ResearchGate

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: https://www.researchgate.net/publication/299848881

El polimorfismo materno PPARG Pro12Ala se asocia con el desarrollo neurológico del bebé a los 18 meses de edad

Chapter · April 2016

CITATIONS
0

READS
640

14 authors, including:

Francisco Jose Torres-Espinola
University of Granada
59 PUBLICATIONS **526** CITATIONS

SEE PROFILE

M. Segura
University of Granada
43 PUBLICATIONS **1,528** CITATIONS

SEE PROFILE

Tania Anjos
Centro Pfizer-Universidad de Granada-Junta de Andalucía de Genómica e Investig…
29 PUBLICATIONS **1,241** CITATIONS

SEE PROFILE

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:

Project Nutrimenthe View project

Project Neuropsychological and emotional processing in grief processess View project

All content following this page was uploaded by Francisco Jose Torres-Espinola on 07 April 2016.

The user has requested enhancement of the downloaded file.

CAPÍTULO 16

El polimorfismo materno PPARG Pro12Ala se asocia con el desarrollo neurológico del bebé a los 18 meses de edad

Torres-Espínola FJ, Altmäe S, Segura MªT, Jerez A, Anjos T, Chisaguano M, López-Sabater MªC, Entrala V, Alvarez JC, Agil A, Florido J, Catena A, Pérez-García M, Campoy C

Resumen

El PPARg es una de las formas de los receptores activados de proliferación de los peroxisomas (PPARs), implicado en la regulación de la inflamación del sistema nervioso central (neuroproteción) y en el rendimiento cognitivo. Se han identificado diferentes variaciones genéticas del PPARG; el polimorfismo PPARG2 Pro12Ala (rs1801282) es uno de los más estudiados, habiéndose asociado a un aumento del índice de masa corporal (IMC) (obesidad), diabetes Mellitus tipo 2, enfermedades cardiovasculares, cáncer de mama, deterioro cognitivo y enfermedades neurodegenerativas.

Los objetivos del presente estudio son: 1) Determinar la influencia del polimorfismo Pro12Ala sobre la concentración de ácidos grasos en sangre y en tejido placentario. 2) Examinar la posible relación del polimorfismo PPARG Pro12Ala en mujeres embarazadas con el neurodesarrollo de sus hijos durante los primeros 18 meses de vida.

Un total de 138 parejas madre-hijo participantes en el estudio PREOBE fueron genotipadas para el polimorfismo PPARG Pro12Ala. Se obtuvieron muestras de sangre materna, de cordón umbilical y de tejido placentario en el momento del parto; en dichas muestras se determinaron las concentraciones de ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga (AGPI-CL). Los bebés fueron evaluados neuropsicológicamente a los 6 y 18 meses de edad mediante el test Bayley III.

Las variantes del Pro12Ala no parecen afectar a las concentraciones de AGPI-CL en los fosfolípidos del plasma materno ni en cordón umbilical, ni tampoco las modifican en el tejido placentario. Se ha podido comprobar un efecto del Pro12Ala sobre el neurodesarrollo de los niños a los 18 meses de edad; los niños cuyas madres tenían el genotipo natural Pro12 mostraron un mejor desarrollo cognitivo (OR = 5.11, 95% CI: 1.379-18.96, p = 0.015), del lenguaje (OR = 3.41, 95% CI: 1.35-11.24, p = 0.044), y motor (OR = 4.77, 95% CI: 1.243-18.33, p = 0.023) respecto a las portadoras del

alelo Ala. Por tanto, los resultados obtenidos en el presente estudio indican un mejor neurodesarrollo a los 18 meses de edad en los niños nacidos de madres con el genotipo Pro12 respecto a aquellos que nacieron de madres portadoras del alelo Ala; esto sugiere efectos a largo plazo de las variantes del PPARγ implicados en el metabolismo y transporte placentario de nutrientes sobre el desarrollo del cerebro fetal.

Palabras clave: P*rogramación temprana, PPARg, polimorfismo PPARG Pro12Ala, neurodesarrollo.*

Introducción

Los receptores activados de proliferación de los peroxisomas (PPARs) son factores de transcripción con funciones cruciales en la homeóstasis de los lípidos, el metabolismo de la glucosa, los procesos anti-inflamatorios y el desarrollo placentario [1, 2]. Hasta la fecha, tres isótopos, PPARa, PPARb/d, y PPARg, se han identificado en muchas especies, incluyendo seres humanos y roedores [3].

Los PPAR han sido ampliamente estudiados sobre todo, centrándose en los lípidos y el metabolismo de la glucosa, sin embargo según los estudios llevados a cabo en los últimos años están encontrando una implicación en funciones cognitivas y enfermedades neurodegenerativas [4-8]. Los PPARs se encuentran expresados en todos los tipos de celular cerebrales [4], y los últimos descubrimientos en modelos animales demuestran que el rendimiento cognitivo pude verse mejorado a través de los receptores nucleares de los PPARs [5-9].

El PPARg es miembro de los PPARs, desempeñando un papel importante en la regulación de la inflamación del sistema nervioso central y la neuroprotection [10,11], lo que contribuye al rendimiento cognitivo [11, 12]. El gen PPARg, PPARG, se localiza en el cromosoma 3p25 y codifica 3 isoformas: PPARγ1, PPARγ2 y PPARγ3. Variaciones genéticas en PPARG se han identificado hasta la fecha, el polimorfismo PPARγ2 Pro12Ala (rs1801282) es el que se está estudiando más ampliamente. La mutación genética C→G de este polimorfismo, sustituyendo la prolina (Pro) por alanina (Ala), conduce a una reducción de la afinidad en la unión del ADN y a una alteración transcripcional en los genes diana [13, 14]. El polimorfismo genético Pro12Ala se ha asociado, aunque con falta de coherencia, con un aumento del IMC [15], la obesidad [16], la diabetes Mellitus tipo 2 [17, 18], enfermedades coronarias [19], susceptibilidad de cáncer de mama [20] y otros, incluyendo el deterioro cognitivo y las enfermedades neurodegenerativas [21-23].

En el presente estudio se ha analizado la asociación entre el polimorfismo PPARG Pro12Ala en 138 mujeres embarazadas, las concentraciones de ácidos grasos en los fosfolípidos del plasma y en el tejido placentario y el posterior desarrollo neurológico de sus hijos durante los primeros 18 meses de vida, con los siguientes objetivos: *1) determinar la influencia del polimorfismo Pro12Ala sobre la concentración de ácidos grasos en sangre y en tejido placentario; 2) examinar la posible relación*

del polimorfismo PPARG Pro12Ala en mujeres embarazadas con el neurodesarrollo de sus hijos durante los primeros 18 meses de vida.

Material y Métodos

DISEÑO DE ESTUDIO Y POBLACIÓN DE ESTUDIO

El estudio PREOBE (*papel de la nutrición y genética maternas en la programación del desarrollo fetal del tejido adiposo*) (www.ClinicalTrials.gov, NCT01634464 2012), es un estudio de cohorte prospectivo observacional en parejas «madre-hijo», que fueron clasificadas en función del índice de masa corporal (IMC) pre-concepcional y el desarrollo de Diabetes Gestacional, determinando los siguientes grupos de estudio: a) embarazadas sanas Normo-peso (18.5≥IMC≤25 Kg/m^2), Sobrepeso (25≥IMC<30 Kg/m^2), Obesas (IMC≥30 Kg/m^2), y mujeres que desarrollaron Diabetes Gestacional. El estudio fue realizado en el Hospital Clínico Universitario «San Cecilio» y el Hospital Universitario «Materno infantil».

Los criterios de inclusión fueron: embarazo único, 12 a 20 semanas de gestación en el momento del reclutamiento, intención de dar a luz en uno de los dos Centros Hospitalarios mencionados. Los criterios de exclusión fueron: embarazadas participantes en otros estudios de investigación, que presentaran patologías tales como hipertensión, preclampsia, retraso del crecimiento intrauterino, infecciones, hipo- o hipertiroidismo, enfermedades renales o hepáticas, o que siguieran una dieta extravagante o vegana. Las posibles variables confusoras se evaluaron mediante cuestionarios estandarizados con información sobre el estado de salud de las madres y de sus hijos. Se obtuvieron datos tales como la edad materna, paridad, tabaquismo, ingesta de alcohol, información sobre hábitos y estilo de vida, datos socio-económicos y demográficos, nivel de estudios, IQ materno, aumento de peso durante la embarazo, tipo de parto, peso placentario, edad gestacional, puntuación de Apgar, sexo del bebé, antropometría neonatal (peso, longitud y perímetro cefálico al nacimiento), tipo de alimentación e introducción de la dieta hasta 18 meses de edad. Se evaluó el nivel de influencia de estos factores considerándolos en el modelo de análisis estadístico desarrollado.

De un total de 331 mujeres embarazadas participantes en el estudio PREOBE, 138 mujeres embarazadas y sus hijos fueron seleccionadas para el presente estudio. Las madres y sus hijos fueron genotipadas para el polimorfismo PPARG Pro12Ala; se realizó una evaluación neurológica de los bebés a los 6 y 18 meses de edad. A los 6 meses 138 niños fueron examinados utilizando las Escalas Bayley de desarrollo infantil, tercera edición (Bayley III). A los 18 meses, 129 bebés fueron sometidos a examen neurológico de nuevo con el Bayley III.

El protocolo de estudio fue aprobado por los comités de ética médica de todos los centros participantes en el estudio. Después de una cuidadosa explicación de los detalles del estudio, el consentimiento informado por escrito se obtuvo de todas las mujeres participantes.

TOMA DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS DE ADN

Se obtuvo sangre venosa materna y de cordón umbilical en el momento del parto mediante *vacutainer*. La sangre se recogió en tubos de 3.0 mL, conteniendo 7,5% de EDTA, se centrifugó a 3.500 rpm. y almacenó a -80ºC hasta el momento del análisis.

GENOTIPADO PPRAG PRO12ALA

Las madres y los bebés fueron genotipados para el polimorfismo Pro12Ala en el exón 3 del gen PPARG (rs1801282 C/G). El ADN genómico se extrajo a partir de la sangre entera usando el protocolo de extracción con fenol-cloroformo y posteriormente se realizó electroforesis en 0,8% de gel de agarosa. La genotipificación se realizó utilizando TaqMan® SNP Genotyping Assay C_1129864_10 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) on ABI PRISM 7900HT Sequence Detection System (Applied Biosystems). La PCR en tiempo real se llevó a cabo de conformidad con el kit de instrucciones y el manual de los fabricantes (Applied Biosystems, Foster City) TaqMan® SNP Genotyping Assays, usando 5 ng de ADN genómico purificado como plantilla. La amplificación se realizó durante 40 ciclos con temperatura de desnaturalización de 95ºC y la temperatura de recocido de 60ºC.

TOMA DE MUESTRAS DE SANGRE Y DE PLACENTA PARA EL ANÁLISIS DE ÁCIDOS GRASOS

La sangre para el análisis de ácidos grasos se recogió en el tubo de suero que contiene activador de coagulación y gel para la separación de suero (Vacutainer, Becton Dickinson, EE.UU.), se centrifugó a 3500 rpm durante 15 min, y una alícuota se mantuvo a -80ºC hasta el momento del análisis.

Las placentas se recogieron y pesaron inmediatamente después del parto. Se realizó una inspección visual de la placenta para estudiar áreas de necrosis o cualquier otra anormalidad. Un trozo de 1g se escindió de la mitad del radio de la placenta *(distancia entre la inserción del cordón umbilical y la periferia)*, se congelaron inmediatamente y se almacenaron a -80ºC para el análisis de lípidos. Las muestras se obtuvieron de ubicaciones idénticas de la placenta [24].

ANÁLISIS DE ÁCIDOS GRASOS EN LOS FOSFOLÍPIDOS PLASMÁTICOS

La composición de los ácidos grasos en los fosfolípidos de plasma se determinó utilizando el método desarrollado por Bondía et al., [25] Los lípidos plasmáticos se extrajeron usando diclorometano/metanol (2:1 v/v), y los fosfolípidos fue-

ron aislados por extracción en fase sólida con el uso de columnas de aminopropilo. El análisis de ésteres metílicos de ácidos grasos de los fosfolípidos del plasma se realizó por cromatografía de gases rápida con un detector de ionización de llama. Los resultados se expresaron como porcentajes (%) del total de ácidos grasos determinados.

ANÁLISIS DE ÁCIDOS GRASOS DE TEJIDO PLACENTARIO

Se analizaron los lípidos placentarios en 0,2-0,3 g de tejido siguiendo la técnica descrita por Klingler et al., [26].Brevemente, después de la descongelación de las muestras estas se lavaron varias veces en solución salina al 0,9% para eliminar los residuos sanguíneos lo máximo posible. Se realizó homogeneización y extracción de lípidos en 3 ml de cloroformo/metanol (2:1 v/v), con butil-hidroxitolueno, tripentadecanoin y dipenta-decanoil fosfaditil colina como patrones internos. Las fracciones de lípidos se aislaron por cromatografía en capa fina utilizando heptano, éter di-isopropílico, y ácido acético (60:40:3/volumen) como fase móvil. Los metil-ésteres de los ácidos grasos de las distintas fracciones de plasma y triglicéridos se obtuvieron por reacción con HCl metanólico. Los metyl-ésteres de los ácidos grasos se analizaron mediante cromatografía de gas-líquido capilar en un cromatógrafo de gases Hewlett-Packard 5890 serie II (Hewlett-Packard, Waldbronn, Alemania) equipado con una columna BPX70 (SGE, Weiterstadt, Alemania, longitud: 25 m, interior diámetro: 0,22 mm) e identificado por comparación con patrones auténticos (Nu-Chek-Pre, Elysian, MN). Los resultados se expresan como porcentajes (%) del total de ácidos grasos detectados.

EVALUACIÓN DEL DESARROLLO NEUROLÓGICO INFANTIL

Se realizó la evaluación neuropsicológica de los niños a los 6 y 18 meses de edad utilizando escalas de Bayley para el desarrollo infantil, tercera edición (BSID III). Esta prueba está diseñada específicamente para niños de 1 a 42 meses de edad [27, 28].

La prueba permite la evaluación del neurodesarrollo mediante cuatro escalas: lenguaje, desarrollo motor, cognitivo y desarrollo social-emocional. La escala del lenguaje explora dos ramas del desarrollo, el lenguaje receptivo y el expresivo. La escala motora permite el examen de ambas habilidades de desarrollo psicomotor, motricidad fina y gruesa. El desarrollo socio-emocional se exploró mediante el cuestionario específico de la escala Bayley que completó la propia madre en el mismo momento de la evaluación. Se calculó la puntuación escalar y la puntuación compuesta para cada escala, y se ajustó para cada niño y edad (días), utilizando las tablas de los manuales de corrección.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SPSS para Windows (versión 20.0; IBM SPSS Inc., Chicago, IL, EE.UU.).

La distribución normal de los datos se evaluó mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Las variables normales continuas se muestran como media y desviación estándar, y aquellas que no siguen una distribución normal como amplitud y rango intercuartil. Para las variables categóricas se muestran las frecuencias absolutas y porcentajes. Como posibles factores de confusión se consideraron: la edad materna, la situación socioeconómica, nivel de estudios de los padres, IQ materno, el IMC pre-concepcional, la paridad, el tabaquismo y la ingesta de alcohol durante la gestación, el aumento de peso durante el embarazo, diabetes gestacional, el tipo de parto, peso de la placenta, la edad gestacional, la puntuación de Apgar, la antropometría neonatal (peso, longitud y perímetro cefálico al nacimiento), sexo y tipo de alimentación durante los primeros meses de vida. Con el fin de determinar el posible efecto de los factores de confusión sobre los resultados obtenidos, se realizó prueba t de Student para variables continuas de distribución normal. Para las variables que no seguían una distribución normal, se realizó el test de Wilcoxon o Kruskall-Wallis. La prueba de chi-cuadrado se aplicó para determinar la asociación entre las variables categóricas o categorizadas. Además, se realizó un análisis de regresión logística para relacionar la influencia del polimorfismo PPARG y otras variables sobre los resultados del desarrollo neurológico de los niños (cognitivo, lingüístico, motor y dominios sociales); en este caso, los dominios se dicotomizaron por encima y por debajo del valor de la mediana. El mínimo de significancia se consideró cuando $P < 0{,}05$.

Resultados

POLIMORFISMO PPARG PRO12ALA EN LOS GRUPOS DE ESTUDIO

La distribución del genotipo PPARG rs1801282 C/G entre la población estudiada fue la siguiente: 118 mujeres (85,5%) tenían el genotipo mayor CC, 20 mujeres (14,5%) presentaron la forma heterocigota de CG; no hubo ninguna mujer con genotipo homocigoto GG. Las respectivas frecuencias de los alelos entre las mujeres fueron: 92,8% (C) y 7,2% (G). Entre los niños, 120 mostraron el genotipo CC, 16 niños el genotipo heterocigoto CG, y un bebé presentó el genotipo GG; las frecuencias alélicas entre los niños fueron de 94% (C) y el 6% (G). PPARG rs1801282 C/G distribución dentro de los participantes del estudio fue de Hardy-Weinberg (en madres $\chi 2 = 0{,}84$, $p = 0{,}36$; en lactantes $\chi 2 = 0{,}06$, $p = 0{,}47$).

En general, las características maternas y de los hijos no difirieron entre los individuos con el genotipo CC materno o de sus hijos, o con el CG. El polimorfismo

TABLA 1. Características de los individuos estudiados teniendo en cuenta los genotipos maternos del PPARG Pro12Ala (rs1801282, C/G)

		CC (n=118)	CG (n=20)	P
Edad Materna		31.98±4.52	31.70±4.37	0.623**
Ganancia de peso en la gestación[1]		9.38±7,08	8.90±6,69	0.245**
Nivel educativo materno[2]	Primaria/Secundaria	36.30%	36.80%	0.963*
Universidad/Doctor	63.70%	63.20%		
IQ Materno[3]		108 (18)	100 (25)	0.681**
IMC Pre-concepcional materno[1]		26.54±5.13	26.21±5.25	0.806**
Diabetes Gestacional[2]	yes	70.30%	75.00%	0.671*
	no	29.70%	25.00%	
Paridad[2]	0	57.60%	35.00%	0.060*
	≥1	42.40%	65.00%	
Tabaco durante la gestación	no	76,90%	83.30%	0.570*
	< 5 cigarillos	17.30%	16.70%	
	≥ 5 cigarillos	5.80%	0.00%	
Alcohol durante el embarazo[2]	no	41.30%	55.60%	0.509*
	si	58.70%	44.40%	
Peso placenta[1]		517.3±131.4	472.2±113.7	0.174***
Peso al nacimiento[1]		3320.8±420.2	3544.7±478.0	0.042***
Longitud al nacimiento[1]		50.46±2.12	50.28±2.67	0.920***
Perímetro cefálico al nacimiento[1]		34.56±1.44	34.46±1.49	0.993***
Sexo[2]	Niño	45.80%	60.00%	0.239*
	Niña	54.20%	40.00%	
Tipo de alimentación infantil[2]	Materna	46.00%	55.50%	0.711*
	Fórmula	36.00%	27.80%	
	Mixta	18.00%	16.70%	
Edad Gestacional[1]		39.51±1.23	39.60±1.18	0.821*
Apgar 1[3]		9 (0)	9 (0)	0.805**
Apgar 5[3]		10 (0)	10 (0)	0.064**

n: número de casos.
IMC: Índice de Masa Corporal; 1. Media ± Desviación Estándar; 2. Porcentaje; 3. Mediana y amplitud intercuartil.
*Test Chi-cuadrado.
**Test Mann Whitney U.
***Test t de Student. Nivel de significancia: P<0.05

Pro12Ala materno se asoció con un mayor peso al nacimiento del bebé; las madres con genotipo CG tuvieron recién nacidos significativamente más pesados que las mujeres con genotipo CC (3544.74±477.99 g vs 3320.76±420.16 g, P=0.042). Por tanto, en los análisis estadísticos posteriores el único factor de confusión incluido en los modelos fue el peso al nacimiento. Los otros posibles factores de confusión no se han incluido porque no afectaron al modelo. (Tabla 1).

POLIMORFISMO PPARG PRO12ALA Y CONCENTRACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS EN EL MOMENTO PARTO

El polimorfismo Pro12Ala estudiado no mostró ningún efecto sobre las concentraciones de ácidos grasos en plasma materno ni sobre el tejido placentario (Tabla 2). El genotipo del polimorfismo del PPARG Pro12Ala del bebé influyó sobre las concentraciones de ácido α-linolénico en los fosfolípidos de la placenta (P=0,039), aunque esta diferencia hay que considerarla con precaución pues sólo había un bebé con el genotipo GG (mientras CC n=64, CG n=9).

POLIMORFISMO PPARG PRO12ALA Y DESARROLLO NEUROLÓGICO DEL BEBÉ

El genotipo materno no pareció influir en los resultados del desarrollo neurológico del niño a los 6 meses de edad, pero se observaron asociaciones estadísticamente significativas del genotipo materno Pro12Ala y los resultados del desarrollo neurológico de los niños a los 18 meses de edad (Tabla 2). Se obtuvieron puntuaciones más altas en el dominio cognitivo (tanto cognitivo escalar y puntuación compuesta cognitiva, 15(4) vs 13(4), p=0,004 y 125(15) vs 115(20), p=0,004, respectivamente), el dominio del lenguaje (lenguaje receptivo, 12(2) *vs* 10.5(2), p=0.004), y el dominio motor (motricidad fina y compuesta, 13(3) vs 11,5(2), p=0,010 y 115(14) vs 111(8), p=0,007, respectivamente), mientras que no se detectaron diferencias en el desarrollo social y emocional de los niños cuyas madres mostraron un genotipo CC, respecto a los niños con genotipo CG materno. El polimorfismo Pro12Ala del bebé no mostró ningún efecto sobre su neurodesarrollo a los 6 y 18 meses de edad (Figura 1).

El análisis de regresión logística mostró que las madres con el genotipo mayoritario del PPARG Pro12 (CC), tienen 5,1 veces más probabilidades de tener un bebé con mayor puntuación compuesta de desarrollo cognitivo a los 18 meses de edad (OR = 5,11: IC del 95%: 1,379 a 18,96) que los nacidos de las mujeres con el genotipo CG (P=0,015). El mismo resultado se observó para las puntuaciones lenguaje compuesto y motor compuesto (OR = 3,41; IC del 95%: 1,35 a 11,24; p = 0,044 y OR = 4,77; IC del 95%: 1,243 a 18,33, p = 0,023, respectivamente) (Tabla 3).

TABLA 1. *Concentración de ácidos grasos en los fosfolípidos plasmáticos y placentarios dependiendo del genotipo materno PPARG Pro12Ala (rs1801282, C/G)*

	CC	CG	
	X±SD	X±SD	P
Sangre materna al parto (wt %)	n=72	n=14	
LA (C18:2n-6)	22.02±2.64	22.23±1.29	0.682
LNA (C18:3n-3)	0.12±0.04	0.14±0.06	0.205
AA (20:4n-6)	9.77±1.70	10.07±1.42	0.563
DHA (22:6n-3)	4.31±0.90	4.59±1.04	0.512
EPA (20:5n-3)	0.32±0.14	0.33±0.15	0.725
AA/DHA ratio	2.34±0.54	2.31±0.65	0.898
LA/LNA ratio	211.86±87.60	199.93±120.12	0.257
Cordón Umbilical (wt %)	n=50	n=10	
LA (C18:2n-6)	8.02±2.24	7.59±0.73	0.592
LNA (C18:3n-3)	0.04±0.02	0.03±0.01	0.839
AA (20:4n-6)	18.78±2.37	19.51±1.62	0.433
DHA (22:6n-3)	6.78±1.76	6.52±1.17	0.984
EPA (20:5n-3)	0.20±0.07	0.21±0.11	0.960
AA/DHA ratio	2.95±0.82	3.10±0.67	0.513
LA/LNA ratio	269.67±149.47	246.60±95.71	0.858
Fosfolípidos en placenta (wt %)	n=60	n=13	
LA (C18:2n-6)	9.26±1.12	9.51±0.94	0.554
LNA (C18:3n-3)	0.02±0.01	0.03±0.01	0.146
AA (20:4n-6)	21.81±1.67	22.29±1.28	0.289
DHA (22:6n-3)	4.47±0.67	4.94±0.73	0.069
EPA (20:5n-3)	0.08±0.07	0.06±0.06	0.338
AA/DHA ratio	5.00±0.89	4.62±0.81	0.220
LA/LNA ratio	429.47±193.09	455.57±313.80	0.298
Triglicéridos en placenta (wt %)	n=63	n=13	
LA (18:2n-6)	13.27±2.93	11.92±1.55	0.070
LNA (18:3n-3)	0.19±0.09	0.18±0.07	0.761
AA (20:4n-6)	10.55±2.34	11.56±2.31	0.116
DHA (22:6n-3)	3.27±1.05	3.88±1.13	0.073
EPA (20:5n-3)	0.22±0.21	0.24±0.13	0.479
AA/DHA ratio	3.43±0.90	3.20±1.00	0.512
LA/LNA ratio	75.62±22.50	74.39±29.18	0.820

Test U de Mann Whitney; X: Media; SD: Desviación Estándar; n: Número de casos; AA: Ácido araquidónico; DHA: Acido docosahexaenoico; EPA: Acido eicopentanoico; LA: Ácido linoleico; LNA: Ácido α-linolénico. Resultados expresados en porcentaje por peso (wt %) del total de ácidos grasos detectados.

FIGURA 1.

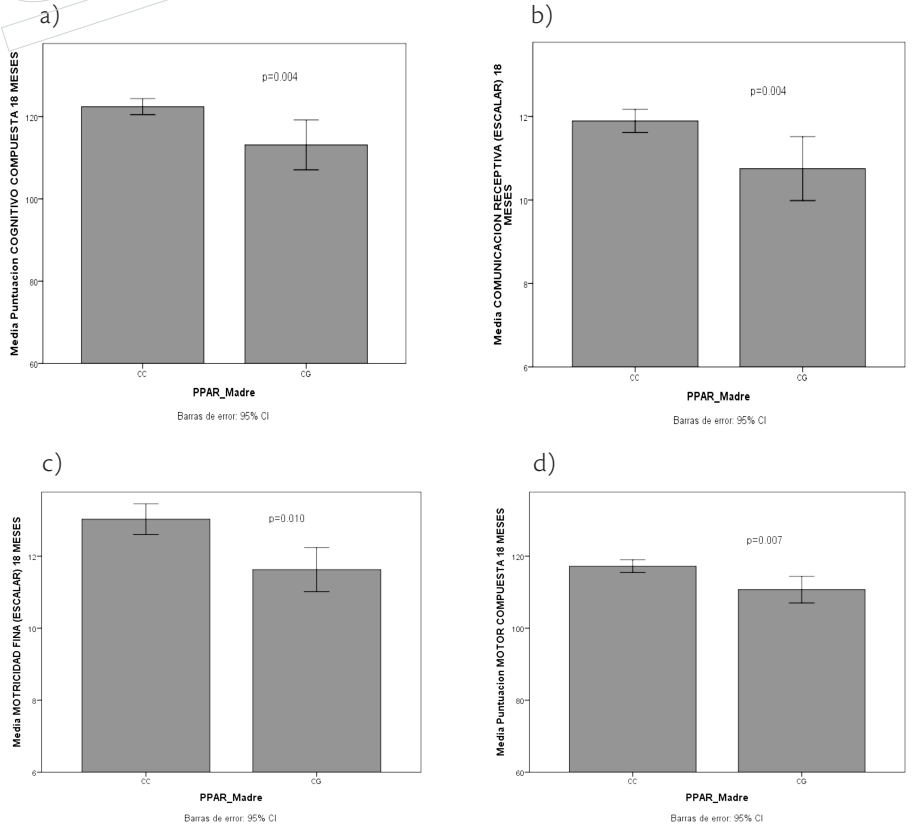

TABLA 1. *Análisis de regresión logística de los efectos del genotipo materno PPARG Pro12Ala sobre el neurodesarrollo de los bebés a los 18 meses de edad (n=129)*

PPARG (CC)	B	p	Odd`s Ratio (95% CI)
Puntuación compuesta Cognitiva	1.632	0.015	5.11 (1.379-18.96)
Puntuación compuesta Lenguaje	1.227	0.044	3.412 (1.035-11.24)
Puntuación compuesta Psicomotor	1.563	0.023	4.775 (1.243-18.33)

Dicotomización por debajo y por encima de la mediana de la puntuación compuesta de desarrollo cognitivo, puntuación compuesta de desarrollo del lenguaje y puntuación compuesta del desarrollo psicomotor, para la regresión logística binaria. Ajustadas por el peso al nacimiento. Variable de riesgo el genotipo PPARG CG

Discusión

En el presente estudio, se ha comprobado que los bebés de madres con genotipo PPARG tipo natural Pro12 superaron a los 18 meses de edad a los portadores del alelo Ala, en las puntuaciones compuestas de desarrollo cognitivo, del lenguaje y de desarrollo motor, pero no en desarrollo socio-emocional, independientemente de la obesidad materna y/o diabetes gestacional. Por otra parte, no se observó ningún efecto del propio polimorfismo Pro12Ala del niño sobre su desarrollo neurológico. Además, las variantes del Pro12Ala no parecen afectar a las concentraciones de ácidos grasos en sangre y placenta durante el parto.

Este es el primer estudio en el que las variaciones del polimorfismo genético del PPARG Pro12Ala se relacionan con el desarrollo neurológico del bebé. Los resultados obtenidos muestran el papel de las variantes polimórficas del Pro12Ala materno en la regulación de los mecanismos intrauterinos implicados en la transferencia transplacentaria de ácidos grasos desde la madre al feto, y por tanto, que van a influir sobre el desarrollo neurológico del bebé; esta influencia tiene un impacto a largo plazo (18 meses en lugar de 6 meses). Se ha demostrado que el PPARg tiene una función específica en la regulación de la expresión de genes implicados en la neurotransmisión, y por lo tanto puede jugar un papel importante en el aprendizaje y el desarrollo de la memoria [27], especialmente en la memoria a largo plazo [5].

El PPARg se expresa fuertemente en la placenta humana [28], y tiene un papel central en la función y el desarrollo placentario [29, 30]. El PPARg actúa como regulador negativo de la invasión trofoblástica del endometrio y está implicado en la secreción de hormonas reguladoras de la reproducción por los trofoblastos [30]. Además, el PPARg juega un papel en el suministro de nutrientes al embrión como regulador de la función metabólica, la regulación de almacenamiento de ácidos grasos y el metabolismo de la glucosa [29].

Los genes activados por PPARg estimulan la captación de lípidos y la adipogénesis por las células grasas; participa en la regulación de la transferencia de lípidos hacia el feto desempeñando un papel esencial en la placenta, y depende de la incorporación de lípidos de la circulación materna, así como de las vías metabólicas de lípidos dentro de la placenta [31, 32]. La extrema importancia de los ácidos grasos, especialmente ácidos grasos poliinsaturados n-3 y n-6 de cadena larga (LC-PUFAs) en el desarrollo del cerebro fetal ha sido ampliamente comprobada [33-35], siendo cruciales para la neurogénesis, la neurotransmisión, y la protección contra el estrés oxidativo [35]. Hay una etapa de crecimiento en la materia gris del cerebro humano durante el último trimestre del embarazo y los primeros meses después del parto, donde se produce una alta acreción de ácido araquidónico y ácido docosahexaenóico (DHA) en el cerebro del feto humano.

Varios estudios han demostrado que una dieta baja en PUFA n-3 disminuye las concentraciones de DHA en los fosfolípidos del plasma, lo que determina a su vez una disminución de los PUFA n-3 en el cerebro; la consecuencia de bajas con-

centraciones de PUFAs n-3 en el cerebro humano conducen a un deterioro cognitivo y efectos negativos en el desarrollo de la conducta [36, 37]. Por lo tanto, la variante materna del PPARG 12Ala que se traduce en reducción de la actividad PPARg, puede dar lugar una disminución de la transferencia transplacentaria de lípidos hacia el feto, afectando negativamente el desarrollo del cerebro fetal.

El papel del PPARg materno podría estar implicado en otros mecanismos placentarios relacionados con el desarrollo neurológico del feto. El PPARg contribuye al desarrollo de la placenta, y por lo tanto a la transferencia materno-fetal de oxígeno y de diferentes nutrientes que permiten el crecimiento fetal, incluyendo el desarrollo cerebral. Se ha demostrado una relación positiva de la expresión placentaria del PPARg con el peso fetal y placentario [38]. Se sabe que hay nutrientes esenciales para el desarrollo cerebral durante la vida fetal, que van a influir no sólo en el desarrollo morfológico, sino también en la función cerebral incidiendo sobre la neuroquímica y el desarrollo neuropsicológico; el efecto de la nutrición en estas etapas precoces de la vida puede tener un impacto duradero a muy largo plazo [35]. Esta hipótesis, sin embargo, debe ser confirmada en futuros estudios.

El presente estudio tiene diversas limitaciones; no se ha podido comprobar ninguna diferencia en las concentraciones de ácidos grasos en plasma ni en tejido placentario entre mujeres y niños con los diferentes genotipos Pro12Ala estudiados. La falta de asociación entre las concentraciones de los polimorfismos y las de ácidos grasos en la placenta, podría ser el resultado de la preparación de la muestra, pues se obtuvo parte tanto de la cara materna como de la fetal, habiéndose analizado una mezcla de las mismas. Otra explicación podría ser el número limitado de muestras disponibles para el análisis de los ácidos grasos (especialmente entre los portadores del alelo Ala), lo que ha disminuido la potencia estadística.

Por otro lado, no se han encontrado asociaciones significativas entre el genotipo Pro12Ala y los niveles de lípidos plasmáticos, pero las diferencias aparecieron después de 24 semanas de dieta de ácidos grasos [39]. En ratones se ha demostrado que el PPARg desempeña un papel en el cerebro en la regulación del apetito, y por tanto, la variación genética de este gen puede estar relacionada con la ingesta diaria [40]. De hecho, un estudio reciente en humanos ha demostrado diferencias significativas en la ingesta total de grasa en la dieta, en relación con los genotipos Pro12Ala, donde los participantes portadores del alelo 12Ala tuvieron mayor ingesta de grasas respecto a los no portadores [41].

Conclusión

Los resultados del estudio que se presenta muestran que los bebés nacidos de madres con el genotipo Pro12 tienen mejores resultados de desarrollo neurológico a los 18 meses de edad respecto a las portadoras del alelo Ala, lo que indicaría el papel a largo plazo de las variantes del PPARg sobre el desarrollo del cerebro fetal,

al actuar sobre la transferencia transplacentaria de nutrientes. Las variantes resultan de la actividad del receptor disminuido PPARG 12Ala, lo que puede conducir a una transferencia de lípidos disminuida para el feto y por tanto, afectarían negativamente el desarrollo del cerebro fetal. Sin embargo, el genotipo Pro12Ala no parece tener efecto alguno sobre las concentraciones de ácidos grasos en los fosfolípidos del plasma ni en los placentarios. Los resultados presentados en este estudio deberían ser replicados, así como el impacto del polimorfismo PPARG Pro12Ala sobre el neurodesarrollo debería ser ampliamente estudiado.

Agradecimientos y financiación

Un agradecimiento para todo el equipo implicado en el Proyecto PREOBE, por su tenacidad y afán de hacer un buen trabajo. Un agradecimiento muy especial para todas las madres y padres de los niños participantes en el proyecto PREOBE que año tras año están confiando en nosotros y ofreciéndonos también su tiempo y esfuerzo para completar todos las tareas que les proponemos, y siempre con una actitud muy positiva. Este trabajo ha sido financiado por la Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa de la Junta de Andalucía, convocatoria de Proyectos de Excelencia (P06-CTS-02341) y por el Spanish Ministry of Economy and Competitiveness. Ref. BFU2012-40254-C03-01.

Bibliografía

1. Berger J, Moller DE. The mechanisms of action of PPARs. Annu Rev Med. 2002;53:409-35. Epub 2002/01/31.
2. Capobianco E, Martinez N, Fornes D, Higa R, Di Marco I, Basualdo MN, et al. PPAR activation as a regulator of lipid metabolism, nitric oxide production and lipid peroxidation in the placenta from type 2 diabetic patients. Molecular and cellular endocrinology. 2013;377(1-2):7-15. Epub 2013/07/03.
3. Lehrke M, Lazar MA. The many faces of PPARgamma. Cell. 2005;123(6):993-9. Epub 2005/12/20.
4. Aleshin S, Strokin M, Sergeeva M, Reiser G. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)beta/delta, a possible nexus of PPARalpha- and PPARgamma-dependent molecular pathways in neurodegenerative diseases: Review and novel hypotheses. Neurochemistry international. 2013;63(4):322-30. Epub 2013/07/03.
5. Hajjar T, Meng GY, Rajion MA, Vidyadaran S, Othman F, Farjam AS, et al. Omega 3 polyunsaturated fatty acid improves spatial learning and hippocampal peroxisome proliferator activated receptors (PPARalpha and PPARgamma) gene expression in rats. BMC neuroscience. 2012;13:109. Epub 2012/09/20.
6. Katsouri L, Blondrath K, Sastre M. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma cofactors in neurodegeneration. IUBMB life. 2012;64(12):958-64. Epub 2012/11/07.

7. Ormerod BK, Hanft SJ, Asokan A, Haditsch U, Lee SW, Palmer TD. PPARgamma activation prevents impairments in spatial memory and neurogenesis following transient illness. Brain, behavior, and immunity. 2013;29:28-38. Epub 2012/10/31.
8. Skerrett R, Malm T, Landreth G. Nuclear receptors in neurodegenerative diseases. Neurobiology of disease. 2014. Epub 2014/05/31.
9. Mazzola C, Medalie J, Scherma M, Panlilio LV, Solinas M, Tanda G, et al. Fatty acid amide hydrolase (FAAH) inhibition enhances memory acquisition through activation of PPAR-alpha nuclear receptors. Learn Mem. 2009;16(5):332-7. Epub 2009/05/01.
10. Pathan AR, Gaikwad AB, Viswanad B, Ramarao P. Rosiglitazone attenuates the cognitive deficits induced by high fat diet feeding in rats. European journal of pharmacology. 2008;589(1-3):176-9. Epub 2008/07/08.
11. Deplanque D. [Cell protection through PPAR nuclear receptor activation]. Therapie. 2004;59(1):25-9. Epub 2004/06/18. Protection cellulaire par activation des recepteurs nucleaires PPAR.
12. Rinwa P, Kaur B, Jaggi AS, Singh N. Involvement of PPAR-gamma in curcumin-mediated beneficial effects in experimental dementia. Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology. 2010;381(6):529-39. Epub 2010/04/07.
13. Razquin C, Marti A, Martinez JA. Evidences on three relevant obesogenes: MC4R, FTO and PPARgamma. Approaches for personalized nutrition. Molecular nutrition & food research. 2011;55(1):136-49. Epub 2011/01/06.
14. Deeb SS, Fajas L, Nemoto M, Pihlajamaki J, Mykkanen L, Kuusisto J, et al. A Pro12Ala substitution in PPARgamma2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. Nature genetics. 1998;20(3):284-7. Epub 1998/11/07.
15. Galbete C, Toledo E, Martinez-Gonzalez MA, Martinez JA, Guillen-Grima F, Marti A. Pro12Ala variant of the PPARG2 gene increases body mass index: An updated meta-analysis encompassing 49,092 subjects. Obesity (Silver Spring). 2013;21(7):1486-95. Epub 2013/05/15.
16. Paracchini V, Pedotti P, Taioli E. Genetics of leptin and obesity: a HuGE review. American journal of epidemiology. 2005;162(2):101-14. Epub 2005/06/24.
17. Chan KH, Niu T, Ma Y, You NC, Song Y, Sobel EM, et al. Common genetic variants in peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPARG) and type 2 diabetes risk among Women's Health Initiative postmenopausal women. The Journal of clinical endocrinology and metabolism. 2013;98(3):E600-4. Epub 2013/02/07.
18. Trombetta M, Bonetti S, Boselli ML, Miccoli R, Trabetti E, Malerba G, et al. PPARG2 Pro12Ala and ADAMTS9 rs4607103 as «insulin resistance loci» and «insulin secretion loci» in Italian individuals. The GENFIEV study and the Verona Newly Diagnosed Type 2 Diabetes Study (VNDS) 4. Acta diabetologica. 2013;50(3):401-8. Epub 2012/11/20.
19. Wu Z, Lou Y, Jin W, Liu Y, Lu L, Lu G. The Pro12Ala polymorphism in the peroxisome proliferator-activated receptor gamma-2 gene (PPARgamma2) is associated with increased risk of coronary artery disease: a meta-analysis. PloS one. 2012;7(12):e53105. Epub 2013/01/10.

20. Mao Q, Guo H, Gao L, Wang H, Ma X. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma2 Pro12Ala (rs1801282) polymorphism and breast cancer susceptibility: a meta-analysis. Molecular medicine reports. 2013;8(6):1773-8. Epub 2013/10/22.
21. West NA, Haan MN, Morgenstern H. The PPAR-gamma Pro12Ala polymorphism and risk of cognitive impairment in a longitudinal study. Neurobiology of aging. 2010;31(5):741-6. Epub 2008/07/22.
22. d'Abramo C, Zingg JM, Pizzuti A, Argellati F, Pronzato MA, Ricciarelli R. In vitro effect of PPAR-gamma2 Pro12Ala polymorphism on the deposition of Alzheimer's amyloid-beta peptides. Brain research. 2007;1173:1-5. Epub 2007/09/07.
23. He W. PPARgamma2 polymorphism and human health. PPAR research. 2009;2009:849538. Epub 2009/04/25.
24. Mayhew TM. Taking tissue samples from the placenta: an illustration of principles and strategies. Placenta. 2008;29(1):1-14. Epub 2007/07/31.
25. Bondia-Pons I, Morera-Pons S, Castellote AI, Lopez-Sabater MC. Determination of phospholipid fatty acids in biological samples by solid-phase extraction and fast gas chromatography. Journal of chromatography A. 2006;1116(1-2):204-8. Epub 2006/04/06.
26. Klingler M, Demmelmair H, Larque E, Koletzko B. Analysis of FA contents in individual lipid fractions from human placental tissue. Lipids. 2003;38(5):561-6. Epub 2003/07/26.
27. Moreno S, Farioli-Vecchioli S, Ceru MP. Immunolocalization of peroxisome proliferator-activated receptors and retinoid X receptors in the adult rat CNS. Neuroscience. 2004;123(1):131-45. Epub 2003/12/12.
28. Tugwood JD, Aldridge TC, Lambe KG, Macdonald N, Woodyatt NJ. Peroxisome proliferator-activated receptors: structures and function. Annals of the New York Academy of Sciences. 1996;804:252-65. Epub 1996/12/27.
29. Schaiff WT, Knapp FF, Jr., Barak Y, Biron-Shental T, Nelson DM, Sadovsky Y. Ligand-activated peroxisome proliferator activated receptor gamma alters placental morphology and placental fatty acid uptake in mice. Endocrinology. 2007;148(8):3625-34. Epub 2007/04/28.
30. Abbott BD. Review of the expression of peroxisome proliferator-activated receptors alpha (PPAR alpha), beta (PPAR beta), and gamma (PPAR gamma) in rodent and human development. Reprod Toxicol. 2009;27(3-4):246-57. Epub 2008/11/11.
31. Herrera E, Amusquivar E, Lopez-Soldado I, Ortega H. Maternal lipid metabolism and placental lipid transfer. Hormone research. 2006;65 Suppl 3:59-64. Epub 2006/04/14.
32. Negre-Salvayre A, Auge N, Ayala V, Basaga H, Boada J, Brenke R, et al. Pathological aspects of lipid peroxidation. Free radical research. 2010;44(10):1125-71. Epub 2010/09/15.
33. Krauss-Etschmann S, Shadid R, Campoy C, Hoster E, Demmelmair H, Jimenez M, et al. Effects of fish-oil and folate supplementation of pregnant women on maternal and fetal plasma concentrations of docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid: a European randomized multicenter trial. Am J Clin Nutr. 2007;85(5):1392-400. Epub 2007/05/11.

34. Campoy C, Escolano-Margarit MV, Anjos T, Szajewska H, Uauy R. Omega 3 fatty acids on child growth, visual acuity and neurodevelopment. Br J Nutr. 2012;107 Suppl 2:S85-106. Epub 2012/05/25.
35. Anjos T, Altmae S, Emmett P, Tiemeier H, Closa-Monasterolo R, Luque V, et al. Nutrition and neurodevelopment in children: focus on NUTRIMENTHE project. Eur J Nutr. 2013;52(8):1825-42. Epub 2013/07/26.
36. Su HM. Mechanisms of n-3 fatty acid-mediated development and maintenance of learning memory performance. J Nutr Biochem. 2010;21(5):364-73. Epub 2010/03/18.
37. Noaghiul S, Hibbeln JR. Cross-national comparisons of seafood consumption and rates of bipolar disorders. Am J Psychiatry. 2003;160(12):2222-7. Epub 2003/11/26.
38. Diaz M, Bassols J, Lopez-Bermejo A, Gomez-Roig MD, de Zegher F, Ibanez L. Placental expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma): relation to placental and fetal growth. J Clin Endocrinol Metab. 2012;97(8):E1468-72. Epub 2012/06/13.
39. Alsaleh A, O'Dell SD, Frost GS, Griffin BA, Lovegrove JA, Jebb SA, et al. Interaction of PPARG Pro12Ala with dietary fat influences plasma lipids in subjects at cardiometabolic risk. J Lipid Res. 2011;52(12):2298-303. Epub 2011/09/29.
40. Lu M, Sarruf DA, Talukdar S, Sharma S, Li P, Bandyopadhyay G, et al. Brain PPARgamma promotes obesity and is required for the insulin-sensitizing effect of thiazolidinediones. Nat Med. 2011;17(5):618-22. Epub 2011/05/03.
41. Bouchard-Mercier A, Paradis AM, Perusse L, Vohl MC. Associations between polymorphisms in genes involved in fatty acid metabolism and dietary fat intakes. J Nutrigenet Nutrigenomics. 2012;5(1):1-12. Epub 2012/03/15.

View publication stats