Nava A, Ordáz G, Gutiérrez-Urbe JA, Serna-Saldivar SO, Tovar AR. Aguardiente concentrate from *Agave salmiana* and its extracted saponins attenuated obesity and hepatic steatosis and increased *Akkermansia muciniphila* in C57BL6 mice. *Sci Rep* 2016;6 :34242.

36. DeLong DM, DeLong ER, Wood PD, Lippel K, Rifkind BM. A comparison of methods for the estimation of plasma low- and very low-density lipoprotein cholesterol. The Lipid Research Clinics Prevalence Study. *JAMA* 1986; 256:2372-2377.

37. Perusse, M, Pascot, A, Despres, JP, Couillard, C, Lamarche, B. A new method for HDL particle sizing by polyacrylamide gradient gel electrophoresis using whole plasma. *J Lipid Res* 2001; 42: 1331-4.

38. Blanche, PJ, Gong, EL, Forte, TM, Nichols, AV. Characterization of human high-density lipoproteins by gradient gel electrophoresis. *Biochim Biophys Acta* 1981; 665: 408-19.

39. M. de la Llera-Moya, V. Atger, J.L. Paul, N. Fournier, N. Moatti, P. Giral, K.E. Friday, G. Rothblat A cell system for screening human serum for ability to promote cellular cholesterol efflux *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1994;14:1056-65.

40. Rodbell M. Metabolism of isolated fat cells. i. effects of hormones on glucose metabolism and lipolysis. *J Biol Chem* 1964; 239: 375-80.

41. Lee MJ, Fried SK. Optimal protocol for the differentiation and metabolic analysis of human adipose stromal cells. *Methods Enzymol* 2014; 538: 49-65.

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL PROYECTO:
30 JUN 17 V1.0**

Investigador principal: Dr. Ivan Torre Villalvazo
Dirección del investigador: Departamento de Fisiología de la Nutrición, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán
Teléfono de contacto del investigador (incluyendo uno para emergencias 24 horas): 5531403659
Investigadores participantes: Dr. Armando Tovar Palacio, Departamento de Fisiología de la Nutrición, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.
Dr. Juan Gabriel Juárez Rojas, M. en C. Aida Xochitl Medina Urrutia, Departamento de Endocrinología, Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez.
Versión del consentimiento informado y fecha de su preparación: 1.0, 30 junio 2017

INTRODUCCIÓN:

Este documento es una invitación a participar en un estudio de investigación del Instituto. Por favor, tome todo el tiempo que sea necesario para leer este documento; pregunte al investigador sobre cualquier duda que tenga.

Procedimiento para dar su consentimiento. Usted tiene el derecho a decidir si quiere participar o no como sujeto de investigación en este proyecto. El investigador le debe explicar ampliamente los beneficios y riesgos del proyecto sin ningún tipo de presión y **usted tendrá todo el tiempo que requiera para pensar, solo o con quien usted decida consultarlo, antes de decidir si acepta participar.** Cualquiera que sea su decisión no tendrá efecto alguno sobre su atención médica en el Instituto.

Con el fin de tomar una decisión verdaderamente informada sobre si acepta participar o no en este estudio, usted debe tener el conocimiento suficiente acerca de los posibles riesgos y beneficios a su salud al participar. Este documento le dará información detallada acerca del estudio de investigación, la cual podrá comentar quien usted quiera, por ejemplo un familiar, su médico tratante, el investigador principal de este estudio o con algún miembro del equipo de investigadores. Al final, una vez leída y entendida esta información, se le invitará a que forme parte del proyecto y si usted acepta, sin ninguna presión o intimidación, se le invitará a firmar este consentimiento informado.

Este consentimiento informado cumple con los lineamientos establecidos en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, la Declaración de Helsinki, y a las Buenas Prácticas Clínicas emitidas por la Comisión Nacional de Bioética.

Al final de la explicación, usted debe entender los puntos siguientes:

- I. La justificación y los objetivos de la investigación.
- II. Los procedimientos que se utilizarán y su propósito, incluyendo la identificación de qué son procedimientos experimentales.
- III. Los riesgos o molestias previstos.
- IV. Los beneficios que se pueden observar.
- V. Los procedimientos alternativos que pudieran ser ventajosos para usted
- VI. Garantía para recibir respuestas a las preguntas y aclarar cualquier duda sobre los procedimientos, riesgos, beneficios y otros asuntos relacionados con la investigación y el

- tratamiento de la materia.
- VII. La libertad que tiene de retirar su consentimiento en cualquier momento y dejar de participar en el estudio, sin que por ello se afecte su atención y el tratamiento en el Instituto.
 - VIII. La seguridad de que no se le va a identificar de forma particular y que se mantendrá la confidencialidad de la información relativa a su privacidad.
 - IX. El compromiso del investigador de proporcionarle la información actualizada que pueda ser obtenida durante el estudio, aunque esto pudiera afectar a su disposición para continuar con su participación.
 - X. La disponibilidad del tratamiento médico y compensación a que legalmente tiene derecho, en el caso de que ocurran daños causados directamente por la investigación.

Puede solicitar más tiempo o llevar a casa este formulario antes de tomar una decisión final en los días futuros.

INVITACION A PARTICIPAR COMO SUJETO DE INVESTIGACION Y DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

Estimado(a) Sr(a). _____

Considerando su valiosa y entusiasta colaboración en el proyecto GEA, desde hace varios años, el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ), a través del grupo de investigación, le invitan a participar como sujeto de investigación en este estudio que tiene como objetivo: investigar las características de las células que conforman su tejido graso abdominal y la relación que este tiene con algunas proteínas inflamatorias y con las grasas que están en la sangre; lo cual promueve el desarrollo de enfermedades como diabetes o infartos al corazón.

La duración total del estudio es: 3 años.

Su participación en el estudio tendrá una duración de una a dos horas.

El número aproximado de participantes será: 60.

Usted fue invitado al estudio debido a que tiene las siguientes características: IMC (kg/m²) entre 20 y 24.9 ó IMC entre 25 y 39.9. HOMA-RI (insulina [μUI/mL] X glucosa [mmol] / 22.5) en hombres (HOMA-RI > 3.12) y en mujeres (HOMA-RI > 3.58).

PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

Usted acudirá una vez al Departamento de Endocrinología, si reúne las condiciones para el protocolo acepta participar, se le realizaran las siguientes pruebas y procedimientos:

1. Sera necesario acudir en ayuno de 12 horas, sin ingesta excesiva de grasas ni bebidas alcohólicas el día previo a la cita.
2. Se pedirá que llene cuestionarios para conocer sus antecedentes familiares y personales.
3. Se medirá su estatura, peso, presión arterial y frecuencia cardiaca.
4. Se le tomaran varias muestras de sangre (volumen aproximado de 25 mL)
5. Su muestra de sangre servirá para realizar estudios de colesterol, triglicéridos y glucosa.
6. Para conocer la distribución de la grasa en su cuerpo se utilizara un estudio radiológico conocido como Tomografía computada. Este es un estudio no invasivo que en este caso, no requiere la administración de medio de contraste por vía oral o intravenosa. La duración del estudio es de aproximadamente 10 minutos, sin embargo se requiere una frecuencia cardiaca estable por debajo de 80 (números de latidos cardiaco por minuto) por lo que se le pedirá un periodo de reposo antes de realizar dicho estudio.

7. Se realizara un estudio de ultrasonido a nivel de cuello para conocer si usted tiene grasa acumulada en las arterias carótidas. Este procedimiento no produce molestias, no tiene riesgo y se realiza en 5 minutos.

8. Se le realizara una biopsia de la grasa que se encuentra debajo de la piel de su abdomen. Esta biopsia consiste en la toma de una muestra de tejido graso a través de una incisión no mayor de 1 cm cercana al ombligo con previa administración de anestesia local. Esta muestra se analizara posteriormente, para conocer las características de la grasa que conforman su tejido.

RIESGOS E INCONVENIENTES

El Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, señala que la obtención de muestras biológicas representa un riesgo mínimo dentro de la investigación. Los riesgos de la toma de muestra sanguínea son: posibilidad de sangrado ligero o moretón en el sitio de la punción, mareo o sensación de desmayo y raramente puede producirse punción arterial. El personal que extraerá la muestra sanguínea está entrenado para ello, lo que minimizará los riesgos de complicaciones.

Después de la biopsia, puede sentir molestias, hinchazón y cambio de coloración en la zona que se manipulo lo que desaparecerá al paso de pocas horas. El riesgo de infección o alergia al material de sutura es muy bajo pero existe a pesar de todas las precauciones que tomemos. Se sugiere mantener limpia y seca la zona que se trató, hasta que cicatrice.

Los datos acerca de su identidad y su información médica no serán revelados en ningún momento como lo estipula la ley, por tanto, en la recolección de datos clínicos usted no enfrenta riesgos mayores a los relativos a la protección de la confidencialidad la cual será protegida mediante la codificación de las muestras y de su información.

BENEFICIOS POTENCIALES

Los exámenes de laboratorio serán sin costo para los participantes. Es necesario que usted sepa que bajo ningún concepto percibirá algún tipo de pago por la participación voluntaria en el estudio.

Con el estudio de tomografía y ultrasonido se podrá apreciar la forma en que la grasa se distribuye en su cuerpo, lo cual junto con los resultados de los análisis de sangre se podrá sugerir modificaciones o no a su estilo de vida y tratamientos médicos pertinentes para su condición médica en particular.

Los resultados de los estudios de laboratorio serán entregados 4 semanas después de su visita al Instituto Nacional de Cardiología.

Este estudio no está diseñado para beneficiarle directamente. Sin embargo, la búsqueda de nuevos marcadores de riesgo cardiovascular podría permitir desarrollar nuevos blancos terapéuticos y con esto hacer un tratamiento más personalizado de esta enfermedad. Además, gracias a su participación altruista, su comunidad se puede beneficiar significativamente al encontrar nuevas formas de atender esta complicación médica.

CONSIDERACIONES ECONÓMICAS

No se cobrará ninguna tarifa por participar en el estudio ni se le hará pago alguno. El investigador podrá cubrir los gastos de su transporte al Instituto hasta por una cantidad de \$100 pesos por visita. Para ello, deberá presentar comprobantes o facturas (si corresponde).

COMPENSACION

Si llegara a presentarse alguna complicación como resultado directo de su participación en este estudio, por parte del protocolo le proporcionaremos el tratamiento inmediato y lo referiremos, si lo amerita, al especialista médico que requiera.

ALTERNATIVAS A SU PARTICIPACIÓN:

Su participación es voluntaria. Por lo que usted puede elegir no participar en el estudio.

POSIBLES PRODUCTOS COMERCIALES DERIVABLES DEL ESTUDIO:

Los resultados o materiales obtenidos en el estudio serán propiedad del INCMNSZ. Si un producto comercial es desarrollado como resultado del estudio, tal insumo será propiedad del Instituto o quienes ellos designen. En tal caso, usted no recibirá un beneficio financiero por el mismo.

ACCIONES A SEGUIR DESPUÉS DEL TÉRMINO DEL ESTUDIO:

Usted puede solicitar los resultados de sus exámenes clínicos y de las conclusiones del estudio al Dr. Ivan Torre Villalvazo del INCMNSZ (tel. 54870900 ext 2802). La investigación es un proceso largo y complejo. El obtener los resultados finales del proyecto puede tomar varios meses.

PARTICIPACIÓN Y RETIRO DEL ESTUDIO:

Recuerde que su participación es VOLUNTARIA. Si usted decide no participar, tanto su relación habitual con el INCMNSZ como su derecho para recibir atención médica o cualquier servicio al que tenga derecho no se verán afectados.

CONFIDENCIALIDAD Y MANEJO DE SU INFORMACIÓN

Su nombre no será usado en ninguno de los reporte públicos del estudio. Las muestras biológicas obtenidas no contendrán ninguna información personal y serán codificadas con un número de serie para evitar cualquier posibilidad de identificación. Por disposición legal, las muestras biológicas, incluyendo la sangre, son catalogadas como residuos peligrosos biológico-infecciosos y por esta razón durante el curso de la investigación su muestra no podrá serle devuelta. Es posible que sus muestras biológicas, así como su información médica y/o genética, puedan ser usadas para otros proyectos de investigación análogos relacionados con la enfermedad en estudio. No podrán ser usados para estudios de investigación que estén relacionados con condiciones distintas a las estudiadas en este proyecto, y estos estudios deberán ser sometidos a aprobación por un Comité de Ética.

Sus muestras podrán ser almacenadas por los investigadores hasta por cuatro años.

Los códigos que identifican su muestra estarán sólo disponibles a los investigadores titulares, quienes están obligados por Ley a no divulgar su identidad. Estos códigos serán guardados en un archivero con llave. Sólo los investigadores tendrán acceso a ellos. El personal del estudio (monitores o auditores) podrá tener acceso a la información de los participantes.

Si bien existe la posibilidad de que su privacidad sea afectada como resultado de su participación en el estudio, su confidencialidad será protegida como lo marca la ley, asignando códigos a su

información. El código es un número de identificación que no incluye datos personales. Ninguna información sobre su persona será compartida con otros sin su autorización, excepto:

- Si es necesario para proteger sus derechos y bienestar (por ejemplo, si ha sufrido una lesión y requiere tratamiento de emergencia); o
- Es solicitado por la ley.

Si usted decide retirarse del estudio, podrá solicitar el retiro y destrucción de su material biológico y de su información. Todas las hojas de recolección de datos serán guardadas con las mismas medidas de confidencialidad, y solo los investigadores titulares tendrán acceso a los datos que tienen su nombre. Si así lo desea, usted deberá contactar al Dr. Ivan Torre Villalvazo y expresar su decisión por escrito.

El Comité de Ética en Investigación del INCMNSZ aprobó la realización de este estudio. Dicho comité es quien revisa, aprueba y supervisa los estudios de investigación en humanos en el Instituto. En el futuro, si identificamos información que consideremos importante para su salud, consultaremos con el Comité de Ética en Investigación para decidir la mejor forma de darle esta información a usted y a su médico. Además, le solicitamos que nos autorice contactarlo, en caso de ser necesario, para solicitarle información que podría ser relevante para el desarrollo de este proyecto.

Los datos científicos obtenidos como parte de este estudio podrían ser utilizados en publicaciones o presentaciones médicas. Su nombre y otra información personal serán eliminados antes de usar los datos.

Si usted lo solicita su médico de cabecera será informado sobre su participación en el estudio.

Su material genético no será usado con fines distintos a los mencionados en este documento. Si se tienen células, éstas no se utilizarán para la creación de líneas celulares inmortales. Si el investigador desea usarlos con fines distintos, deberá notificárselo y solicitarle su firma en un documento similar al que usted está leyendo, además de contar con la aprobación del Comité de Ética en Investigación.

IDENTIFICACIÓN DE LOS INVESTIGADORES:

En caso de que usted sufra un daño relacionado al estudio, por favor póngase en contacto con Dr. Ivan Torre Villalvazo en el INCMNSZ (teléfono: 5531403659).

Si usted tiene preguntas sobre el estudio, puede ponerse en contacto con el Dr. Juan Gabriel Juárez Rojas en el Departamento de Endocrinología, Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez (teléfono: 55732911 ext. 1272)

Si usted tiene preguntas acerca de sus derechos como participante en el estudio, puede hablar con el Presidente del Comité de Ética en Investigación del INCMNSZ Dr. Patricio Santillan Doherty, teléfono: 54870900 ext. 2501.

DECLARACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

He leído con cuidado este consentimiento informado, he hecho todas las preguntas que he tenido y todas han sido respondidas satisfactoriamente. Para poder participar en el estudio, estoy de acuerdo con todos los siguientes puntos:

Estoy de acuerdo en participar en el estudio descrito anteriormente. Los objetivos generales, particulares del reclutamiento y los posibles daños e inconvenientes me han sido explicados a mi entera satisfacción.

Estoy de acuerdo en donar de forma voluntaria mis muestras biológicas sangre y tejido adiposo subcutáneo para ser utilizadas en este estudio. Así mismo, mi información médica y biológica podrá ser utilizada con los mismos fines.

Estoy de acuerdo, en caso de ser necesario, que se me contacte en el futuro si el proyecto requiere coleccionar información adicional o si encuentran información relevante para mi salud.

Mi firma también indica que he recibido un duplicado de este consentimiento informado.

Por favor responda las siguientes preguntas:

	SÍ (marque por favor)	NO (marque por favor)
a. ¿Ha leído y entendido el formato de consentimiento informado, en su lengua materna?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
b. ¿Ha tenido la oportunidad de hacer preguntas y de discutir este estudio?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
c. ¿Ha recibido usted respuestas satisfactorias a todas sus preguntas?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
d. ¿Ha recibido suficiente información acerca del estudio y ha tenido el tiempo suficiente para tomar la decisión?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
e. ¿Entiende usted que su participación es voluntaria y que es libre de suspender su participación en este estudio en cualquier momento sin tener que justificar su decisión y sin que esto afecte su atención médica o sin la pérdida de los beneficios a los que de otra forma tenga derecho?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
f. ¿Entiende que puede no recibir algún beneficio directo de participar en este estudio?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
g. ¿Entiende que no está renunciando a ninguno de sus derechos legales a los que es acreedor de otra forma como sujeto en un estudio de investigación?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
h. ¿Entiende que usted recibirá un original firmado y fechado de esta Forma de Consentimiento para sus registros personales?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Declaración del paciente: Yo,

_____ declaro que es mi
decisión participar como sujeto de investigación clínica en el estudio. Mi participación es voluntaria.

Se me ha informado que puedo negarme a participar o terminar mi participación en cualquier momento del estudio sin que sufra penalidad alguna o pérdida de beneficios. Si suspendo mi participación, recibiré el tratamiento médico habitual al que tengo derecho en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán o en el Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez y no sufriré perjuicio en mi atención médica ni en futuros estudios de investigación. Yo puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos o beneficios potenciales derivados de mi participación en este estudio. También puedo obtener los resultados de mis exámenes clínicos si así los solicito.

Si tengo preguntas sobre el estudio, puedo ponerme en contacto con
_____, tel. _____.

Debo informar a los investigadores de cualquier cambio en mi estado de salud (por ejemplo, uso de nuevos medicamentos, cambios en el consumo de tabaco) o en la ciudad donde resido, tan pronto como sea posible.

He leído y entendido toda la información que me han dado sobre mi participación en el estudio. He tenido la oportunidad para discutirlo y hacer preguntas. Todas las preguntas han sido respondidas a mi satisfacción. He entendido que recibiré una copia firmada de este consentimiento informado.

Tengo claro que en caso de tener preguntas sobre mis derechos como sujeto de investigación clínica en este estudio, problemas, preocupaciones o dudas, y deseo obtener información adicional, o bien, hacer comentarios sobre el desarrollo del estudio, tengo la libertad de hablar con el presidente del Comité de Ética en Investigación del INCMNSZ INCMNSZ Dr. Patricio Santillan Doherty, teléfono: 54870900 ext. 2501.

Nombre del / de la Participante

Firma del / de la Participante

Fecha

Coloque la huella digital del participante sobre esta línea si no sabe escribir

Nombre del representante legal (si aplica)

Firma del representante legal

Fecha

Nombre del Investigador
que explicó el documento

Firma del Investigador

Fecha

Nombre del Testigo 1

Firma del Testigo 1

Fecha

Relación con el participante:

Dirección: _____

Nombre del Testigo 2

Firma del Testigo 2

Fecha

Relación con el participante:

Dirección: _____

Lugar y Fecha: _____

(El presente documento es original y consta de 8 páginas)



Viernes, 30 de junio del 2017

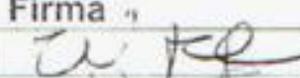
DECLARACIÓN DE LOS INVESTIGADORES

TÍTULO DEL PROYECTO: Evaluación del perfil inflamatorio y metabólico del tejido adiposo de sujetos con normopeso y con exceso de peso que cursen o no con resistencia a la insulina, para conocer la relación de la adiposidad con la funcionalidad de las lipoproteínas de alta densidad y el riesgo cardiometabólico

Número de Registro CIIBH: FNU-2308-17/20-1

Los investigadores que participamos en el proyecto arriba mencionado sometemos voluntariamente a evaluación dicho proyecto ante el Comité Institucional de Investigación Biomédica en Humanos y libremente declaramos:

- *Que conocemos todos los aspectos del estudio y contamos con la capacidad de llevarlo a buen término.*
- *Que la revisión minuciosa de los antecedentes científicos del proyecto justifican su realización y nos comprometemos a mantener un estándar científico elevado que permita obtener información útil para la sociedad.*
- *Que conocemos los riesgos potenciales a los que exponemos a los pacientes invitados a participar los cuales hemos discutido ampliamente con ellos.*
- *Que pondremos el bienestar y la seguridad de los pacientes sujetos de investigación por encima de cualquier otro objetivo.*
- *Que nos conduciremos de acuerdo con los estándares de comportamiento ético y científico aceptados nacional e internacionalmente según lo establecido por la Ley General de Salud y el Reglamento en Materia de Investigación para la Salud de México, las Pautas Éticas Internacionales para la Investigación y Experimentación Biomédica en Seres Humanos de la Organización Mundial de la Salud así como la Declaración de Helsinki.*

Nombre del investigador	Firma
Dr. Ivan Torre Villalvazo, INCMNSZ	
Dr. Armando Tovar Palacio, INCMNSZ	
Dr. Juan Gabriel Juárez Rojas, INCIC	
M. en C. Aida Xochitl Medina Urrutia, INCIC	



INSTITUTO NACIONAL DE
CIENCIAS MÉDICAS
Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN

CONFLICTO DE INTERESES

TITULO DEL PROYECTO: "EVALUACIÓN DEL PERFIL INFLAMATORIO Y METABÓLICO DEL TEJIDO ADIPOSO DE SUJETOS CON NORMOPESO Y CON EXCESO DE PESO QUE CURSEN O NO CON RESISTENCIA A LA INSULINA, PARA CONOCER LA RELACIÓN DE LA ADIPOSIDAD CON LA FUNCIONALIDAD DE LAS LIPOPROTEÍNAS DE ALTA DENSIDAD Y EL RIESGO CARDIOMETABÓLICO"

Número de Registro C.E.I.: FNU-2308-17/20-1

¿El investigador incurre en algún de los siguientes Conflictos de Interés?

En caso de que exista o no el conflicto explicar el por qué.

CONFLICTO DE INTERESES	SI	NO
El interés es un valor superior a 10.000 dólares EE.UU. cuando se suman a la familia inmediata.		X
El interés no se cotiza en la bolsa de valores.		X
El valor de los intereses aumentara o disminuirá dependiendo de los resultados de la investigación.		X
Es dueño del 5% o más de la compañía que patrocina el estudio ó del producto generado (o 1% si participan otros familiares)		X
El interés está relacionado con una patente, marga registrada, derecho de autor, o acuerdo de licencia.		X

Fecha: 30 de junio del 2017

Investigador Nombre y Firma: Dr. Ivan Torre Villalvazo, INCMNSZ

Recibido:



INSTITUTO NACIONAL DE
CIENCIAS MÉDICAS
Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN

CONFLICTO DE INTERESES

TÍTULO DEL PROYECTO: “EVALUACIÓN DEL PERFIL INFLAMATORIO Y METABÓLICO DEL TEJIDO ADIPOSO DE SUJETOS CON NORMOPESO Y CON EXCESO DE PESO QUE CURSEN O NO CON RESISTENCIA A LA INSULINA, PARA CONOCER LA RELACIÓN DE LA ADIPOSIDAD CON LA FUNCIONALIDAD DE LAS LIPOPROTEÍNAS DE ALTA DENSIDAD Y EL RIESGO CARDIOMETABÓLICO”

Número de Registro C.E.I.: FNU-2308-17/20-1

¿El investigador incurre en algún de los siguientes Conflictos de Interés?

En caso de que exista o no el conflicto explicar el por qué.

CONFLICTO DE INTERESES	SI	NO
El interés es un valor superior a 10.000 dólares EE.UU. cuando se suman a la familia inmediata.		X
El interés no se cotiza en la bolsa de valores.		X
El valor de los intereses aumentara o disminuirá dependiendo de los resultados de la investigación.		X
Es dueño del 5% o más de la compañía que patrocina el estudio ó del producto generado (o 1% si participan otros familiares)		X
El interés está relacionado con una patente, marga registrada, derecho de autor, o acuerdo de licencia.		X

Fecha: 30 de junio del 2017

Investigador Nombre y Firma: Dr. Armando Tovar Palacio, INCMNSZ

Recibido:



INSTITUTO NACIONAL DE
CIENCIAS MÉDICAS
Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN

CONFLICTO DE INTERESES

TITULO DEL PROYECTO: "EVALUACIÓN DEL PERFIL INFLAMATORIO Y METABÓLICO DEL TEJIDO ADIPOSO DE SUJETOS CON NORMOPESO Y CON EXCESO DE PESO QUE CURSEN O NO CON RESISTENCIA A LA INSULINA, PARA CONOCER LA RELACIÓN DE LA ADIPOSIDAD CON LA FUNCIONALIDAD DE LAS LIPOPROTEÍNAS DE ALTA DENSIDAD Y EL RIESGO CARDIOMETABÓLICO"

Número de Registro C.E.I.: FNU-2308-17/20-1

¿El investigador incurre en algún de los siguientes Conflictos de Interés?

En caso de que exista o no el conflicto explicar el por qué.

CONFLICTO DE INTERESES	SI	NO
El interés es un valor superior a 10.000 dólares EE.UU. cuando se suman a la familia inmediata.		X
El interés no se cotiza en la bolsa de valores.		X
El valor de los intereses aumentara o disminuirá dependiendo de los resultados de la investigación.		X
Es dueño del 5% o más de la compañía que patrocina el estudio ó del producto generado (o 1% si participan otros familiares)		X
El interés está relacionado con una patente, marga registrada, derecho de autor, o acuerdo de licencia.		X

Fecha: 30 de junio del 2017

Investigador Nombre y Firma: Dr. Juan Gabriel Juárez Rojas, INCIC

Recibido:



INSTITUTO NACIONAL DE
CIENCIAS MÉDICAS
Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN

CONFLICTO DE INTERESES

TÍTULO DEL PROYECTO: "EVALUACIÓN DEL PERFIL INFLAMATORIO Y METABÓLICO DEL TEJIDO ADIPOSEO DE SUJETOS CON NORMOPESO Y CON EXCESO DE PESO QUE CURSEN O NO CON RESISTENCIA A LA INSULINA, PARA CONOCER LA RELACIÓN DE LA ADIPOSIDAD CON LA FUNCIONALIDAD DE LAS LIPOPROTEÍNAS DE ALTA DENSIDAD Y EL RIESGO CARDIOMETABÓLICO"

Número de Registro C.E.I.: FNU-2308-17/20-1

¿El investigador incurre en algún de los siguientes Conflictos de Interés?

En caso de que exista o no el conflicto explicar el por qué.

CONFLICTO DE INTERESES	SI	NO
El interés es un valor superior a 10.000 dólares EE.UU. cuando se suman a la familia inmediata.		X
El interés no se cotiza en la bolsa de valores.		X
El valor de los intereses aumentara o disminuirá dependiendo de los resultados de la investigación.		X
Es dueño del 5% o más de la compañía que patrocina el estudio ó del producto generado (o 1% si participan otros familiares)		X
El interés está relacionado con una patente, marga registrada, derecho de autor, o acuerdo de licencia.		X

Fecha: 30 de junio del 2017

Investigador Nombre y Firma: M. en C. Aida Xochitl Medina Urrutia, INCIC

Recibido: