

Estudio poblacional de los polimorfismos rs2075291 del gen APOA5, rs2241766 del gen de la adiponectina, rs1800571 del gen PPAR-gamma y rs4998 del Receptor Beta 3-Adrenérgico, asociados al Síndrome Metabólico, en una población de Bucaramanga, Santander

Valentina Hernández Espinosa

Trabajo de Grado para Optar el Título de Magister en Ciencias Básicas Biomédicas

Director

Gerardo Mantilla Mora

Magister en Bioquímica

Codirector

Clara Inés Vargas Castellanos

Magister en Genética y Epidemiología

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Salud

Escuela de Medicina

Maestría en Ciencias Básicas Biomédicas

Bucaramanga

2021

Dedicatoria

Con 8 años soñé vestir de bata y descubrir cosas nuevas cada día, hoy cuando me levanto a vivir mi sueño me doy cuenta de que todo es posible.

Dedicado a cada niña y mujer que sueña con hacer ciencia, disfruten el camino y recuerden Paciencia, Perseverancia y Pasión. Sí se puede.

Agradecimientos

A mis padres María Helena y Alvaro soportes y principales patrocinadores de mi amor a aprender y al estudio.

A mi novio Camilo, mi compañero, amigo y apoyo incondicional.

Agradecimiento especial a mis profesores y mentores Dra. Adriana Castillo Pico y PhD Fernando Rondón González quienes me han brindado su concejo y conocimiento, además, de ser para mí grandes ejemplos y figuras a seguir en este lindo campo de la genética.

A aquellos que hicieron posible la realización de este proyecto, mis tutores Profesor Gerardo Mantilla Mora y Profesora Clara Inés Vargas Castellanos. La profesora Lina Vera Cala y en especial quiero agradecer a Viviana Lucia Pérez quien siempre me ha brindado su guía y apoyo. A la Vicerrectoría de Investigación y Extensión de la Universidad Industrial de Santander quien financio esta investigación.

A cada una de las personas que hacen parte del grupo de investigación de Genética Humana-UIS, las Adrianas Pico y Gil quienes me han acogido y enseñado el rigor en el laboratorio. A Mary y Naty quienes me han brindado su apoyo y han sido partícipes de cada etapa en la realización de este postgrado.

Culmino este peldaño de mi carrera con muchas lecciones aprendidas sobre todo con un crecimiento personal inigualable, y convencida de continuar en el camino.

Tabla de Contenido

Introducción	13
1. Marco teórico	16
1.1 Definición del Síndrome metabólico	16
1.2 Prevalencia del Síndrome metabólico.....	18
1.3 Fisiopatología del Síndrome metabólico	20
1.4 Síndrome metabólico y genética.....	22
1.5 Polimorfismos de Nucleótido Simple (SNPs)	23
1.6 Genes de interés en este estudio.....	25
1.6.1 Gen ADRB3: Receptor Beta 3 Adrenérgico	25
1.6.2 Gen APOA5: Apolipoproteína A5.....	26
1.6.3 Gen ADIPOQ: Adiponectina	27
1.6.4 Gen PPARG: Receptor Activado por Proliferadores del Peroxisoma Gamma	29
2. Planteamiento del problema.....	30
3. Objetivos	32
3.1 Objetivo General.....	32
3.2 Objetivos Específicos.....	32
4. Metodología	33
4.1 Población de Estudio.....	33
4.2 Cálculo de tamaño de muestra	33
4.3 Toma de Muestras.....	34
4.4 Extracción de ADN.....	34
4.5 Cuantificación del material genético	35

4.6 Detección de los polimorfismos.....	35
4.6.1 Diseño de cebadores	37
4.6.2 Amplificación del material genético	37
4.6.3 Purificación de los productos amplificados	38
4.6.4 Minisecuenciación	38
4.6.5 Purificación de los productos de minisecuenciación	39
4.6.6 Separación de productos por electroforesis capilar	39
4.6.7 Análisis de los electroferogramas	40
4.6.8 Controles de calidad.....	42
4.7 Análisis estadístico.....	43
4.7.1 Frecuencias alélicas y genotípicas	43
4.7.2 Equilibrio de Hardy-Weinberg	44
4.7.3 Frecuencias Haplotípicas	44
4.7.4 Consideraciones éticas	44
5. Resultados	46
5.1 Muestreo	46
5.2 Análisis genético	46
5.2.1 Polimorfismo rs4998 del Receptor Beta 3-Adrenergico.....	47
5.2.2 Polimorfismo rs2075291 del gen de la Apolipoproteína A5	48
5.2.3 Polimorfismo rs2241766 del gen de la Adiponectina.....	49
5.2.4 Polimorfismo rs1800571 del PPARG.....	50
5.3 Frecuencias genotípicas y alélicas	51
5.4 Evaluación del equilibrio de Hardy Weinberg.....	53

5.5 Frecuencias haplotípicas	54
5.6 Índice de fijación y Desequilibrio de asociación	55
6. Discusión.....	55
7. Conclusiones	65
8. Recomendaciones	67
Referencias bibliográficas.....	68
Apéndices.....	92

Lista de Tablas

	PAG.
Tabla 1. Resumen de los principales criterios en las tres definiciones más aceptadas para el Síndrome Metabólico	17
Tabla 2. Resumen de los genes y SNPs de interés en este estudio.	23
Tabla 3. Condiciones de PCR para la amplificación de fragmentos en forma múltiple	38
Tabla 4. Programa de amplificación SNaPshot	39
Tabla 5. Identificación de las bases nitrogenadas de los polimorfismos	41
Tabla 6. Frecuencias genotípicas y alélicas para los polimorfismos rs4998 del Receptor Beta 3-Adrenérgico; rs2075291 del Gen APOA5; rs2241766 del Gen de la Adiponectina y rs1800571 del Gen PPAR-G	52
Tabla 7. Equilibrio de Hardy Weinberg (EHW) para los cuatro polimorfismos e índice de fijación FIS.	53
Tabla 8. Frecuencias haplotípicas	54
Tabla 9. Frecuencias reportadas en la literatura para el polimorfismo rs4998 del gen de ADRB3.	56
Tabla 10. Frecuencias reportadas en la literatura para el polimorfismo rs2075291 del gen APOA5.	59
Tabla 11. Frecuencias reportadas en la literatura para el polimorfismo rs2241766 del gen ADIPOQ.	62
Tabla 12. Frecuencias reportadas en la literatura para el polimorfismo rs1800571 del gen PPARG.	64

Lista de Figuras

	PAG.
Figura 1. Esquema de los pasos del proceso de SNaPshot y descripción de la reacción de Extensión de una Sola Base.	36
Figura 2. Asignación de las bases nitrogenadas de acuerdo al marcaje con fluorocromo.	40
Figura 3. Electroferograma donde se muestra el marcador de peso molecular GeneScan™ 120 LIZ™.	42
Figura 4. Gel de agarosa 1.5% donde se muestran los amplificados para cada uno de los polimorfismos analizados.	43
Figura 5. Electroferogramas en donde se muestra el control negativo y el control positivo.	47
Figura 6. Electroferograma polimorfismo rs4998 del gen ADRB3.	48
Figura 7. Electroferograma polimorfismo rs2075291del gen de la Apolipoproteína A5 (APOA5).	49
Figura 8. Electroferograma polimorfismo rs2241766 de la Adiponectina (ADIPOQ).	50
Figura 9. Electroferograma polimorfismo rs1800571del gen PPARG.	51

Lista de Apéndices

	PÁG.
Apéndice A. Secuencias de los cebadores empleados en la amplificación del fragmento polimórfico y los cebadores tipo sonda para llevar a cabo la extensión de una Sola Base (SBE)	92
Apéndice B. Aval del comité de ética y consentimiento informado del estudio INEFAC	93
Apéndice C. Aval de Ética proyecto por parte del Comité de Ética en Investigación Científica de la Universidad Industrial de Santander	98

Glosario

ADBR3	Receptor Beta Adrenérgico 3
ADIPOQ	Adiponectina
AGL	Ácidos grasos libres
APOA5	Apolipoproteína A5
ddNTP	Didesoxinucleótidos
DT2	Diabetes tipo 2
ECV	Enfermedades Cardio Vasculares
EHW	<i>Equilibrio de Hardy y Weinberg</i>
cHDL	<i>High Density Lipoprotein Cholesterol</i>
HTA	Hipertensión Arterial
IDF	<i>International Diabetes Federation</i>
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa
PPARG	Receptor Activado por Proliferador de Peroxisoma - Gamma
SM	Síndrome Metabólico
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
TG	Triglicéridos
VLDL	<i>Very Low-Density Lipoprotein</i>

Resumen

Título: Estudio poblacional de los polimorfismos rs2075291 del gen APOA5, rs2241766 del gen de la Adiponectina, rs1800571 del gen PPAR-Gamma y rs4998 del Receptor Beta 3-Adrenérgico, asociados al Síndrome Metabólico, en una población de Bucaramanga, Santander*

Autor: Valentina Hernandez Espinosa**

Palabras Clave: Polimorfismos de Nucleótido Simple- SNP, ADRB3, APOA5, ADIPOQ, PPARG, Síndrome Metabólico, Bucaramanga.

Descripción:

El síndrome metabólico (SM) es una enfermedad multifactorial que incluye interacciones genético-ambientales, que generan alteraciones como el aumento de la glicemia, en los niveles de triglicéridos y de la presión arterial, obesidad central y una reducción del colesterol HDL. Se han identificado Polimorfismos de Nucleótido Simple-SNP en genes asociados con la alteración de rutas metabólicas que llevan al SM, como los son el gen ADRB3, APOA5, ADIPOQ y PPARG. Conocer la distribución de dichos polimorfismos permite identificar posibles diferencias antes de realizar estudios de asociación entre estos polimorfismos y el SM en la población.

Se estableció la distribución de frecuencias de los polimorfismos rs4998 del gen ADRB3, rs2075291 del gen APOA5, rs2241766 del gen ADIPOQ y rs1800571 del gen PPARG a partir de la tipificación de 531 individuos sanos provenientes de una muestra de Bucaramanga, Santander. Las frecuencias alélicas, frecuencias genotípicas, equilibrio de Hardy Weinberg (EHW) y el análisis de frecuencias haplotípicas, fueron reportadas. De igual forma, se contrastaron estos resultados con otros obtenidos de la literatura.

Las frecuencias alélicas reflejaron mayormente la presencia del alelo ancestral en los cuatro SNP analizados. En los rs2075291 y rs1800571 no fue posible observar presencia del genotipo homocigoto de alelo mutado. No se evidenciaron desviaciones significativas del EHW en ninguno de los SNP estudiados ($p > 0,05$). Se detectaron siete haplotipos siendo el haplotipo CCTC el más frecuente (0.6929).

La distribución de las frecuencias de los polimorfismos analizados concuerdan con las publicadas para poblaciones Latinoamericanas y europeas. Todos los SNP se encontraron en equilibrio de HW, esto indica que la población está conformada por individuos que se mezclan al azar. Finalmente, los hallazgos obtenidos son los primeros reportados para estos polimorfismos en Santander y Colombia, lo cual será útil para la implementación de futuros estudios que busquen establecer posible asociación genética con el SM.

* Trabajo de Grado

** Facultad de Salud. Escuela de Medicina. Director: Gerardo Mantilla Mora. Magister en Bioquímica Codirector: Clara Inés Vargas Castellanos. Magister en Genética y Epidemiología.

Abstract

Title: Population study of the polymorphism rs2075291 of the APOA5 gene, rs2241766 of the adiponectine, rs1800571 of the PPAR-Gamma gene and rs4998 of the Beta 3-Adrenergic Receptor, associated with Metabolic Syndrome, in a population of Bucaramanga, Santander*

Author: Valentina Hernandez Espinosa**

Key Words: Single Nucleotide Polymorphism- SNP, ADRB3, APOA5, ADIPOQ, PPARG, Metabolic Syndrome, Bucaramanga.

Description:

Metabolic Syndrome (MetS) is a multifactorial disease that includes genetic-environmental interactions, which generate alterations such as increased fasting blood glucose, increased blood triglyceride levels and blood pressure, central obesity and a reduction in HDL cholesterol. Some SNP Polymorphisms have been identified in genes associated with the alteration of metabolic pathways that lead to MetS,

The frequency distribution of the polymorphisms rs4998 of the ADRB3 gene, rs2075291 of the APOA5 gene, rs2241766 of the ADIPOQ gene and rs1800571 of the PPARG gene was established from the typing of 531 unrelated healthy individuals from Bucaramanga, Santander. Allele frequencies, genotype frequencies, Hardy Weinberg equilibrium (EHW) and haplotype frequency analysis were reported. Similarly, these results were contrasted with others obtained from the literature.

The allelic frequencies mostly reflected the presence of the ancestral allele in the four SNPs analyzed. The rs2241766 of the ADIPOQ gene showed the highest frequency of heterozygotes (0.3522). In rs2075291 and rs1800571 it was not possible to observe the presence of the homozygous genotype of the mutated allele. There were no significant deviations of the EHW in any of the SNPs studied ($p > 0.05$). Seven haplotypes were detected, the CCTC haplotype being the most frequent (0.6929).

Finally, the findings obtained are the first reported for these polymorphisms in Santander and Colombia, which will be useful for the implementation of future studies to establish a possible genetic association with MetS.

* Master Thesis

** Industrial University of Santander. Faculty of health. Medical School, Supervisor Gerardo Mantilla Mora Magister in Biochemistry. Co-Supervisor: Clara Inés Vargas Castellanos. Magister in Genetics and Epidemiology.

Introducción

En el mundo las primeras causas de muerte son las Enfermedades Cardio Vasculares, la diabetes y la obesidad (OMS, 2017). Estas enfermedades han venido en un aumento vertiginoso en países de todo el mundo afectando a casi un tercio la población adulta. (Fall & Ingelsson, 2014; Goswami & Gandhe, 2018; Kaur, 2014a)

El Síndrome Metabólico (SM) es una entidad multifactorial y multigénica que genera diferentes alteraciones metabólicas que culminan en una resistencia a la insulina, obesidad abdominal, dislipidemia, procesos proinflamatorios y glicemia alterada. (Goswami & Gandhe, 2018), el SM puede ser entendido como un conjunto de factores de riesgo, que alterados en una persona, la hacen más propensa a padecer enfermedades cardiovasculares y diabetes tipo 2 (Isomaa et al., 2001; Tune et al., 2017).

En el caso del SM, al ser una enfermedad multifactorial presenta una etiología compleja, es decir varios componentes van a estar involucrados en la predisposición y desarrollo de la enfermedad. Por un lado, se conoce un componente ambiental que involucra el estilo de vida, hábitos alimenticios, edad, entre otros, y por otro lado, se ha identificado un componente genético, determinado por la variación de genes presentes en los individuos (Carvajal et al., 2017)

La variación genética puede ser estudiada mediante el empleo de marcadores moleculares tipo Polimorfismo de Único Nucleótido (SNP), los cuales permiten explorar aquellos cambios que se dan en una sola posición dentro del genoma y que podrían estar involucrados con el desarrollo de una patología. Es importante detectar dichos polimorfismos ya que ayudarán a mejorar el diagnóstico y la evaluación de los riesgos en individuos afectados (Gibbons, 2004).

En particular este trabajo de investigación plantea caracterizar cuatro SNP, ubicados en diferentes genes de importancia metabólica y que podrían brindar información sobre la variación genética que estaría involucrada en el desarrollo del SM, información desconocida hasta el momento para la población de Bucaramanga, Santander.

Por lo tanto, se propone un estudio descriptivo que permita dilucidar la distribución de las frecuencias genotípicas y alélicas, el equilibrio de Hardy-Weinberg, así como, la distribución de haplotipos a partir de los cuatro polimorfismos rs2075291 del gen APOA5, rs2241766 del gen de la Adiponectina, rs1800571 del Gen PPAR-Gamma y rs4998 del gen Receptor Beta 3-Adrenérgico, en la población de Bucaramanga, Santander.

A continuación, se expone la organización de este documento. El capítulo 1 abarca los conceptos teóricos generales sobre la definición del SM, su origen y fisiopatología, particularmente se expone la relación del SM y el componente genético. Además, se hace énfasis en el concepto de Polimorfismo de Único Nucleótido (SNP) y se describen los genes de interés que fueron seleccionado para la realización de la presente investigación.

El planteamiento del problema se ubica en el capítulo 2, que guía la investigación con base en la problemática de salud pública actual, la cual estaría relacionada con un aumento en la prevalencia del SM. Además, se hace hincapié sobre la falta de información disponible en la actualidad para el estudio de esta enfermedad en la población de Bucaramanga, Santander.

En el capítulo 3, se exponen los objetivos a cumplir en la presente investigación.

Las características de la población muestreada, así como las consideraciones éticas son descritas en el capítulo 4. En este además se explica la metodología y técnicas empleadas para el cumplimiento de los objetivos propuestos.

Los capítulos 5 y 6 desarrollan los resultados obtenidos y la comparación de estos con diversos estudios publicados en la literatura para poblaciones en otras latitudes.

En el capítulo 7 aparecen las conclusiones, como resultados de los hallazgos más relevantes obtenidos en la presente investigación y su implicación en el desarrollo de estudios futuros.

Finalmente, en el capítulo 8 se exponen en detalle líneas para la investigación futura, que se dan origen a partir de la realización del presente trabajo y se esperan contribuyan a conocer las bases genéticas del SM en población colombiana.

1. Marco Teórico

1.1 Definición del Síndrome metabólico

La primera definición para el Síndrome Metabólico (SM) fue propuesta por Reaven en 1988, acuñó el término de síndrome X refiriéndose a esta entidad caracterizada por la presencia de resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia, aumento de los niveles plasmáticos de triglicéridos y VLDL, disminución del colesterol HDL e HTA (Reaven, 1988). A partir de allí, se ha trabajado para generar un consenso en cuanto a su definición y su diagnóstico de esta manera utilizar el síndrome metabólico como una herramienta útil y práctica para evaluar el riesgo de presentar una enfermedad cardiovascular y de desarrollar diabetes tipo 2.(K. G. M. M. Alberti et al., 2009; Lizarzaburu Robles, 2014; Saklayen, 2018). Esto es de suma importancia debido a evidencias que soportan que personas con SM tienen 3 veces más riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 y un riesgo 5 veces mayor de desarrollar una enfermedad cardiovascular, principal causa de muerte a nivel global.

Actualmente este conjunto de patologías se diagnostica con base en diferentes criterios entre los que se cuentan: los de la Organización Mundial de la Salud OMS (1999), (K. G. Alberti & Zimmet, 1998), los criterios de National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (ATP III) (2002) (ATP III, 2002) y los criterios de la International Diabetes Federation (IDF) (2006).

Tabla 1.

Resumen de los principales criterios en las tres definiciones más aceptadas para el Síndrome Metabólico.

Organización Mundial de la Salud OMS (1999)	National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (ATP III) (2002)	International Diabetes Federation (IDF) (2006)
Intolerancia a la glucosa, Diabetes Mellitus tipo 2 o Resistencia a la Insulina, junto con dos o más criterios como: • Hipertensión arterial > 140/90 mmHg • Hipertrigliceridemia (>150 mg/dl) o descenso de Colesterol (cHDL) (<35 mg/dl en hombres y <39 mg/dl en mujeres) • Obesidad central (cociente cintura-cadera >0,9 cm en hombres y >0,85cm en mujeres) • Índice de masa corporal IMC (>30 Kg/m²) (K. G. Alberti & Zimmet, 1998)	Presencia de Resistencia a la insulina más otros 3 de los siguientes criterios: • Obesidad abdominal (diámetro de la cintura 102 cm en hombres y 88 cm en mujeres). • Hipertrigliceridemia (>150 mg/dl 1.695mmol/L) • Colesterol (cHDL) <40 mg/dl en hombres y <50 mg/dl en mujeres). • Hipertensión (>130/85 mmHg). • Glucemia basal (>110 mg/dl). (ATP III, 2002)	Circunferencia de cintura > 94cm en hombre o > 80 cm en mujeres, además de incluir dos o más criterios como: • Hipertrigliceridemia (>150 mg/dl). • Disminución de Colesterol (cHDL) (<40 mg/dl en hombres o <50 mg/dl en mujeres) • Hipertensión arterial (sistólica >130 mmHg o diastólica 85 mmHg), o tratamiento de hipertensión arterial diagnosticada previamente. • Glucemia plasmática en ayunas (>100 mg/dl), o diagnóstico previo de diabetes mellitus tipo 2. (K. G. M. M. Alberti et al., 2006)

A manera general los criterios difieren en cuanto al número de consideraciones según el sexo, al número de parámetros obligatorios, y a los valores de referencia (Todos los criterios están expuestos en la Tabla 1)

En poblaciones Latino Americanas se considera que la definición propuesta por la IDF es la mejor opción ya que define al SM a partir de la relación con la obesidad central, basado en la etnia y el sexo, incluyendo de forma obligatoria dentro de sus parámetros la circunferencia de cintura (K. G. M. M. Alberti et al., 2006). Esta clasificación ha demostrado mayor sensibilidad en la detección del SM y una mayor adaptabilidad a los valores de variables antropométricas como es el perímetro de cintura (ALAD, 2010; K. G. M. M. Alberti et al., 2009; Lizaraburu Robles, 2014) En el caso de población Andina (Colombia y Ecuador), López-Jaramillo (2007) concluye que la medida de circunferencia de cintura más apropiada para los varones de estas poblaciones es de > 90 cm.(P. López-Jaramillo et al., 2007)

1.2 Prevalencia del Síndrome metabólico

A pesar de la heterogeneidad de clasificaciones y lo dificultoso que hace tener un solo estimativo, el síndrome metabólico representa uno de los principales problemas de salud pública a escala global debido a la proporción epidémica que ha tomado en los últimos años. (Han & Lean, 2016; Saklayen, 2018). A nivel mundial la prevalencia del SM va en aumento, se debe en gran parte a la ganancia de peso y la distribución de la grasa corporal que acompaña a la obesidad, puesto que los factores de riesgo que componen el SM tienden a aumentar en personas obesas. (Engin, 2017) La prevalencia reportada para el SM es de 24% según ATP III y de 35% aproximadamente según IDF a nivel mundial, siendo la obesidad abdominal el factor observable

más frecuente del SM (Quail & Dannenberg, 2019). En Estados Unidos la prevalencia reportada para el 2004 era del 32.9% , mientras en el 2012 fue del 34.7% (criterio ATPIII) observándose un incremento en los últimos años (Aguilar et al., 2015). Este mismo patrón se presenta en países de Asia donde la prevalencia oscila entre el 20 – 32% (criterio ATPIII), países como China, Corea y Taiwán reportan una tendencia en aumento de sus prevalencias sobre todo en las áreas urbanas (Ranasinghe et al., 2017).

Para América Latina la prevalencia media del síndrome metabólico es del 24% (un rango entre 18.8 - 43.3%). El país con la mayor prevalencia es México (~40%), seguido de Venezuela (~35%) y Argentina (~31%) (criterios ATPIII) (ALAD, 2010; Vizmanos et al., 2020), afectando principalmente a las mujeres y población de más de 50 años de edad (Patricio López-Jaramillo et al., 2014; Márquez-Sandoval et al., 2011). De igual forma se ha identificado en estas poblaciones que el bajo nivel de colesterol HDL es el factor de riesgo más frecuente.

En Colombia la prevalencia según el criterio IDF oscila entre el 23% y el 33% para adultos (ALAD, 2010; Ramírez-Vélez, 2015) y para adolescentes es de alrededor del 15% (Serrano et al., 2019). Un estudio reciente revela que la prevalencia del SM en adultos mayores de 70 años supera el 50% (Barranco-Ruiz et al., 2020)

Los criterios clínicos y los parámetros utilizados para realizar el diagnostico pueden ser los responsables de la variabilidad en las prevalencias observadas. Sin embargo, se debe tener en cuenta que la incidencia dependerá de la naturaleza multifactorial de la entidad como la constitución genética y características como la dieta inadecuada, el sexo, la inactividad física, la ubicación geográfica, la etnia y la condición socioeconómica (Lucumi et al., 2017)

1.3 Fisiopatología del Síndrome metabólico

El paciente con SM puede manifestar múltiples cambios fisiológicos, entre los que se incluyen la obesidad abdominal, resistencia a la insulina, elevación de la lipoproteína de baja densidad (LDL) y lipoproteína de muy baja densidad (VLDL), elevación de los triglicéridos (TG), reducción del colesterol de la lipoproteína de alta densidad (cHDL), hipertensión y DT2 (McCracken et al., 2018).

Para entender el SM se debe ver al tejido adiposo abdominal no solo como el órgano encargado de almacenar grasas, si no también, como un órgano endocrino que tiene un impacto en el metabolismo corporal por medio de la secreción de hormonas y otros metabolitos conocidos como adipoquinas (Coelho et al., 2013; Kershaw & Flier, 2004)

El continuo consumo de dietas hipercalóricas y el bajo gasto energético favorece el incremento del peso corporal a expensas de la acumulación de grasas en el tejido adiposo, conocido como obesidad. Hay dos tipos de obesidad, la obesidad periférica donde la acumulación de grasas se da principalmente en el tejido adiposos que rodea la cadera o los muslos y la obesidad central, en la que la grasa se concentra en el abdomen y alrededor de los órganos (González-Muniesa et al., 2017). En sujetos obesos con predominio de la grasa visceral, el aumento de la hidrólisis de TG desencadena la liberación de ácidos grasos libres (AGL) (Quail & Dannenberg, 2019)..

En primera instancia el aumento de AGL inhibe la acción de la insulina, evitando la captación de glucosa por parte de los tejidos periféricos. La acumulación de glucosa produce hiperglicemia, el páncreas intenta compensar esta situación mediante un hiperinsulinismo, A pesar

de la insulina adicional la hiperglicemia se mantiene y en este caso se presenta el fenómeno conocido como resistencia a la insulina (Zamora-Valdés et al., 2004).

El hiperinsulinismo y la resistencia a la insulina del SM pueden promover por sí mismas la hipertensión arterial. En presencia de un ambiente alto en AGL y TG, conocido como dislipidemia, se favorece el aumento de la filtración de lipoproteínas LDL pequeñas a través de los capilares, produciéndose un aumento de la concentración de lipoproteínas aterogénicas en el tejido intersticial, lo que facilita el depósito de colesterol en la pared de las arterias y en los macrófagos (Kaur, 2014b) (Kahn & Flier, 2000).

La hiperglicemia y el aumento de los AGL circulantes actúan concomitantemente, proporcionando los sustratos para una mayor fabricación de triglicéridos (TG) por parte del hígado (Kahn & Flier, 2000). Las alteraciones que se dan en el hígado por deficiencia en la acción de la insulina promueven el ensamblaje y la secreción de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Por otro lado, en los tejidos periféricos, la acción de la lipoproteína lipasa se ve inhibida por la falta de acción de la insulina, imposibilitando la hidrólisis de TG circulantes, manteniendo elevados los niveles de TG en plasma (Aguilera et al., 2008). El fenotipo lipoproteico propio del SM, incluye un aumento de los TG y una reducción de las lipoproteínas de alta densidad (HDL), que ocurre cuando las HDL son sometidas a la hidrólisis por parte de la lipasa hepática, aquí pierden su poder antioxidante y antiinflamatorio y acortan su vida media, por lo que el cHDL desciende (Guilherme et al., 2019).

Paralelamente, La acumulación excesiva de grasas, produce la hipertrofia general del tejido adiposo, lo que resulta en un estado proinflamatorio, debido a la producción alterada de factores inflamatorios, como leptina e interleuquina-6 y factores antiinflamatorios como la Adiponectina, todos ellos mediadores del reclutamiento de macrófagos para la reparación del tejido (Kadowaki, 2006).

1.4 Síndrome metabólico y genética

El SM es el resultado de la interacción entre factores genéticos y ambientales, como la dieta, la edad, la actividad física, el consumo de alcohol y el tabaquismo que modulan redes complejas de vías metabólicas. Los hallazgos obtenidos a partir de estudios entre familiares o entre gemelos, el espectro de heredabilidad de sus componentes y las diferentes prevalencia observadas entre las etnias han proporcionado evidencia sobre la susceptibilidad genética al desarrollo del SM (Graziano et al., 2019)

La información genética de los individuos esta almacenada en el ADN y se encuentra localizada dentro de los cromosomas. Los genes son una porción del ADN que en su secuencia llevan el código para generar proteínas, estas son las encargadas de desempeñar una función biológica determinada dentro del individuo.

En todos los individuos estos genes estarán sujetos a modificaciones que les confieren algún grado de variación, lo que significa que puede cambiar la secuencia del gen sin alterar la función de la proteína o por el contrario este cambio puede llevar a una completa modificación de la función proteica y por ende la alteración del fenotipo, llevando a la aparición de patologías. Las investigaciones de base genética para el SM han reconocido numerosos cromosomas, varios

cambios de ADN en genes candidatos y muchas variantes genéticas, que estarían asociadas con el desarrollo de SM o con alguno de sus rasgos. (Abou Ziki & Mani, 2016; Brown & Walker, 2016)

En SM los genes candidatos más estudiados son aquellos implicados en el metabolismo de los ácidos grasos y azúcares, así como algunos genes relacionados con mecanismos de acción hormonal. (Fathi Dizaji, 2018).

Tabla 2.

Resumen de los genes y SNPs de interés en este estudio.

<i>Gen</i>	<i>ADRB3</i>	<i>APOA5</i>	<i>ADIPOQ</i>	<i>PPARG</i>
<i>Localización</i>	cromosoma 8 (8p7.23)	cromosoma 11 (11q23.3)	cromosoma 3 (3q27.3)	cromosoma 3 (3p25.2)
<i>SNP</i>	rs4998	rs2075291	rs2241766	rs1800571
<i>Alelos*</i>	C>G	C>A	T>G	C>A
<i>Aminoácido/ codón</i>	N/A	G (Gly)>C (Cys)	G (Gly)>G (Gly)	P (Pro)>Q (Gln)

**todos los alelos se reportan en la orientación de la hebra positiva (forward strand).*

1.5 Polimorfismos de Nucleótido Simple (SNPs)

En la actualidad y con el desarrollo de herramientas moleculares es posible el estudio de la variación genética, rastreando los cambios de un único nucleótido, (SNP-de inglés *Single Nucleotide Polymorphism*) que sirve para verificar pequeños cambios en la secuencia de genes de

interés, que podrían incidir en la función de la proteína. El estudio de los SNPs presentes en genes es una herramienta muy utilizada para detectar la variación que pudiera asociarse con el desarrollo de una enfermedad. En enfermedades complejas, donde participan múltiples genes, este tipo de herramientas permite el estudio de pequeños cambios en genes candidatos que podrían estar implicados en la aparición de una patología.

Las variaciones genéticas se dan en el genoma de muchas maneras, los SNPs son considerados el tipo más común, ya que se presenta 1 SNP por cada 1000 pares de bases aproximadamente, lo que los hace ideales para realizar análisis poblacionales (Brumfield et al., 2003; Butler, 2012). Características como su ocurrencia, su tasa de mutación lenta, origen rastreable y la practicidad de su uso en el laboratorio, permite emplearlos como marcadores estables de variación genética (Ku et al., 2010). Los SNPs pueden ser identificados por diversas metodologías como la hibridación con sondas alelo-específicas (Allelic Specific Oligonucleotide ASO), mini secuenciación (Single Base Extensión SBE), y ligamiento de oligonucleótidos alelo-específicos (Oligonucleotide Ligation Assay OLA).

La información recopilada a partir del estudio de estos SNP permite evidenciar variaciones en la secuencia del ADN que pueden afectar la respuesta de los individuos a enfermedades, bacterias, virus, productos químicos, fármacos, por lo tanto, la detección de la base polimórfica es importante para el diagnóstico genético y la farmacogenética (Ku et al., 2010)

1.6 Genes de interés en este estudio

1.6.1 Gen *ADRB3*: Receptor Beta 3 Adrenérgico

Los receptores β -adrenérgicos (ADRB) son receptores acoplados a proteínas G que se activan por la unión específica de sus ligandos endógenos, las catecolaminas (adrenalina y noradrenalina). Los ADRB pueden ser de tres tipos, β -1 (ADRB1), β -2 (ADRB2) y β -3 (ADRB3) que son altamente homólogos y tienen funciones distintas en el metabolismo energético, de los lípidos y la glucosa en varios tejidos. (Lehman et al., 2006)

El receptor β -3 (ADRB3) es codificado a partir del gen *ADRB3* localizado en el cromosoma 8 en la región p12-p11.2 (Yang-Feng et al., 1990). El receptor se expresa principalmente en el tejido adiposo y contribuye a la lipólisis y la termogénesis en el tejido adiposo visceral mediada por la activación de la proteína desacoplante UPC1 (Brondani et al., 2014). Las anomalías moleculares en *ADRB3* están relacionadas con el desarrollo de la obesidad y la diabetes tipo 2.

Hasta el momento se han identificado casi 300 variantes diferentes dentro del gen *ADRB3* (L.-K. Yang & Tao, 2019). Una de las variantes genéticas asociadas con la alteración metabólica es el polimorfismo rs4998, estrechamente relacionado con la DT2, la obesidad y una baja tasa de oxidación de grasas principalmente detectado en población alemana. (Jesus et al., 2018; Ristow et al., 1998).

Este polimorfismo consiste en la sustitución de una citosina por una guanina (C>G) (Tabla 2) (Ryuk et al., 2017). Este cambio tiene lugar en lo que corresponde a la región 3' no traducida del gen del receptor β -3, promoviendo a nivel molecular una alteración en la expresión de este

gen, lo que se traduce en la acumulación de grasa visceral y la dificultad para perder peso (L.-K. Yang & Tao, 2019).

1.6.2 Gen APOA5: Apolipoproteína A5

El conjunto de genes de las Apolipoproteínas hace parte del clúster APOA1/CIII/AIV localizado en el cromosoma 11 en la región 11q23. Los genes codificantes de las Apolipoproteínas A, dentro de los cuales se encuentra el gen APOA5, juegan un rol significativo en el perfil lipídico de los organismos, en donde alteraciones a nivel molecular pueden llevar al aumento de la susceptibilidad a presentar arteriosclerosis. (Salehi et al., 2018; Sotos-Prieto et al., 2010)

El gen APOA5 está compuesto por 4 exones. La proteína que codifica este gen se compone de 369 aminoácidos, es secretada exclusivamente en el hígado y cumple funciones en la homeostasis de los triglicéridos en plasma (Nilsson et al., 2011). La proteína Apolipoproteína A5 (Apo-AV) es un componente de varios tipos de lipoproteínas como los quilomicrones, las lipoproteínas de muy baja densidad VLDL y las lipoproteínas de alta densidad HDL. Algunos estudios indican que la Apo-AV reduce la concentración sérica de TG por estimulación de la lipoproteína lipasa y por inhibición de la producción de VLDL en hígado; la concentración en plasma es aproximadamente 100 ng/mL (Chien et al., 2009; Nilsson et al., 2011; Sharma Vineeta et al., 2014).

Las variantes del gen APOA5 en humanos de diferentes grupos étnicos no solo influyen en la concentración plasmática de TG sino que también tienen una asociación con la prevalencia de obesidad y/o SM (Guardiola & Ribalta, 2017). Se han identificado varios polimorfismos presentes

en este gen entre los cuales se encuentra el rs2075291, el cual se refleja en una sustitución de una citocina por una adenina ubicada en el codón 185 (C >A), provocando un cambio de una glicina por una cisteína (Gly185Cys) (Tabla 2). A nivel proteico este cambio genera la sustitución de un aminoácido no polar a uno polar, que le posibilita la interacción y formación de enlaces con otras proteínas circundantes, reduciendo la efectividad en la función de la Apo-AV y comprometiendo su actividad reguladora de niveles circundantes de TG (Sharma Vineeta et al., 2014). La variante e ha logrado identificar en poblaciones de Asia. (Oh et al., 2020)

1.6.3 Gen ADIPOQ: Adiponectina

La Adiponectina es una hormona secretada por el tejido adiposo. Es una proteína presente en el plasma sanguíneo, aproximadamente en el 0.01% del total de proteínas plasmáticas. Se puede encontrar en forma completa (multimérica) o en fragmentos globulares (monomérica), su concentración depende del sexo, la edad y la etnia (Palomer et al., 2005). Su función es indispensable ya que tiene múltiples tejidos blanco, donde principalmente promueve la oxidación de ácidos grasos, mejora el metabolismo de la glucosa mediante un aumento de la sensibilidad a la insulina y reduce en gran medida los factores proinflamatorios. En hígado y músculo esquelético reduce el almacenaje de triglicéridos promoviendo su utilización; por el contrario en tejido adiposo promueve el almacenaje de grasas de forma controlada lo que posibilita el mantenimiento óptimo del tejido (Fang & Judd, 2018). El impacto de la adiponectina a nivel de células beta pancreática, se relaciona con un efecto antiinflamatorio producto de la regulación de secreción de interleucinas IL-4 y IL-10 además de mejorar la sensibilidad de las vías de señalización de la insulina. Estos múltiples resultados tienen un efecto de cardio-protección y anti-esclerótico, reduciendo los efectos producidos por la obesidad y la insulino resistencia (Ruan & Dong, 2016).

El locus del gen ADIPOQ codifica para la Adiponectina, éste se localiza en el cromosoma 3 (3q27), consta de 2 intrones y 3 exones. La región promotora del gen ADIPOQ se extiende del nucleótido -676 hasta el +41, dentro de esta región se unirán factores activadores de la transcripción como PPAR γ o factores inhibidores como la Proteína de Unión al DNA id3 (Gu, 2009).

Los exones 2 y 3 son los encargados de codificar para la proteína de 244 aminoácidos (Maeda et al., 1996). La proteína presenta un dominio globular C-terminal y un dominio colágeno N-terminal, con una secuencia señal (Gu, 2009). Los monómeros son trasladados al retículo endoplasmático en donde sufren modificaciones postraduccionales que permiten su ensamblaje en trímeros, hexámeros y multímeros (12-18 monómeros), también conocidos como adiponectina de alto peso molecular (HMW)(Yu Wang et al., 2008; Zha et al., 2017)

Algunos cambios del tipo SNPs se han asociado con alternaciones en los niveles de Adiponectina en pacientes obesos y con DT2. Dentro de los más estudiados se conocen el rs2241766 identificado en poblaciones asiáticas y europeas. Caracterizado por una sustitución de una timina por una guanina (T>G) en el exón 2 (Tabla 2) (Kanu et al., 2018). Este polimorfismo no modifica la estructura de la proteína ya que es una mutación sinónima (GGT→GGG, Gly15Gly). Sin embargo se ha reportado diferencias en las tasas de transcripción del alelo G, probablemente debido a la cercanía de este SNP con la secuencia señalizadora del gen (Oliveira et al., 2011; Zacharova et al., 2005). En otras palabras, las personas con el alelo alternativo alelo-

G tienen niveles de adiponectina reducidos en sangre, disminuyendo los efectos cardioprotectores de esta hormona. (Sahli et al., 2017; W.-S. Yang et al., 2003)

1.6.4 Gen PPARG: Receptor Activado por Proliferadores del Peroxisoma Gamma

Los receptores nucleares PPARs (Receptores Activados por Proliferadores de Peroxisomas) son factores de transcripción que se activan por la unión de ligandos específicos y regulan la expresión de genes involucrados en diversos procesos homeostáticos que incluyen inflamación, adipogénesis, metabolismo de los lípidos, homeostasis de la glucosa y resistencia a la insulina (Pakala et al., 2004; Rooki et al., 2014). Existen 3 clases de receptores PPAR α , PPAR β/δ y PPAR γ , cada uno codificado por un gen diferente.

El gen PPARG ubicado en el cromosoma 3 (3p25.2), consta de 9 exones y codifica para el receptor PPAR γ (Fajas et al., 1997). Dicho receptor tiene dos isoformas proteicas PPAR γ 1 y PPAR γ 2 (el cual tiene 30 aminoácidos más en la región N-terminal) que se originan por edición alternativa del mismo gen (Ahmadian et al., 2013; Petrosino et al., 2017). La isoforma PPAR γ 1 se expresa en múltiples tejidos predominante en el tejido adiposo, mientras PPAR γ 2 se expresa únicamente en tejido adiposo y músculo, aquí induce la diferenciación del adipocito, media la lipogénesis y mejora la sensibilidad a la insulina (Corrales et al., 2018)

Se han identificado algunos polimorfismos en el exón 4 del receptor PPAR γ 2, (Tabla 2) entre los que se encuentra el SNP rs1800571 el cual se caracteriza por un cambio de una citosina por una adenina (C>A), generando la sustitución de un residuo de prolina por uno de glutamato (Pro115Gln), este evento se ve asociado a alteraciones metabólicas relacionadas con el SM como

el riesgo de presentar Diabetes tipo II y obesidad (Petrosino et al., 2017; Ristow et al., 1998; Rooki et al., 2014). Este polimorfismo ha demostrado interferir con la desactivación de PPAR γ y por tanto da lugar a una activación constitutiva del mismo (Hamer et al., 2002; Zeke et al., 2016). Lo cual se refleja en una acelerada diferenciación del tejido adiposo acumulando TG en exceso (Chris Knouff & Johan Auwerx, 2004).

2. Planteamiento del Problema

El Síndrome Metabólico (SM) puede ser entendido como un conjunto de factores que alterados pueden hacer a una persona, más propensa a padecer diversas enfermedades entre las que se encuentran las Enfermedades Cardio Vasculares (ECV) y la diabetes tipo 2 (DT2) (Isomaa et al., 2001; Tune et al., 2017). Estas enfermedades se vuelven crónicas, empeorando la salud total del paciente debido a su asociación con múltiples complicaciones micro-vasculares como la retinopatía, nefropatía y neuropatía y macro-vasculares como el infarto agudo de miocardio, enfermedades cerebrovascular y vascular periférica (Rodríguez Bolaños et al., 2010).

En el mundo estas enfermedades se catalogan como las primeras causas de muerte, fenómeno que ha venido empeorando en los países en desarrollo debido entre varios aspectos, cambios en el estilo de vida, estrechamente relacionados con el incremento en el consumo de dietas hipercalóricas, falta de actividad física y el estrés (OMS, 2017)(Fall & Ingelsson, 2014; Goswami & Gandhe, 2018). También, son catalogadas como enfermedades de alto costo para los sistemas de salud, debido a que quienes padecen estas enfermedades acuden con mayor frecuencia a los centros de atención médica, reciben más medicación y tienen una probabilidad mayor de ingresar

a los servicios de urgencias debido a las múltiples complicaciones (Camacho et al., 2018; Scholze et al., 2010)

El aumento global de la incidencia del SM y la DT2 a lo largo de las últimas décadas es un excelente ejemplo del impacto en la salud que supone la interacción entre el estilo de vida de una persona y su genotipo (Brown & Walker, 2016).

El estudio de la variación genética ha abierto una puerta al área médica para encontrar posibles asociaciones entre estos cambios o polimorfismos del ADN y enfermedades frecuentes en la población. Estos polimorfismos no son necesariamente la única causa de la enfermedad, pero pueden contribuir a la génesis de la enfermedad, su detección, podría ayudar en la detección temprana, prevención y evaluación del riesgo (Gibbons, 2004).

Aunque los factores genéticos están claramente implicados en el desarrollo de SM y algunas variantes genéticas se han identificado en diversas poblaciones del mundo, en Colombia son pocos los estudios de polimorfismos asociados al SM que se han realizado, por lo que se hace necesario caracterizar genéticamente a nuestra población, dilucidar la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas, verificar la presencia de diferentes haplotipos y determinar la condición de equilibrio genético de la población en estudio, para posteriormente proceder a establecer la asociación de cada uno de estos polimorfismos con el SM; podría de este modo aportar al entendimiento de esta enfermedad compleja en nuestro país y a partir de allí, reducir la morbilidad producida por esta patología y los altos costos en salud que supone su tratamiento (Caro-Gomez et al., 2018; L. Monda et al., 2010)

3. Objetivos

3.1 Objetivo General

Caracterizar poblacionalmente los polimorfismos rs2075291 del gen APOA5, rs2241766 del gen de la Adiponectina, rs1800571 del Gen PPAR-Gamma y rs4998 del gen Receptor Beta 3-Adrenérgico, que podrían estar asociados con el Síndrome Metabólico, en una muestra de individuos de Bucaramanga, Santander.

3.2 Objetivos Específicos

- Estimar las frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos rs2075291 del gen APOA5, rs2241766 del gen de la Adiponectina, rs1800571 del gen PPAR-Gamma y rs4998 del Receptor Beta 3-Adrenérgico, en una población procedente de Bucaramanga, Santander.
- Evaluar la condición de equilibrio de Hardy Weinberg en los polimorfismos rs2075291 del gen APOA5, rs2241766 del gen de la Adiponectina, rs1800571 del gen PPAR-Gamma y rs4998 del Receptor Beta 3-Adrenérgico, en una población procedente de Bucaramanga, Santander.
- Estimar las frecuencias haplotípicas con respecto a los polimorfismos rs2075291 del gen APOA5, rs2241766 del gen de la Adiponectina, rs1800571 del gen PPAR-Gamma y rs4998 del Receptor Beta 3-Adrenérgico, en una población procedente de Bucaramanga, Santander.

4. Metodología

4.1 Población de Estudio

La población a partir de la cual se desarrolló este trabajo de tesis consistió en 531 individuos provenientes de Bucaramanga, Santander, seleccionados de forma aleatoria del banco de muestras del estudio sobre Incidencia de Enfermedades cardiovasculares y de sus Factores (INEFAC). Los donantes de las muestras son individuos de entre 15 y 69 años, de estratos 2 y 3, residentes en Bucaramanga, no relacionados entre sí, quienes previamente en el marco del estudio INEFAC firmaron un consentimiento informado, autorizando el uso de su material biológico en estudios futuros incluyendo estudios genéticos. (Apéndice B.)

A cada uno de los pacientes se les realizó como parte del estudio la toma de medidas antropométricas de presión arterial, talla, peso, diámetro de cintura, entre otros. Además, se realizó una glucemia en ayunas y un perfil lipídico completo, como parte de pruebas bioquímicas que fueron acompañadas de un programa de control de calidad interno y externo, a fin de garantizar tanto la exactitud como la precisión de las pruebas.

4.2 Cálculo de tamaño de muestra

La determinación del tamaño de muestra para obtener resultados estadísticamente significativos se realizó considerando el tamaño que permitiera encontrar individuos con el alelo menos frecuente del polimorfismo rs2241766 del gen de la adiponectina, ya que se cuenta con evidencia de su presencia en población colombiana. La frecuencia reportada para este polimorfismo en el Proyecto de los 1000 genomas en Fase 3[†], es de 0.186.

El cálculo se realizó a través de la calculadora del tamaño de muestra disponible <http://www.mey.cl/html/samplesize.html>, para lo cual se consideró un margen de error igual a α : 5%, y un nivel de confianza del 95%. El valor de tamaño de muestra arrojado fue de 227 individuos.

[†]https://feb2021.archive.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=3:186852603-186853603;v=rs2241766;vdb=variation;vf=91832476

4.3 Toma de Muestras

Se incluyeron en el estudio muestras de personas que manifestaron mediante firma del consentimiento informado, la posibilidad de utilizar su material biológico en estudios genéticos futuros. Estas muestras se obtuvieron mediante punción en vena periférica para la obtención de una mancha de sangre en papel FTA. Se asignó una codificación a cada una de las muestras para mantener su anonimato en la base de datos.

La toma de las muestras, el manejo de la información sobre datos personales, antropométricos, clínicos y de laboratorio de las personas seleccionadas se llevó a cabo siguiendo los protocolos y parámetros establecidos en el proyecto INEFAC, que se basó en recomendaciones internacionales para toma de muestras de sangre a partir de las cuales se obtendrá ADN para hacer análisis molecular.

4.4 Extracción de ADN

Se realizó una extracción de ADN a partir de manchas en papel FTA utilizando la metodología de perlas magnéticas PrepFilter (Applied Biosystems®). Estas manchas se encuentran conservadas en el Laboratorio de Genética de la Facultad de salud UIS.

4.5 Cuantificación del material genético

Para calcular la concentración de ADN genómico se tomó 1 μ L de ADN y se ubicó en el espectrofotómetro NanoDrop 1000 ThermoScientific® el cual midió la concentración y calidad del ADN.

4.6 Detección de los polimorfismos

Para cumplir los objetivos propuestos en esta investigación se analizaron regiones polimórficas de los genes ADRB3, APOA5, ADIPOQ y PPARG, los polimorfismos a estudiar son de tipo Single Nucleotic Polymorphism (SNP) y para su detección se utilizó la metodología de SNaPshot (Applied Biosystems®) (Figura 1).

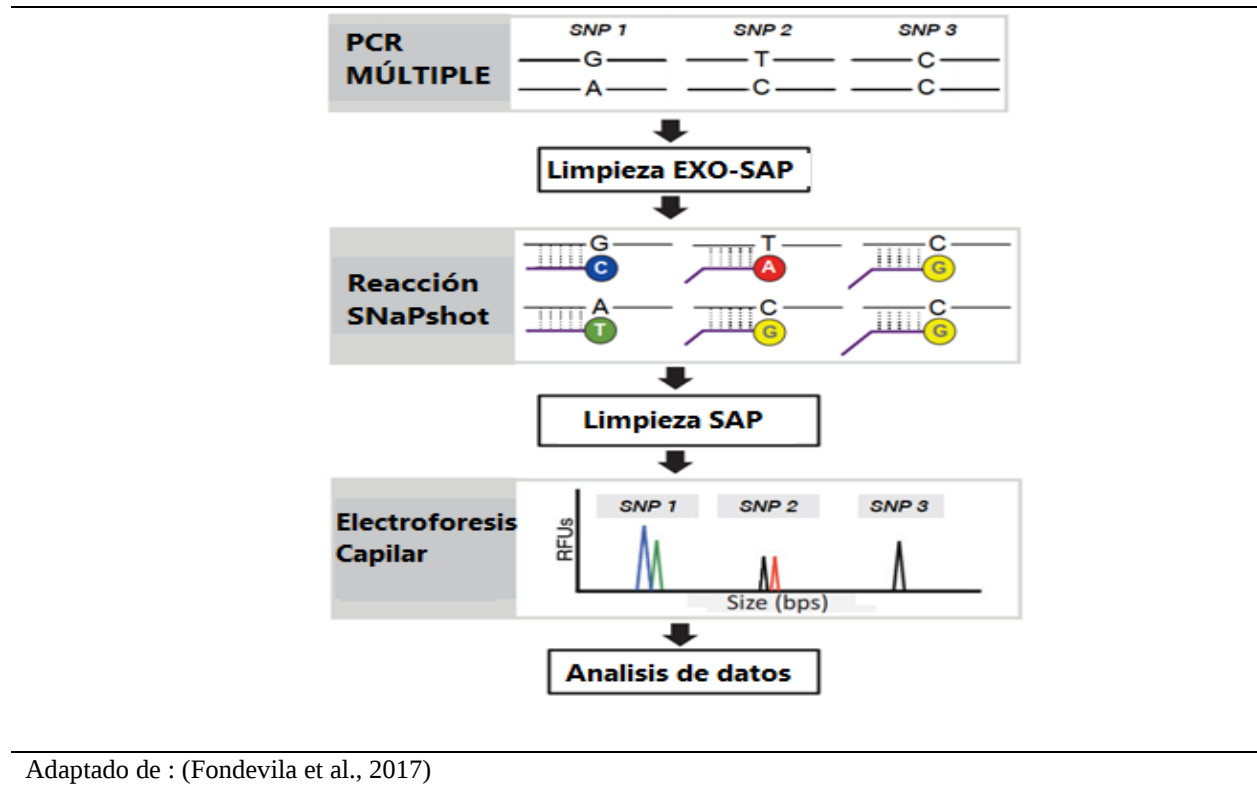
En principio fueron empleados cebadores específicos no marcados, encargados de obtener numerosas copias de las regiones polimórficas de los 4 genes en estudio, llevando a cabo una PCR múltiple (Tabla 3)

Los amplificados obtenidos en la PCR fueron sometidos a minisecuenciación que tiene como propósito realizar una Extensión de una Sola Base (SBE) que incorpora un único dideoxinucleótido (ddNTP), en el sitio específico donde se encuentra el SNP de interés (Figura 1).

Para el proceso de minisecuenciación se adicionó cloruro de magnesio, los ddNTPs marcado con fluorocromos, la ADN polimerasa y cebadores tipo sonda que reconocen la región inmediatamente colindante a cada SNP o a la base nitrogenada de la hebra de enfrente del SNP, permitiendo de esta forma la detección del polimorfismo mediante fluorescencia.

Figura 1.

Esquema de los pasos del proceso de SNaPshot y descripción de la reacción de Extensión de una Sola Base.



Cada ddNTP está marcado con un fluorocromo y carece del grupo hidroxilo del carbono 3' de la desoxirribosa, esto genera un bloqueo de la polimerización de la cadena azúcar-fosfato impidiendo la formación del enlace fosfodiéster entre este ddNTP incorporado y el grupo fosfato del siguiente nucleótido (Di Cristofaro et al., 2010)

Al finalizar la minisecuenciación, los productos fueron separados en una electroforesis capilar en el equipo ABI PRISM 310 de Applied Biosystems donde a medida que los fragmentos

avanzan por el capilar, son detectados al recibir la señal del láser que excitaba los fluorocromos de los ddNTPs y estos emiten una señal fluorescente de un color determinado: verde para la Adenina, amarillo para la Citosina, azul para la Guanina y rojo para la Timina. Esta señal fluorescente fue captada y analizada por el software GeneMapper del equipo, generando un electroferograma que permitió la identificación de la base nitrogenada (SNP) que estaba allí ubicada (Figura 1).

4.6.1 Diseño de cebadores

Se emplearon cebadores diseñados específicamente para los polimorfismos analizados, se utilizaron 8 cebadores para la identificación de la región de interés y 4 cebadores adicionales (sondas) para la detección de los polimorfismos rs4998 del gen ADRB3, rs2075291 del Gen APOA5, rs2241766 del Gen de la Adiponectina y rs1800571 del Gen PPARG. Apéndice A. (Perez-Forero, V L et al., 2021)

4.6.2 Amplificación del material genético

La amplificación de los 4 SNPs se realizó de forma simultánea mediante la técnica de PCR multiplex. Las condiciones de amplificación se llevaron a cabo con 0.5-5 ng/ μ L de ADN en 25 μ L de reacción de PCR que contenía: 2X Qiagen Multiplex PCR Master Mix (www.qiagen.com), 10X de mix de primers y 3 μ L de H₂O. Se siguió el protocolo descrito por (Mantilla et al., 2017; PEREZ FORERO, 2015)

Tabla 3.

Condiciones de PCR para la amplificación de fragmentos en forma múltiple.

Pasos	Temperatura	Tiempo	Numero de ciclos
Denaturación inicial	95°C	15 min	1
Denaturación	94°C	30 seg	10
anillamiento	60°C	90 seg	
Extensión	72°C	60 seg	
Denaturación	94°C	30 seg	20
anillamiento	58°C	90 seg	
Extensión	72°C	60 seg	
Extensión final	72°C	60 min	1

4.6.3 Purificación de los productos amplificados

Los amplificados se purificaron empleando las enzimas SAP y EXO SAP-IT® (Amercham Pharmacia Biotech) para eliminar el ADN no amplificado.

4.6.4 Minisequenciación

Se realizó la tipificación de los SNPs por minisequenciación empleando 2.5 µL del kit de SNaPshot (Applied Biosystems ®), 1.5 µL de la mezcla de cebadores (una sonda específica para

cada SNP), y 2.0 μL del producto amplificado, permitiendo la identificación del SNP, al momento de la incorporación del ddNTP a continuación de la sonda (Tabla 4).

Tabla 4.

Programa de amplificación SNaPshot

30 ciclos			Paso final
Desnaturalización	Anillamiento	Extensión	4°C ∞
96°C	55°C	60°C	
10 segundos	5 segundos	30 segundos	

4.6.5 Purificación de los productos de minisequenciación

A los 6 μL de reacción obtenidos luego de emplear la técnica del SNaPshot se adiciono 1 μL de enzima fosfatasa SAP de concentración 1 U/ μL . Este proceso requiere la activación y posterior desactivación de la enzima por medio de la aplicación de calor.

4.6.6 Separación de productos por electroforesis capilar

Al finalizar la minisequenciación, los productos se corrieron en una electroforesis capilar en el equipo ABI PRISM 310® de Applied Biosystems. Cada muestra fue analizada utilizando 12 μL de Formamida, 0.3 μL de marcador de peso molecular GeneScan™ 120 LIZ® (Thermo Fisher) con 3 μL de minisequenciado purificado. Las condiciones de corrida electroforética fueron: Run

Module: SNP 36 POP4 Dye Set E5, Run Voltage: 15 KV, Run Time 1000sg Injection Time 20sg, Injection Voltage 2.

4.6.7 Análisis de los electroferogramas

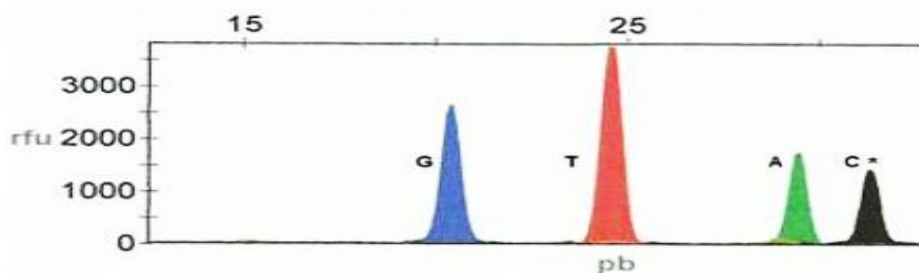
Los electroferogramas resultantes de cada una de las muestras y de los controles (negativo y positivo), se observaron y analizaron para identificar el ddNTP incorporado en el lugar específico de cada SNPs mediante el programa GeneMapper v3.2 (Applied Biosystems).

Los controles positivo y negativo fueron proporcionados del estudio de (Mantilla et al., 2017).

Se estableció el genotipo respectivo para cada muestra construyendo un base de datos en Excel con la información de cada uno de los cuatro polimorfismos. La lectura se realizó por triplicado, (tres operadores de forma independiente). La asignación de genotipo se basó en el color de la señal fluorescencia emitida por el ddNTP marcado. (Figura 2)

Figura 2.

Asignación de las bases nitrogenadas de acuerdo con el marcaje con fluorocromo.



Nota.: Guanina (G), Timina (T), Adenina (A), Citocina (C).

* Fluorocromo amarillo (Citocina se observa en color negro)

En los casos donde el cebador tipo sonda hibrida en sentido 5'→3', se reportó la base observada en el electroferograma. Únicamente para los SNPs rs4998 (ADRB3) y rs2241766 (ADIPOQ), donde la sonda empleada se hibrida en un sentido reverso 3'←5', se reportó la base complementaria. (Tabla 5)

Tabla 5.

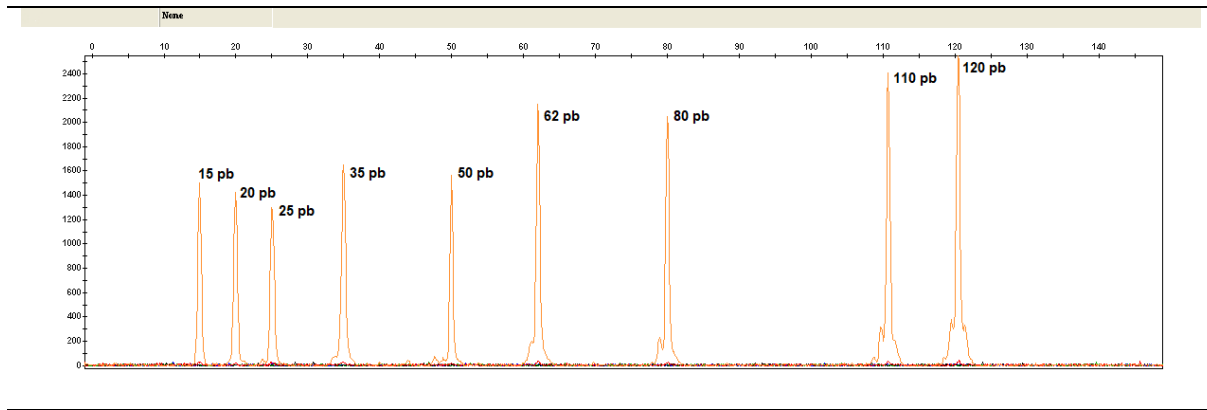
Identificación de las bases nitrogenadas de los polimorfismos

Polimorfismo	Sentido sonda	Señal de fluorescencia		Mutación	Base detectada
rs4998 (ADRB3)	3'←5'	G ■	C ■	C > G	Complementaria
rs2075291(APOA5)	5'→3'	C ■	A ■	C > A	SNP
rs2241766 (ADIPOQ)	3'←5'	A ■	C ■	T > G	Complementaria
rs1800571 (PPARG)	5'→3'	C ■	A ■	C > A	SNP

Se empleó el marcador interno GeneScan™ 120 LIZ™ (Figura 3) para asignar los pesos de los picos fluorescentes según el alelo detectado a partir de la unión de los ddNTPs en la minisecuencia.

Figura 3.

Electroferograma donde se muestra el marcador de peso molecular GeneScan™ 120 LIZ™



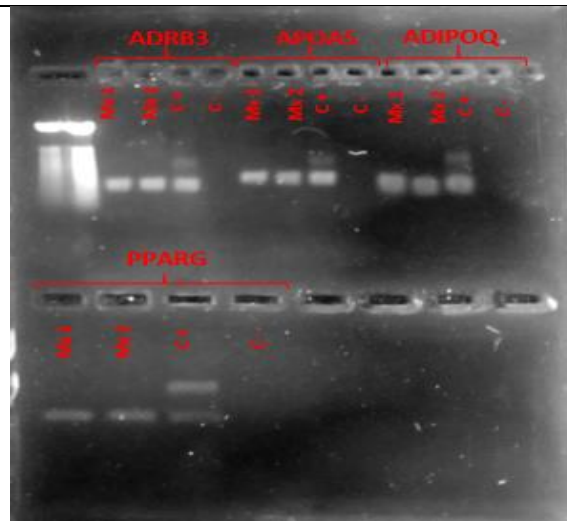
pb = pares de bases

4.6.8 Controles de calidad

Antes de realizar la minisecuenciación a cada muestra, se comprobó el correcto funcionamiento los primers forward y reverse, para cada uno de los polimorfismos, por medio de una electroforesis en gel de agarosa 1.5%, en ésta se observaron los tamaños de amplificado de 185 pb para el polimorfismo rs4998, 213 pb para el rs2075291, 130 pb para el rs2241766 y 104 pb para el rs1800571. (Figura 4.)

Figura 4.

Gel de agarosa 1.5% donde se muestran los amplificados para cada uno de los polimorfismos analizados.



4.7 Análisis estadístico

4.7.1 Frecuencias alélicas y genotípicas

Se realizó un estudio descriptivo del tipo corte transversal, donde se estimaron las frecuencias genotípicas por conteo directo y las frecuencias alélicas se calcularon basados en el método descrito por Hartl D. L. en 1998 (HARTL, D. L., 2001), empleando el software Arlequín v3.5 (Excoffier et al., 2007), con el objeto de identificar las diferencias significativas entre los cuatro polimorfismos.

4.7.2 Equilibrio de Hardy-Weinberg

Para comprobar si la población se encontraba en Equilibrio Hardy-Weinberg (EHW), se compararon las frecuencias genéticas observadas con las esperadas en el test exacto de Hardy-Weinberg (Excoffier et al., 2007). Para el análisis un $p < 0,05$ se consideró significativo.

Se calculó el índice de fijación F_{IS} con el software Arlequin 3.5.1.2 (Excoffier et al., 2007), este estimador se ha implementado para medir la pérdida de diferenciación genética producto de la endogamia dentro de una misma población (Cordell & Clayton, 2005). De igual forma, se realizó una prueba de desequilibrio de asociación entre los locus utilizando como parámetro más de 100.000 permutaciones.

4.7.3 Frecuencias Haplotípicas

Las frecuencias haplotípicas fueron estimadas mediante el algoritmo ELB (Excoffier-Laval-Balding), y para los haplotipos más frecuentes se calculó el desequilibrio de ligamiento para cada par de alelos utilizando el paquete Arlequin versión 3.5.1.2. (Excoffier et al., 2007), un valor de $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo.

4.7.4 Consideraciones éticas

Desde el punto de vista ético, la presente investigación se fundamenta en los principios establecidos en la declaración de Helsinki, principios éticos para las investigaciones médicas en

seres humanos que la Asociación Médica Mundial ha promulgado (WMA - The World Medical Association-, 2013). Dicha declaración es una propuesta de principios éticos que sirven para orientar a los médicos y a otras personas que realizan investigación médica en seres humanos, incluyendo la investigación del material humano o de información identificable. En el contexto establecido anteriormente, en el presente estudio se tendrá en cuenta, además de los principios en la declaración de Helsinki, lo contemplado en la resolución 8430 de 1993 expedida por el Ministerio de Salud de Colombia.

De acuerdo con la resolución 8430 de 1993, se considera a este proyecto una investigación con riesgo mínimo, dado que se emplean técnicas de investigación sin realizar alguna modificación intencionada de las variables identificadas.

Los principios éticos que se aplican para este estudio están centrados en el criterio de confidencialidad para con los datos obtenidos, solo se suministrarán resultados del análisis de los datos, y no se proporcionarán los datos particulares. La información será utilizada para el beneficio de la comunidad fortaleciendo en conocimiento sobre esta patología en pro del desarrollo de actividades de promoción y prevención de la salud.

Se tendrá en cuenta la normatividad internacional para estudios genéticos por ello se realizará firma de consentimiento informado por parte de la paciente (Apéndice B).

Esta investigación cuenta con la aprobación por parte del Comité de Ética en Investigación Científica de la Universidad Industrial de Santander (Apéndice C).

5. Resultados

5.1 Muestreo

Se incluyeron 531 muestras de individuos procedentes de la base de datos de INEFAC, de los cuales 214 fueron hombres y 317 fueron mujeres. La edad mínima fue de 15 años para cada sexo y la edad promedio fue de 34 años. Se verificó la firma del consentimiento informado para cada uno de los individuos y el disentimiento para aquellas personas menores de edad.

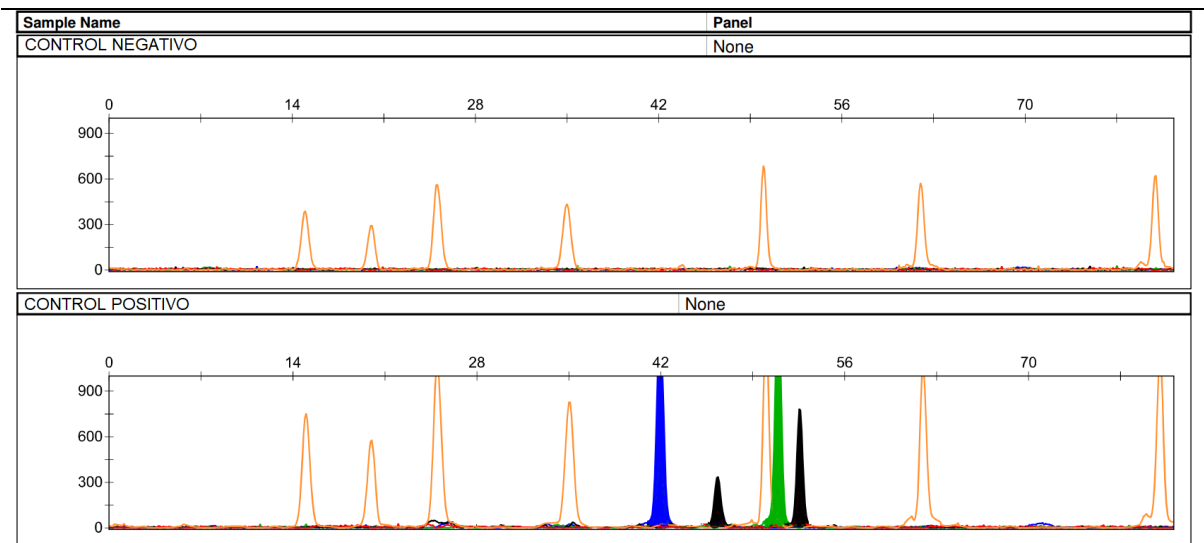
5.2 Análisis genético

Mediante el resultado de la electroforesis capilar se identificaron los polimorfismos de los rs4998 del Receptor Beta 3-Adrenérgico, rs2075291 del Gen APOA5, rs2241766 del Gen de la Adiponectina y rs1800571 del Gen PPARG. Los electroferogramas de cada muestra fueron leídos por 3 personas de forma independiente y se construyó una base de datos con el consolidado de las lecturas, posteriormente en los rs4998 y rs2241766 se transformaron los alelos correspondientes al SNP, donde la lectura se realizó con la base complementaria (Tabla 5).

En cada corrida se incluyó un control positivo y uno negativo para cada montaje en el ABI PRIMS 310 (Figura 5).

Figura 5.

Electroferogramas en donde se muestra el control negativo y el control positivo.



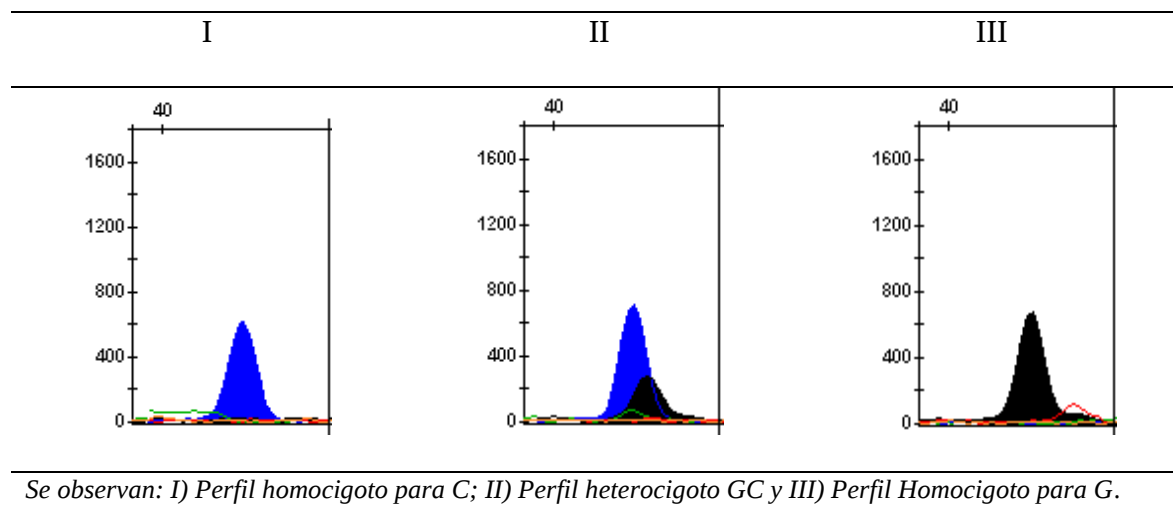
Nota: Se observa el perfil genético de los polimorfismos rs4998 del ADRB3; rs2075291 del Gen APOA5; rs2241766 del Gen de la ADIPOQ y rs1800571 del Gen PPAR-G.

5.2.1 Polimorfismo rs4998 del Receptor Beta 3-Adrenergico

En la muestra analizada se logró observar perfiles para los tres genotipos esperados, 414 individuos presentaron el genotipo homocigoto ancestral CC (como se detecta la base complementaria del SNP, el pico se observa azul), 108 individuos fueron heterocigotos GC (azul y negro) y 9 individuos mostraron ser homocigotos para el alelo mutado con el perfil GG (como se detecta la base complementaria del SNP, el pico se observa negro) (Figura 6).

Figura 6.

Electroferograma polimorfismo rs4998 del gen ADRB3 donde

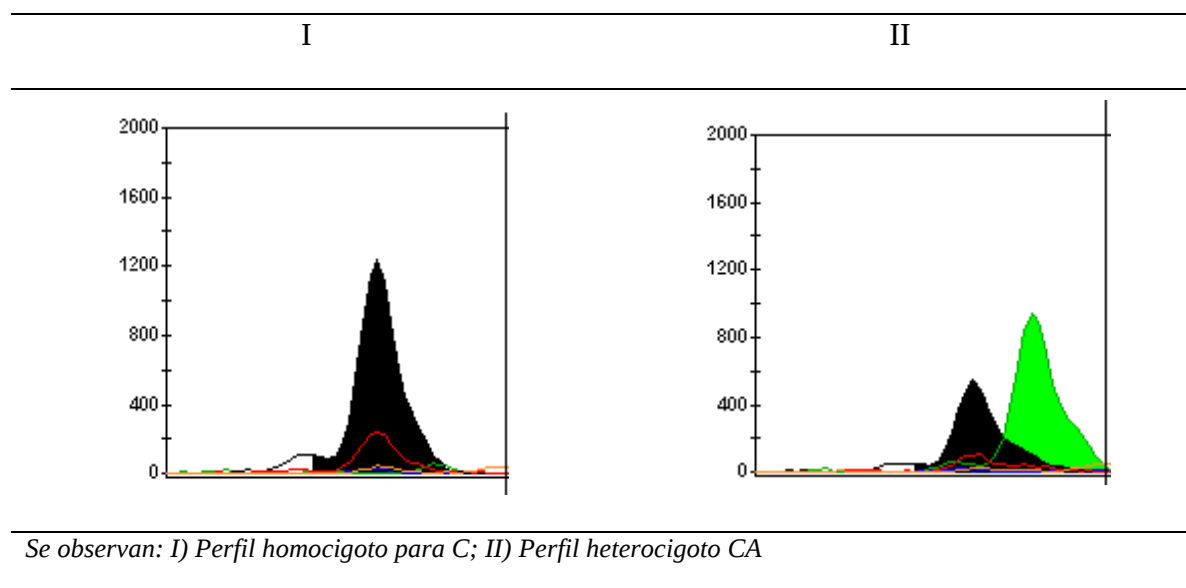


5.2.2 Polimorfismo rs2075291 del gen de la Apolipoproteína A5

En la muestra analizada se logró observar dos de los tres perfiles de genotipos esperados. 527 individuos presentaron el genotipo homocigoto ancestral CC (negro), 4 individuos fueron heterocigotos CA (negro y verde) y no se observaron individuos homocigotos para el alelo mutado (AA) (Figura 7).

Figura 7.

Electroferograma polimorfismo rs2075291 del gen de la Apolipoproteína A5 (APOA5).

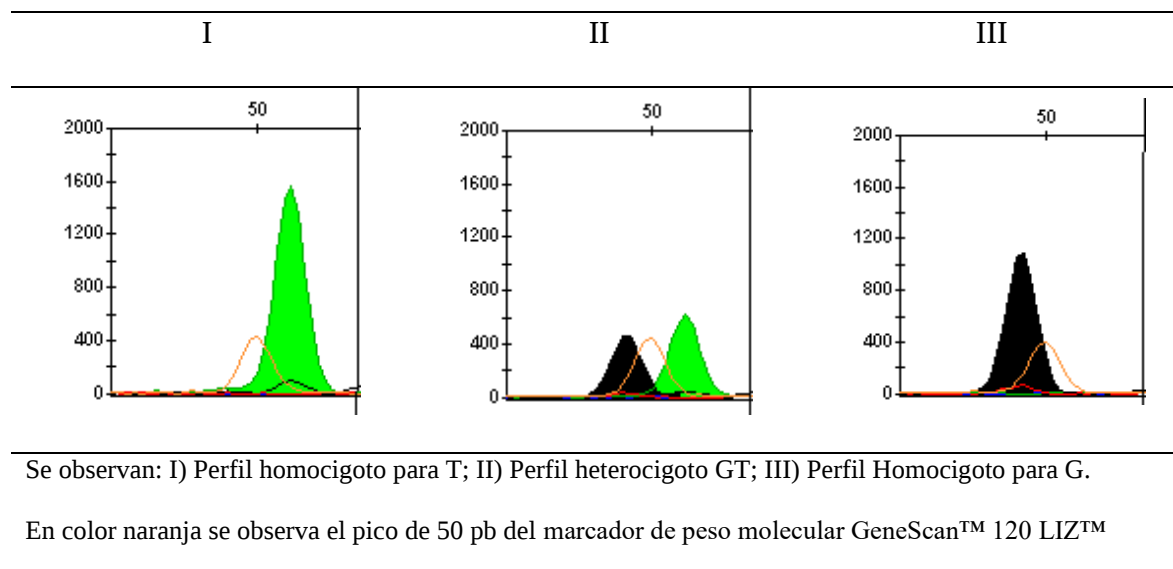


5.2.3 Polimorfismo rs2241766 del gen de la Adiponectina

En la muestra analizada se logró observar perfiles para los tres genotipos esperados, 322 individuos presentaron el genotipo homocigoto ancestral TT (como se detecta la base complementaria del SNP, el pico se observa verde), 187 individuos fueron heterocigotos TG y 22 individuos mostraron ser homocigotos para el alelo mutado con el perfil GG (como se detecta la base complementaria del SNP, el pico se observa negro) (Figura 8)

Figura 8.

Electroferograma polimorfismo rs2241766 de la Adiponectina (ADIPOQ).

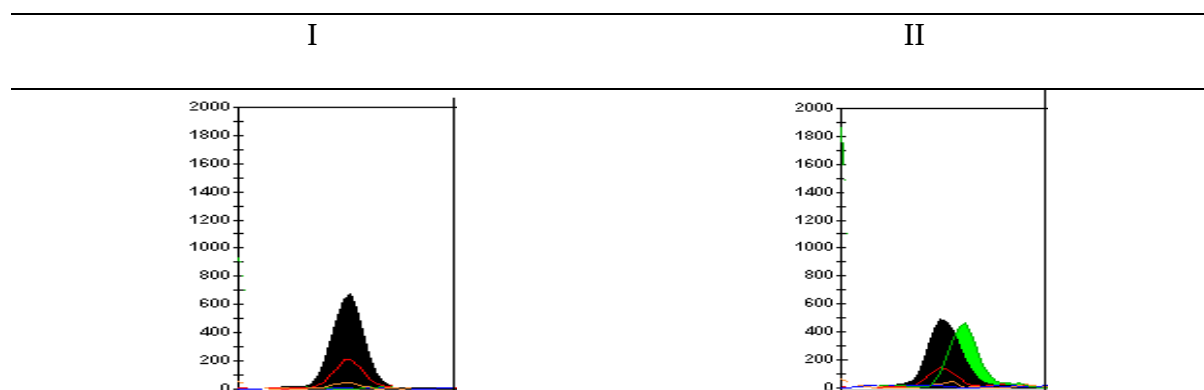


5.2.4 Polimorfismo rs1800571 del PPARG

En la muestra analizada se logró observar dos de los tres perfiles de genotipos esperados. 525 individuos presentaron el genotipo homocigoto ancestral CC (negro), 6 individuos fueron heterocigotos CA (negro y verde) y no se observaron individuos homocigotos para el alelo mutado (AA) (Figura 9)

Figura 9.

Electroferograma polimorfismo rs1800571 del gen PPARG,



Se observan: I) Perfil homocigoto CC; II) Perfil heterocigoto CA.

5.3 Frecuencias genotípicas y alélicas

A partir de la tipificación de los 4 SNPs en genes relacionados con el síndrome metabólico en el total de la muestra, se calcularon las frecuencias genotípicas de cada polimorfismo en la población estudiada.

En todos los polimorfismos analizados se observaron con mayor frecuencia los genotipos para el alelo ancestral y menos frecuente los genotipos de individuos homocigotos para el alelo mutado. (Tabla 6)

El genotipo homocigoto (CC) para el sistema rs2075291 APOA5 exhibió la frecuencia más alta de la población (0.9925), seguido de los genotipos homocigoto (CC) de PPARG y homocigoto (CC) para ADRB3, con frecuencias de 0.9944 y 0.7797 respectivamente y el genotipo (TT) para el sistema rs2241766 ADIPOQ con frecuencia de 0.6064. (Tabla 6)

Tabla 6.*Frecuencias genotípicas y alélicas para los polimorfismos analizados. .*

Polimorfismo	N	Genotipo	Frecuencia Genotípica	Frecuencia Alélica	
ADRB3 (rs4998)	414	CC	0.7797	C	0.8814
	108	GC	0.2034	G	0.1186
	9	GG	0.0169		
APOA5 (rs2075291)	527	CC	0.9925	C	0.9962
	4	CA	0.0075	A	0.0038
	0	AA	0.0000		
ADIPOQ (rs2241766)	322	TT	0.6064	T	0.7825
	187	TG	0.3522	G	0.2175
	22	GG	0.0414		
PPARG (rs1800571)	525	CC	0.9887	C	0.9944
	6	CA	0.0113	A	0.0056
	0	AA	0.0000		

En todos los polimorfismos se detectaron individuos heterocigotos, siendo el rs2241766 de ADIPOQ el de mayor frecuencia (0.3522) y el sistema rs2075291 el de menor frecuencia de heterocigoto CA (0.0075).

Para los polimorfismos rs2075291 del gen APOA5 y rs2241766 del gen PPARG no se detectaron individuos homocigotos para el alelo mutado (Tabla 6).

El análisis de las frecuencias reportadas en esta población evidencia, al alelo ancestral con las mayores frecuencias en los 4 marcadores evaluados (Tabla 6). El alelo con menor frecuencia en la población se dio para el marcador APOA5 rs2075291, donde el alelo derivado (A) mostro una frecuencia de 0.0038.

5.4 Evaluación del equilibrio de Hardy Weinberg

Al evaluar el equilibrio de Hardy Weinberg (EHW) en la población total, se evidenció que todos los sistemas se encontraron bajo equilibrio ($p > 0,05$) (Tabla 7).

Tabla 7.

Equilibrio de Hardy Weinberg (EHW) para los cuatro polimorfismos e índice de fijación F_{IS} .

Polimorfismo	Heterocigosidad	Heterocigosidad	EHW	F_{IS}
	Observada	Esperada	$p =$	
ADRB3 (rs4998)	0.20339	0.20933	0.53180	0.0284
APOA5 (rs2075291)	0.00753	0.00751	1	-0.0028
ADIPOQ (rs2241766)	0.35217	0.34072	0.52235	-0.0336
PPARG (rs1800571)	0.0113	0.01125	1	-0.0047

5.5 Frecuencias haplotípicas

A partir de los genotipos observados en los cuatro polimorfismos para cada uno de los individuos, se calcularon las frecuencias haplotípicas.

Se detectaron siete haplotipos diferentes de ocho posibles combinaciones haplotípicas. El haplotipo de mayor frecuencia fue CCTC con 0.6920 y de menor fue CATC con 0.0011. La combinación CCGA no se detectó en ningún individuo. (Tabla 8).

Tabla 8.

Frecuencias haplotípicas

ID	Haplotipo	Frecuencia
h1	CCTC	0.6920
h2	CCGC	0.1808
h3	GCTC	0.0842
h4	GCGC	0.0334
h5	CCTA	0.0050
h6	CAGC	0.0026
h7	CATC	0.0011
h8	CCGA	0.0005

5.6 Índice de fijación y Desequilibrio de asociación

El índice de fijación F_{IS} estimado de manera general fue $F_{IS} = -0.0090$ para los polimorfismos rs4998 del Receptor Beta 3-Adrenérgico; rs2075291 del Gen APOA5; rs2241766 del Gen de la Adiponectina y rs1800571 del Gen PPAR-G. El resultado obtenido evidenciaría que en la muestra poblacional en general están ocurriendo apareamientos preferenciales entre individuos heterocigotos (Hartl & Clark, 2007). El rs4998 del gen ADRB3 fue el único de los cuatro marcadores que presentó valor positivo del parámetro F_{IS} (Tabla 7).

La prueba de desequilibrio de asociación basada en >100.000 permutaciones, al comparar parejas de locus, no evidenció asociación entre los polimorfismos ($p > 0,05$) analizados en la muestra de estudio.

6. Discusión

Este estudio es pionero en el análisis conjunto de cuatro polimorfismos asociados al SM en la población colombiana: el rs4998 del gen del Receptor Beta 3-Adrenérgico, el rs2075291 del gen APOA5, el rs2241766 del gen de la Adiponectina y el rs1800571 del gen PPAR-Gamma.

Para la discusión se usaron como referentes estudios similares desarrollados en varias poblaciones a lo largo de los cinco continentes. Estas publicaciones presentaron resultados para las frecuencias genotípicas, las frecuencias alélicas y varios de ellos calcularon EHW. Sin embargo, ninguno de estos estudios evaluó simultáneamente los cuatro polimorfismos

considerados en este estudio, por lo cual el abordaje de la discusión se realizó de forma independiente para cada polimorfismo.

Polimorfismo rs4998 del gen del Receptor Beta-3 Adrenérgico (ADRB3)

Para este polimorfismo se encontraron estudios publicados en poblaciones de Estados Unidos (Belfer et al., 2005), Hungría (Larsen et al., 2012), Australia (Taylor et al., 2018) y de varios países incluidos en el Proyecto 1000 genomas fase 3, que reúne un conjunto de individuos americanos mezclados (AMR) con raíces latinoamericanas provenientes de México, Puerto Rico, Colombia y Perú.

Tabla 9.

Frecuencias reportadas en la literatura para el polimorfismo rs4998 del gen de ADRB3.

SNP	Referencia	País o población	número de individuos	F. genotípica			F. alélica		EHW	Prueba de Pearson
				CC	CG	GG	C	G	P =	P =
rs4998 ADRB3	Presente estudio	Colombia	531	0,7797	0,2034	0,0169	0,8814	0,1186	0,5318	
	(Belfer et al., 2005)	Estados Unidos	96	0,8226	0,1687	0,0086	0,9070	0,0930	NR	0,4350*
	(Larsen et al., 2012)	Hungría	491	0,8836	0,1128	0,0036	0,9400	0,0600	0,0036	0,0009
	(Taylor et al., 2018)	Australia	637	0,8464	0,1472	0,0064	0,9200	0,0800	0,0010	0,0290
	Proyecto 1000 genomas fase 3	AMR	347	0,7870	0,1930	0,0200	0,8830	0,1170	NR	0,9426*

*No mostraron diferencias significativas según la prueba de Pearson ($p > 0,05$)

AMR: Mezcla de americanos. Proyecto 1000 Genomas fase 3

NR: No reporta.

Las frecuencias genotípicas en la presente investigación reflejan mayoritariamente el genotipo homocigoto CC $f = 0,7797$, seguido del genotipo heterocigotos CG $f = 0,2034$ y en menor medida el genotipo homocigoto GG $f = 0,0169$. Estos hallazgos fueron similares a la distribución de los genotipos hallada en todos los estudios revisados (Tabla 9), lo que evidencia una tendencia a favorecer la presencia del genotipo ancestral.

En el caso de las frecuencias alélicas, en la presente investigación la frecuencia del alelo ancestral C fue de $f = 0,8814$ y la del alelo mutado G fue de $f = 0,1186$. Se realizó una prueba de Pearson para comparar las frecuencias halladas en la población de Bucaramanga y en las demás poblaciones. Los resultados evidenciaron que no hubo diferencias significativas entre el presente estudio y los resultados de Estados Unidos y del proyecto 1000 genomas (AMR); como era de esperarse, puesto que la población analizada en AMR incluyó individuos de Latinoamérica, entre ellos colombianos. La incorporación del alelo G podría ser producto de los procesos de mezcla que han ocurrido en estas poblaciones (Salzano & Sans, 2014). Por el contrario, la prueba de Pearson mostró diferencias significativas ($p < 0,05$) entre las frecuencias halladas en el presente estudio y las obtenidas en las muestras poblaciones de Australia y Hungría, lo que podría explicarse por la autodenominación como individuos caucásicos evidenciada en la metodología de los estudios consultados.

La población del presente estudio para este marcador se encontró en equilibrio EHW, a diferencia de lo reportado en las poblaciones de Australia, Hungría y Estados Unidos, donde el

marcador está por fuera del equilibrio, hallazgo que podría deberse a distintas fuerzas que conllevan a incrementar la forma alélica C.

Polimorfismo rs2075291 del gen de la Apolipoproteína A5 (APOA5)

Para este polimorfismo se encontraron estudios publicados en poblaciones de Asia (Taiwán, China, Japón, Corea), Medio Oriente (Turquía), Europa (República checa), África (Marruecos) y población Latinoamericana.

Las frecuencias genotípicas encontradas en la presente investigación fueron: para el genotipo homocigoto CC $f = 0,9925$, para el heterocigoto CA $f = 0,0075$ y no se observó ningún individuo con el genotipo AA. Estos resultados concuerdan con lo reportado en los estudios con población europea, oriente medio realizados por (Can Demirdöğen et al., 2012); Fahrioglu & Ergören et al., 2018); Hubá et al., 2004) y con población latinoamericana desarrollado por (Zhou et al., 2018). Por el contrario, difieren de lo reportado en poblaciones asiáticas analizadas por (Tang et al., 2006; Zhai et al., 2006; Wu et al., 2016; Chien et al., 2009; Oh et al., 2020, Kim et al., 2019; Kao et al., 2003; Hsu et al., 2006; Matsunaga et al., 2007 y Hishida et al., 2012) quienes encontraron la frecuencia del genotipo heterocigoto CA y homocigoto AA aumentadas, hallazgo que sugiere un ligero incremento de la diversidad genética (Yuchen Wang et al., 2018) para este marcador en esta región geográfica (Tabla 10).

Tabla 10.

Frecuencias reportadas en la literatura para el polimorfismo rs2075291 del gen APOA5.

SNP	Referencia	País o población	número de individuos	F. genotípica			F. alélica		EHW	Prueba de Pearson
				CC	CA	AA	C	A		
rs2075291 APOA5	Presente estudio	Colombia	531	0,9925	0,0075	0,0000	0,9962	0,0038	1	
	(Kao et al., 2003)	Taiwán	297	0,9190	0,0780	0,0030	0,9580	0,0420	>0,05	0,0014
	(Chien et al., 2009)	China	661	0,8556	0,1388	0,0056	0,9250	0,0750	>0,05	0,0000
	(Tang et al., 2006)	China	302	0,9205	0,0795	0,0000	0,9603	0,0397	>0,05	0,0019
	(Zhai et al., 2006)	China	152	0,9080	0,0860	0,0600	0,9510	0,0490	>0,05	0,0107
	(Matsunaga et al., 2007)	Japón	119	0,7983	0,1933	0,0084	0,8950	0,1050	>0,05	0,0003
	(Ouattou et al., 2014)	Marruecos	134	0,9701	0,0224	0,0075	0,9136	0,0864	< 0,05	0,0007
	(Hubá et al., 2004)	Rep. Checa	420	1	0	0	1	0	NR	0,1547*
	(Hishida et al., 2012)	Japón	1599	0,8810	0,1140	0,0050	0,9380	0,0620	0,3910	0,0000
	(Can Demirdöğen et al., 2012)	Turquía	123	0,9919	0,0081	0,0000	0,9960	0,0040	1,0000	0,9746*
	(Fahrioglu & Ergören, 2018)	Turquía	100	1	0	0	1	0	NR	0,1547*
	(Wu et al., 2016)	China	1957	0,9034	0,0950	0,0200	0,9510	0,0490	>0,05	0,0000
	(Hsu et al., 2006)	Taiwán	317	0,8707	0,1293	0,0000	0,9350	0,0650	0,0390	0,0000
	(Kim et al., 2019)	Corea	3695	0,8649	0,1302	0,0049	0,9300	0,0700	NR	0,0000
	(Zhou et al., 2018)	Latinos	17210	0,9980	0,0020	0,0000	0,9990	0,0010	NR	0,2963*
	(Oh et al., 2020)	Corea	1751	0,8668	0,1285	0,0048	0,9310	0,0690	NR	0,0000

*No mostraron diferencias significativas según la prueba de Pearson ($p > 0,05$)

NR: No reporta.

Referente a las frecuencias alélicas, en la presente investigación la frecuencia del alelo ancestral C fue de $f = 0,9962$ y del alelo mutado A fue de $f = 0,0038$. Estos resultados concuerdan con lo hallado en poblaciones europeas por Can Demirdöğen et al., (2012); Fahrioglu & Ergören et al., (2018); Hubá et al., (2004) y en poblaciones latinoamericanas por Zhou et al., (2018) donde la presencia del alelo mutado A es muy baja o no se detectó (Tabla 10).

En contraste, se hallaron diferencias significativas con la prueba de Pearson ($p < 0,05$) en las poblaciones comparadas de Asia (Tang et al., 2006; Zhai et al., 2006; Wu et al., 2016; Chien

et al., 2009; Oh et al., 2020, Kim et al., 2019; Kao et al., 2003; Hsu et al., 2006; Matsunaga et al., 2007; Hishida et al., 2012 y de África Ouatou et al., 2014) que reportan para el alelo mutado A unas frecuencias más altas (Tabla 10). Estas diferencias podrían explicarse en parte por un patrón de aislamiento por distancia (Hartl & Clark, 2007), lo que sugiere que, al encontrarse geográficamente cercanas, las poblaciones asiáticas presentarían fenómenos similares que modelaron la distribución de sus alelos de manera distinta a la evidenciada para Latinoamérica y Europa. Por otra parte, el hecho que el alelo mutado presente una frecuencia más alta, podría guardar relación con la antigüedad de las poblaciones asiáticas comparadas con las latinoamericanas (Chen et al., 2019).

Este marcador se encontró en EHW en la presente investigación, resultado acorde con lo hallado en las demás poblaciones que analizaron este marcador y que reportaron resultados para el equilibrio EHW (Tabla 10), de forma que, al momento de llevar a cabo estos estudios, las poblaciones no presentaron desviaciones importantes del equilibrio.

Polimorfismo rs2241766 del gen de la Adiponectina (ADIPOQ)

Para este polimorfismo se halló el mayor número de estudios publicados, debido a la importancia que ha ganado en los últimos años, la adiponectina en el ámbito de la salud. Se obtuvo registro de la distribución de las frecuencias en Asia (China, India, Malasia y Corea), Europa (España), Medio Oriente (Irak e Irán) y en Latinoamérica (México, Brasil, Chile y Venezuela).

Las frecuencias genotípicas halladas en el presente estudio fueron: para el genotipo homocigoto TT $f = 0,6064$, el genotipo heterocigoto TG $f = 0,3522$ y el homocigoto mutado GG $f = 0,0414$. Estos resultados están acordes con la distribución de las frecuencias genotípicas encontradas en las poblaciones de Europa y de Latinoamérica, hecho que sería de esperar teniendo en cuenta que la población europea evaluada es española, que los países latinoamericanos están muy próximos geográficamente al nuestro y que las poblaciones sudamericanas son el resultado de una mezcla entre las poblaciones aborígenes de cada región y la población europea, principalmente española (Norris et al., 2018). Por el contrario, difieren de las frecuencias genotípicas halladas en poblaciones asiáticas y de Medio Oriente (Tabla 11)

Con respecto a las frecuencias alélicas, en la presente investigación la frecuencia hallada del alelo ancestral T fue $f = 0,7825$ y del alelo mutado G fue $f = 0,2175$. Estos resultados están acordes con los reportados para población española por Gonzalez-Sanchez et al., (2005) y para las poblaciones latinoamericanas de México (Nannipieri et al., 2006), Brasil (Vendramini et al., 2010), Chile (Orellana et al., 2012) y Venezuela (Sánchez et al., 2019) Tabla 11.

Por el contrario, los resultados de la prueba de Pearson hallaron diferencias significativas ($p < 0,05$) con las frecuencias reportadas para el alelo mutado G en las poblaciones asiática de China (Wang et al., 2009) y Taiwán (Yang et al., 2003; Zhang et al., 2018), donde la frecuencia del alelo mutado G fue significativamente mayor. También se presentaron diferencias significativas con las frecuencias reportadas en poblaciones asiáticas de India (Mohammadzadeh & Zarghami, 2009) y Malasia (Zahary et al., 2020), así como las reportadas en poblaciones de Medio Oriente en Irán (Courten et al., 2005) e Iraq (Hussain et al., 2018), donde la frecuencia del alelo mutado G fue significativamente menor (Tabla 11).

Tabla 11.

Frecuencias reportadas en la literatura para el polimorfismo rs2241766 del gen ADIPOQ.

SNP	Referencia	País o población	número de individuos	F. genotípica			F. alélica		EHW	Prueba de Pearson
				TT	TG	GG	T	G		
rs2241766 ADIPOQ	Presente estudio	Colombia	531	0,6064	0,3522	0,0414	0,7825	0,2175	0,5220	
	(W.-S. Yang et al., 2003)	Taiwán	245	0,3714	0,5306	0,0980	0,6370	0,3630	NR	0,0000
	(Zacharova et al., 2005)	Europa	770	0,8060	0,1840	0,0100	0,9000	0,1000	>0,05	0,0000
	(Heid et al., 2006)	Caucásicos	1770	0,7800	0,2100	0,0100	0,8800	0,1200	NR	0,0000
	(Nannipieri et al., 2006)	México	873	0,6667	0,2990	0,0344	0,8146	0,1854	0,4	0,1482*
	(Courten et al., 2005)	India	425	0,8306	0,1624	0,0071	0,9160	0,0840	0,9	0,0000
	(Lee et al., 2005)	Corea	427	0,4707	0,4239	0,1054	0,6754	0,3246	0,7	0,0002
	(Mohammadzadeh & Zarghami, 2009)	Irán	52	0,8077	0,1923	0,0000	0,8987	0,1013	0,9	0,0107
	(Vendramini et al., 2010)	Brasil	200	0,5000	0,4250	0,0750	0,7261	0,2739	0,7	0,1201*
	(Yabing Wang et al., 2009)	China	970	0,4979	0,4010	0,1010	0,6821	0,3179	0,7	0,0000
	(Orellana et al., 2012)	Chile	126	0,6984	0,3095	0,0000	0,8357	0,1643	>0,05	0,1565*
	(Zhang et al., 2018)	China	612	0,7451	0,2435	0,0114	0,8931	0,1069	>0,05	0,0000
	(Hussain et al., 2018)	Iraq	400	0,7850	0,1950	0,0200	0,8825	0,1175	>0,05	0,0000
	(Al Hannan et al., 2016)	Medio Oriente	66	0,8485	0,1515	0,0000	0,9211	0,0789	0,004	0,0002
	(Sánchez et al., 2019)	Venezuela	44	0,6818	0,2727	0,0455	0,7868	0,2132	>0,05	0,9466*
	(Zahary et al., 2020)	Malasia	74	0,9730	0,0135	0,0135	0,9930	0,0070	NR	0,0000
	(Cerdeira-Flores et al., 2020)	México	355	0,6280	0,2960	0,0760	0,7760	0,2240	0,005	0,8194*
	(Oliveira et al., 2012)	Brasil	450	0,7647	0,2157	0,0196	0,8600	0,1400	NR	0,0014
	(González-Sánchez et al., 2005)	España	530	0,6528	0,3132	0,0340	0,8157	0,1843	>0,05	0,1766*

*No mostraron diferencias significativas según la prueba de Pearson ($p > 0,05$)

NR: No reporta.

Finalmente, en este estudio, el marcador se encontró en equilibrio de EHW. Estos resultados están acordes con los hallados en la mayoría de los estudios, con excepción del estudio en población venezolana (Cerdeira et al., 2020) y el estudio en población de medio oriente (Hannan et al., 2016) cuyos resultados están en desequilibrio de EHW. Estas desviaciones del EHW, podrían ser explicadas por un sesgo en el tamaño de muestra en el estudio de la población de medio oriente (66 individuos) y un sesgo en los individuos escogidos para la población mexicana (solo se incluyeron mujeres), lo que podría afectar la representatividad de los alelos en esas poblaciones.

Polimorfismo rs1800571 del gen del Receptor Activado por Proliferadores del Peroxisoma Gamma (PPARG)

Los estudios encontrados para este marcador analizaron poblaciones de África (Sudáfrica), Asia (Malasia), Europa (Alemania, Hungría, Polonia y Francia) y América (Estados Unidos).

Las frecuencias genotípicas encontradas en esta investigación fueron: genotipo homocigoto CC, $f = 0,9887$, genotipo heterocigoto CA, $f = 0,0113$ y no se encontraron individuos con el genotipo homocigoto AA. Estos resultados están acordes con los reportados en todos los estudios revisados Tabla 12 .

Tabla 12.

Frecuencias reportadas en la literatura para el polimorfismo rs1800571 del gen PPARG.

SNP	Referencia	País o población	número de individuos	F. genotípica			F. alélica		EHW	Prueba de Pearson
				CC	CA	AA	C	A		
rs1800571 PPARG	Presente estudio	Colombia	531	0,9887	0,0113	0	0,9944	0,0056	1	
	(Clement et al., 2000)	Francia	443	1	0	0	1	0	NR	0,0824*
	(Ristow et al., 1998)	Alemania	130	1	0	0	1	0	NR	0,0824*
	(Blüher & Paschke, 2003)	Alemania	52	1	0	0	1	0	NR	0,0824*
	(Butt et al., 2006)	Caucásicos	235	1	0	0	1	0	NR	0,0824*
	(Penyige et al., 2010)	Hungría	301	1	0	0	1	0	NR	0,0824*
	(Vergotine et al., 2014)	Sur África	598	1	0	0	1	0	NR	0,0824*
	(Zaharan et al., 2018)	Malasia	1137	1	0	0	1	0	NR	0,0824*
	(Bidzińska et al., 2004)	Polonia	45	1	0	0	1	0	NR	0,0824*
	(Shuldiner et al., 2000)	EE. UU.	983	1	0	0	1	0	NR	0,0824*

*No mostraron diferencias significativas según la prueba de Pearson ($p > 0,05$)

NR: No reporta.

Los resultados hallados en el presente estudio para las frecuencias alélicas, muestran el alelo ancestral C con $f=0,9944$ y el alelo mutado A con $f=0,0056$. Estos resultados están acordes con lo hallado en todos los trabajos revisados, lo que permite pensar que el alelo C está fijado en las poblaciones estudiadas, evento que favorece la función normal de la proteína PPAR γ (Chung et al., 2016)

Es importante destacar que, pese a que la prueba de Pearson no mostró diferencias significativas, en esta investigación se detectó la presencia del alelo A en 6 individuos heterocigotos no obesos, a diferencia de los demás estudios revisados donde el alelo A no fue detectado. El alelo mutado A de este SNP, fue descrito por Ristow et al., (1998) quienes lo detectaron en población Alemana obesa y no en la población control, al evaluar este marcador en 130 individuos sin antecedentes de obesidad, de igual manera, Blüher & Paschke., (2003) también detectaron el alelo mutado A en población alemana obesa. Dado que los estudios alemanes

muestran asociación del alelo A con la obesidad sería importante evaluar la evolución futura de este parámetro, en los individuos heterocigotos detectados en el presente estudio, teniendo en cuenta que la obesidad es uno de los factores de riesgo para el desarrollo del SM.

En este estudio el marcador estuvo dentro del equilibrio EHW y ningún otro estudio estimó este parámetro, debido a que, en las demás poblaciones solo se detectó el alelo ancestral C.

Todos los marcadores evaluados en el presente estudio se encontraron en equilibrio EHW, permitiendo inferir que la población analizada no está influenciada por factores externos como deriva genética, mutación o consanguinidad de los individuos (Hartl & Clark, 2007); además, la presencia del estado de equilibrio indica que la población estudiada es homogénea con respecto a la frecuencia y distribución de distintos alelos y posiblemente no presenta estructura genética. Esto coincidiría con lo reportado para población de Bucaramanga por (Hincapié et al., 2009; León et al., 2012) usando diferentes tipos de marcadores moleculares.

7. Conclusiones

Los genotipos de mayor frecuencia para los cuatro polimorfismos estudiados son: rs4998 del gen ADRB3 homocigoto GG con una frecuencia de 0,7797, rs2075291 del Gen APOA5 homocigoto CC con una frecuencia de 0,9925, del rs2241766 del Gen de la Adiponectina homocigoto TT con una frecuencia de 0,6064 y el rs1800571 del Gen PPARG homocigoto CC con una frecuencia de 0,9887.

Los alelos de mayor frecuencia para los cuatro polimorfismos son: rs4998 del gen ADRB3 alelo C con una frecuencia de 0,881, rs2075291 del Gen APOA5 alelo C con una frecuencia de

0,996; rs2241766 del Gen de la Adiponectina alelo T con una frecuencia de 0,7825 y rs1800571 del Gen PPARG alelo C con una frecuencia de 0.9944.

El polimorfismo con mayor número de heterocigotos TG fue el rs2241766 del Gen de la Adiponectina con una frecuencia de TG = 0,3522

El polimorfismo con menor número de heterocigotos fue rs2075291 del Gen APOA5 con frecuencia de CA = 0,0075.

Ninguno de los polimorfismos estudiados presentó desviaciones del equilibrio de Hardy Weinberg, lo que permitirá a futuro evaluar esta población, en estudios de asociación orientados a correlacionar la presencia de alguno de los alelos de estos marcadores genéticos con el desarrollo del SM.

En el presente estudio se hallaron 8 combinaciones de haplotipos, siendo el haplotipo CCTC el más frecuente con 0,6920, no se encontraron publicaciones donde se reporten frecuencias haplotípicas para estos cuatro polimorfismos, en población hispana ni colombiana, convirtiendo el presente estudio en el primer reporte de frecuencias haplotípicas para estos polimorfismos.

Este estudio aporta nueva información sobre cuatro polimorfismos asociados al SM en el país y complementa en gran medida la información existente de genes con importancia metabólica en la población de Bucaramanga Santander.

8. Recomendaciones

Los resultados encontrados en este estudio permiten avanzar a la realización de un estudio de tipo caso- control para determinar la contribución de estos cuatro polimorfismos en la aparición y desarrollo del SM en Bucaramanga.

Se recomienda en el estudio de casos y controles incluir la comparación de los haplotipos hallados en individuos con diagnóstico previo de SM (caso) y en población sana (control) para identificar posibles diferencias en la distribución de los haplotipos en estos grupos.

Para estudios venideros se recomienda evaluar otras poblaciones del país, ya que la población colombiana, debido a su historia de mestizaje, puede revelar diferencias sectoriales a lo largo del territorio colombiano.

Se recomienda realizar un seguimiento en la evolución y desarrollo de la obesidad para aquellos individuos identificados en el presente estudio como portadores del alelo mutado A del polimorfismo rs1800571 del gen PPARG, con el fin de estudiar su posible asociación genética.

Referencias Bibliográficas

- About Ziki, M. D., & Mani, A. (2016). Metabolic syndrome: Genetic insights into disease pathogenesis. *Current Opinion in Lipidology*, 27(2), 162-171. <https://doi.org/10.1097/MOL.0000000000000276>
- Aguilar, M., Bhuket, T., Torres, S., Liu, B., & Wong, R. J. (2015). Prevalence of the Metabolic Syndrome in the United States, 2003-2012. *JAMA*, 313(19), 1973. <https://doi.org/10.1001/jama.2015.4260>
- Aguilera, C. M., Gil-Campos, M., Cañete, R., & Gil, Á. (2008). Alterations in plasma and tissue lipids associated with obesity and metabolic syndrome. *Clinical Science*, 114(3), 183-193. <https://doi.org/10.1042/CS20070115>
- Ahmadian, M., Suh, J. M., Hah, N., Liddle, C., Atkins, A. R., Downes, M., & Evans, R. M. (2013). PPAR γ signaling and metabolism: The good, the bad and the future. *Nature Medicine*, 99(5), 557-566. <https://doi.org/10.1038/nm.3159>
- Al Hannan, F. A., O'Farrell, P. A., Morgan, M. P., Tighe, O., & Culligan, K. G. (2016). Associations between single-nucleotide polymorphisms of ADIPOQ, serum adiponectin and increased type 2 diabetes mellitus risk in Bahraini individuals. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 22(08), 611-618. <https://doi.org/10.26719/2016.22.8.611>
- ALAD. (2010). *Consenso Latinoamericano de la Asociación Latinoamericana de Diabetes (ALAD) Epidemiología, Diagnóstico, Control, Prevención y Tratamiento del Síndrome Metabólico en Adultos*. 18(1), 25-44.
- Alberti, K. G. M. M., Eckel, R. H., Grundy, S. M., Zimmet, P. Z., Cleeman, J. I., Donato, K. A., Fruchart, J.-C., James, W. P. T., Loria, C. M., Smith, S. C., International Diabetes

- Federation Task Force on Epidemiology and Prevention, National Heart, Lung, and Blood Institute, American Heart Association, World Heart Federation, International Atherosclerosis Society, & International Association for the Study of Obesity. (2009). Harmonizing the metabolic syndrome: A joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*, 120(16), 1640-1645. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644>
- Alberti, K. G. M. M., Zimmet, P., & Shaw, J. (2006). Metabolic syndrome—A new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabetic Medicine: A Journal of the British Diabetic Association*, 23(5), 469-480. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2006.01858.x>
- Alberti, K. G., & Zimmet, P. Z. (1998). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabetic Medicine: A Journal of the British Diabetic Association*, 15(7), 539-553. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9136\(199807\)15:7<539::AID-DIA668>3.0.CO;2-S](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9136(199807)15:7<539::AID-DIA668>3.0.CO;2-S)
- ATP III. (2002). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*, 106(25), 3143-3421.
- Barranco-Ruiz, Y., Villa-González, E., Venegas-Sanabria, L. C., Chavarro-Carvajal, D. A., Cano-Gutiérrez, C. A., Izquierdo, M., Correa-Bautista, J. E., González-Ruiz, K., & Ramírez-

- Vélez, R. (2020). Metabolic Syndrome and Its Associated Factors in Older Adults: A Secondary Analysis of SABE Colombia in 2015. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, 18(8), 389-398. <https://doi.org/10.1089/met.2019.0066>
- Belfer, I., Buzas, B., Evans, C., Hipp, H., Phillips, G., Taubman, J., Lorincz, I., Lipsky, R. H., Enoch, M.-A., Max, M. B., & Goldman, D. (2005). Haplotype structure of the beta adrenergic receptor genes in US Caucasians and African Americans. *European Journal of Human Genetics*, 13(3), 341-351. <https://doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201313>
- Bidzińska, B., Demissie, M., Tworowska, U., Slezak, R., Dobosz, T., & Milewicz, A. (2004). [Is obesity associated with a polymorphism Pro12Ala and Pro115Gln in the PPARgamma gene?]. *Polski Merkuriusz Lekarski: Organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego*, 17(100), 361-364.
- Blüher, M., & Paschke, R. (2003). Analysis of the relationship between PPAR-gamma 2 gene variants and severe insulin resistance in obese patients with impaired glucose tolerance. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes: Official Journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*, 111(2), 85-90. <https://doi.org/10.1055/s-2003-39235>
- Brondani, L. A., Duarte, G. C. K., Canani, L. H., & Crispim, D. (2014). The Presence of At Least Three Alleles of the *ADRB3* Trp64Arg (C/T) and *UCP1* -3826A/G Polymorphisms Is Associated with Protection to Overweight/Obesity and with Higher High-Density Lipoprotein Cholesterol Levels in Caucasian-Brazilian Patients with Type 2 Diabetes. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, 12(1), 16-24. <https://doi.org/10.1089/met.2013.0077>

- Brown, A. E., & Walker, M. (2016). Genetics of Insulin Resistance and the Metabolic Syndrome. *Current Cardiology Reports*, 18(8), 75. <https://doi.org/10.1007/s11886-016-0755-4>
- Brumfield, R. T., Beerli, P., Nickerson, D. A., & Edwards, S. V. (2003). The utility of single nucleotide polymorphisms in inferences of population history. *Trends in Ecology & Evolution*, 18(5), 249-256. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(03\)00018-1](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(03)00018-1)
- Butler, J. M. (2012). Single Nucleotide Polymorphisms and Applications. En *Advanced Topics in Forensic DNA Typing* (pp. 347-369). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374513-2.00012-9>
- Butt, C., Gladman, D., & Rahman, P. (2006). PPAR-gamma gene polymorphisms and psoriatic arthritis. *The Journal of Rheumatology*, 33(8), 1631-1633.
- Camacho, S., Maldonado, N., Bustamante, J., Llorente, B., Cueto, E., Cardona, F., & Arango, C. (2018). How much for a broken heart? Costs of cardiovascular disease in Colombia using a person-based approach. *PLOS ONE*, 13(12), e0208513. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208513>
- Can Demirdöğen, B., Şahin, E., Türkanoglu Özçelik, A., Bek, S., Demirkaya, Ş., & Adali, O. (2012). Apolipoprotein A5 polymorphisms in Turkish population: Association with serum lipid profile and risk of ischemic stroke. *Molecular Biology Reports*, 39(12), 10459-10468. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-1926-z>
- Caro-Gomez, M. A., Naranjo-González, C. A., Gallego-Lopera, N., Parra-Marín, M. V., Valencia, D. M., Arcos, E. G., Villegas-Perrasse, A., & Bedoya-Berrío, G. (2018). Association of Native American ancestry and common variants in ACE, ADIPOR2, MTNR1B, GCK, TCF7L2 and FTO genes with glycemic traits in Colombian population. *Gene*, 677, 198-210. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.07.066>

- Carvajal, D., Manquillo, J.-C., Rosero-Caldon, A.-B., Perafán-Collazos, J., Álvarez, R., Montero, J., & Cajas-Salazar, N. (2017). *Evaluación de daño genético en pacientes con síndrome metabólico en una población del Cauca, Colombia. Un estudio caso-control.* 10.
- Cerda-Flores, R. M., Camarillo-Cárdenas, K. P., Gutiérrez-Orozco, G., Villarreal-Vela, M. P., Garza-Guajardo, R., Ponce-Camacho, M. A., Castruita-Ávila, A. L., González-Guerrero, J. F., Rodríguez-Sánchez, I. P., Calderón-Garcidueñas, A. L., Rodríguez-Gutierrez, H. F., Arellano-Barrientos, J. C., Gutierrez, O. V., Saldaña, H. A. B., & Garza-Rodríguez, M. L. (2020). ADIPOQ single nucleotide polymorphisms and breast cancer in northeastern Mexican women. *BMC Medical Genetics*, 21(1), 187. <https://doi.org/10.1186/s12881-020-01125-8>
- Chen, P., Wu, J., Luo, L., Gao, H., Wang, M., Zou, X., Li, Y., Chen, G., Luo, H., Yu, L., Han, Y., Jia, F., & He, G. (2019). Population Genetic Analysis of Modern and Ancient DNA Variations Yields New Insights Into the Formation, Genetic Structure, and Phylogenetic Relationship of Northern Han Chinese. *Frontiers in Genetics*, 10. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01045>
- Chien, K.-L., Hsu, H.-C., Chen, Y.-C., Su, T.-C., Lee, Y.-T., & Chen, M.-F. (2009). Association between sequence variant of c.553 G > T in the apolipoprotein A5 gene and metabolic syndrome, insulin resistance, and carotid atherosclerosis. *Translational Research*, 154(3), 133-141. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2009.06.005>
- Chris Knouff & Johan Auwerx. (2004). Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ Calls for Activation in Moderation: Lessons from Genetics and Pharmacology | Endocrine Reviews | Oxford Academic. *Endocrine Reviews*, 25((6)), 899-918. <https://doi.org/10.1210/er.2003-0036>

- Chung, S., Kim, Y. J., Yang, S. J., Lee, Y., & Lee, M. (2016). Nutrigenomic Functions of PPARs in Obesogenic Environments. *PPAR Research*, 2016, 4794576. <https://doi.org/10.1155/2016/4794576>
- Clement, K., Hercberg, S., Passinge, B., Galan, P., Varroud-Vial, M., Shuldiner, A., Beamer, B., Charpentier, G., Guy-Grand, B., Froguel, P., & Vaisse, C. (2000). The Pro115Gln and Pro12Ala PPAR gamma gene mutations in obesity and type 2 diabetes. *International Journal of Obesity*, 24(3), 391-393. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0801191>
- Coelho, M., Oliveira, T., & Fernandes, R. (2013). Biochemistry of adipose tissue: An endocrine organ. *Archives of Medical Science : AMS*, 9(2), 191-200. <https://doi.org/10.5114/aoms.2013.33181>
- Cordell, H. J., & Clayton, D. G. (2005). Genetic association studies. *Lancet (London, England)*, 366(9491), 1121-1131. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67424-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67424-7)
- Corrales, P., Vidal-Puig, A., & Medina-Gómez, G. (2018). PPARs and Metabolic Disorders Associated with Challenged Adipose Tissue Plasticity. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(7), 2124. <https://doi.org/10.3390/ijms19072124>
- Courten, B. V. de, Hanson, R. L., Funahashi, T., Lindsay, R. S., Matsuzawa, Y., Tanaka, S., Thameem, F., Gruber, J. D., Froguel, P., & Wolford, J. K. (2005). Common Polymorphisms in the Adiponectin Gene ACDC Are Not Associated With Diabetes in Pima Indians. *Diabetes*, 54(1), 284-289. <https://doi.org/10.2337/diabetes.54.1.284>
- Di Cristofaro, J., Silvy, M., Chiaroni, J., & Bailly, P. (2010). Single PCR Multiplex SNaPshot Reaction for Detection of Eleven Blood Group Nucleotide Polymorphisms: Optimization, Validation, and One Year of Routine Clinical Use. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 12(4), 453-460. <https://doi.org/10.2353/jmoldx.2010.090222>

- Engin, A. (2017). The Definition and Prevalence of Obesity and Metabolic Syndrome. En A. B. Engin & A. Engin (Eds.), *Obesity and Lipotoxicity* (pp. 1-17). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-48382-5_1
- Excoffier, L., Laval, G., & Schneider, S. (2007). Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 1, 47-50.
- Fahrioglu, U., & Ergoren, M. Ç. (2018). The Association Between APOA5 Gene Polymorphisms and Plasma Lipids in the Turkish Cypriot Population: A Possible Biomarker for Preventing Cardiovascular Diseases. *Biochemical Genetics*, 56(3), 176-187. <https://doi.org/10.1007/s10528-017-9836-3>
- Fajas, L., Auboeuf, D., Raspe, E., Schoonjans, K., Lefebvre, A.-M., Saladin, R., Najib, J., Laville, M., Fruchart, J.-C., Deeb, S., Vidal-Puig, A., Flier, J., Briggs, M. R., Staels, B., Vidal, H., & Auwerx, J. (1997). *The Organization, Promoter Analysis, and Expression of the Human PPAR α Gene*. 12.
- Fall, T., & Ingelsson, E. (2014). Genome-wide association studies of obesity and metabolic syndrome. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 382(1), 740-757. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2012.08.018>
- Fang, H., & Judd, R. L. (2018). Adiponectin Regulation and Function. *Comprehensive Physiology*, 8(3), 1031-1063. <https://doi.org/10.1002/cphy.c170046>
- Fathi Dizaji, B. (2018). The investigations of genetic determinants of the metabolic syndrome. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 12(5), 783-789. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2018.04.009>

- Fondevila, M., Børsting, C., Phillips, C., de la Puente, M., Consortium, E.-N., Carracedo, A., Morling, N., & Lareu, M. V. (2017). Forensic SNP genotyping with SNaPshot: Technical considerations for the development and optimization of multiplexed SNP assays. *Forensic Science Review*, 29(1), 57-76.
- Gibbons, G. H. (2004). Genetic Markers: Progress and Potential for Cardiovascular Disease. *Circulation*, 109(25_suppl_1), IV-47-IV-58.
<https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000133440.86427.26>
- González-Muniesa, P., Martínez-González, M.-A., Hu, F. B., Després, J.-P., Matsuzawa, Y., Loos, R. J. F., Moreno, L. A., Bray, G. A., & Martinez, J. A. (2017). Obesity. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1), 17034. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.34>
- González-Sánchez, J. L., Zabena, C. A., Martínez-Larrad, M. T., Fernández-Pérez, C., Pérez-Barba, M., Laakso, M., & Serrano-Ríos, M. (2005). An SNP in the Adiponectin Gene Is Associated with Decreased Serum Adiponectin Levels and Risk for Impaired Glucose Tolerance. *Obesity Research*, 13(5), 807-812. <https://doi.org/10.1038/oby.2005.91>
- Goswami, K., & Gandhe, M. (2018). Evolution of metabolic syndrome and its biomarkers. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 12(6), 1071-1074. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2018.06.027>
- Graziano, F., Biino, G., Bonati, M. T., Neale, B. M., Do, R., Concas, M. P., Vaccargiu, S., Pirastu, M., Terradura-Vagnarelli, O., Cirillo, M., Laurenzi, M., Mancini, M., Zanchetti, A., & Grassi, M. (2019). Estimation of metabolic syndrome heritability in three large populations including full pedigree and genomic information. *Human Genetics*, 138(7), 739-748. <https://doi.org/10.1007/s00439-019-02024-6>

- Gu, H. F. (2009). Biomarkers of Adiponectin: Plasma Protein Variation and Genomic DNA Polymorphisms. *Biomarker Insights*, 4, BMI.S3453. <https://doi.org/10.4137/BMI.S3453>
- Guardiola, M., & Ribalta, J. (2017). Update on APOA5 Genetics: Toward a Better Understanding of Its Physiological Impact. *Current Atherosclerosis Reports*, 19(7), 30. <https://doi.org/10.1007/s11883-017-0665-y>
- Guilherme, A., Henriques, F., Bedard, A. H., & Czech, M. P. (2019). Molecular pathways linking adipose innervation to insulin action in obesity and diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology*, 15(4), 207-225. <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0165-y>
- Hamer, O. W., Forstner, D., Ottinger, I., Ristow, M., Bollheimer, L. C., Schölmerich, J., & Palitzsch, K. D. (2002). The Pro115Gln polymorphism within the PPAR gamma2 gene has no epidemiological impact on morbid obesity. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes: Official Journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*, 110(5), 230-234. <https://doi.org/10.1055/s-2002-33072>
- Han, T. S., & Lean, M. E. (2016). A clinical perspective of obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *JRSM Cardiovascular Disease*, 5, 204800401663337. <https://doi.org/10.1177/2048004016633371>
- Hartl & Clark. (2007). Principles of Population Genetics. *Écoscience*., 14(4). <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.2980/1195-6860%282007%2914%5B544b%3APOPG%5D2.0.CO%3B2>
- HARTL, D. L. (2001). A Primer of Population Genetics. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, MA. 221. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 118(4), 234-234. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0388.2001.00298.x>

- Heid, I. M., Wagner, S. A., Gohlke, H., Iglseder, B., Mueller, J. C., Cip, P., Ladurner, G., Reiter, R., Stadlmayr, A., Mackevics, V., Illig, T., Kronenberg, F., & Paulweber, B. (2006). Genetic architecture of the APM1 gene and its influence on adiponectin plasma levels and parameters of the metabolic syndrome in 1,727 healthy Caucasians. *Diabetes*, 55(2), 375-384. <https://doi.org/10.2337/diabetes.55.02.06.db05-0747>
- Hincapié, M. L., Gil, A. M., Pico, A. L., Gusmão, L., Rondón, F., Vargas, C. I., & Castillo, A. (2009). Análisis de la estructura genética en una muestra poblacional de Bucaramanga, departamento de Santander. *Colombia Médica*, 40, 13.
- Hishida, A., Morita, E., Naito, M., Okada, R., Wakai, K., Matsuo, K., Nakamura, K., Takashima, N., Suzuki, S., Takezaki, T., Mikami, H., Ohnaka, K., Watanabe, Y., Uemura, H., Kubo, M., Tanaka, H., & Hamajima, N. (2012). Associations of apolipoprotein A5 (APOA5), glucokinase (GCK) and glucokinase regulatory protein (GCKR) polymorphisms and lifestyle factors with the risk of dyslipidemia and dysglycemia in Japanese – a cross-sectional data from the J-MICC Study. *Endocrine Journal*, 59(7), 589-599. <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ11-0310>
- Hsu, L.-A., Ko, Y.-L., Chang, C.-J., Hu, C.-F., Wu, S., Teng, M.-S., Wang, C.-L., Ho, W.-J., Ko, Y.-S., Hsu, T.-S., & Lee, Y.-S. (2006). Genetic variations of apolipoprotein A5 gene is associated with the risk of coronary artery disease among Chinese in Taiwan. *Atherosclerosis*, 185(1), 143-149. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2005.05.031>
- Hubá, J. A., Adámková, V., Poledne, R., Ho, A., & Vráblík, M. (2004). *New Variants in the Apolipoprotein AV Gene in Individuals with Extreme Triglyceride Levels*. 53, 4.

- Hussain, M. K., Deli, F. A., Algenabi, A. H. A., & Abdul-Rudha, K. H. (2018). Adiponectin gene polymorphisms as a predictor for development of type 2 diabetes mellitus in Iraqi population. *Gene*, 662, 118-122. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.03.087>
- Isomaa, B., Almgren, P., Tuomi, T., Forsén, B., Lahti, K., Nissén, M., Taskinen, M. R., & Groop, L. (2001). Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care*, 24(4), 683-689.
- Jesus, Í. C. de, Alle, L. F., Munhoz, E. C., Silva, L. R. da, Lopes, W. A., Tureck, L. V., Purim, K. S. M., Titski, A. C. K., & Leite, N. (2018). Trp64Arg polymorphism of the ADRB3 gene associated with maximal fat oxidation and LDL-C levels in non-obese adolescents. *Jornal de Pediatria*, 94(4), 425-431. <https://doi.org/10.1016/j.jped.2017.07.010>
- Kadowaki, T. (2006). Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *Journal of Clinical Investigation*, 116(7), 1784-1792. <https://doi.org/10.1172/JCI29126>
- Kahn, B. B., & Flier, J. S. (2000). Obesity and insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation*, 106(4), 473-481.
- Kanu, J. S., Qiu, S., Cheng, Y., Li, R., Kou, C., Gu, Y., Bai, Y., Shi, J., Li, Y., Liu, Y., Yu, Y., & Liu, Y. (2018). Associations between three common single nucleotide polymorphisms (rs266729, rs2241766, and rs1501299) of ADIPOQ and cardiovascular disease: A meta-analysis. *Lipids in Health and Disease*, 17(1), 126. <https://doi.org/10.1186/s12944-018-0767-8>
- Kao, J.-T., Wen, H.-C., Chien, K.-L., Hsu, H.-C., & Lin, S.-W. (2003). A novel genetic variant in the apolipoprotein A5 gene is associated with hypertriglyceridemia. *Human Molecular Genetics*, 12(19), 2533-2539. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddg255>

- Kaur, J. (2014a). A Comprehensive Review on Metabolic Syndrome. *Cardiology Research and Practice*, 2014, 1-21. <https://doi.org/10.1155/2014/943162>
- Kaur, J. (2014b). A Comprehensive Review on Metabolic Syndrome. *Cardiology Research and Practice*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/943162>
- Kershaw, E. E., & Flier, J. S. (2004). Adipose tissue as an endocrine organ. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 89(6), 2548-2556. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-0395>
- Kim, H.-K., Anwar, M. A., & Choi, S. (2019). Association of BUD13-ZNF259-APOA5-APOA1-SIK3 cluster polymorphism in 11q23.3 and structure of APOA5 with increased plasma triglyceride levels in a Korean population. *Scientific Reports*, 9(1), 8296. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44699-x>
- Ku, C. S., Loy, E. Y., Salim, A., Pawitan, Y., & Chia, K. S. (2010). The discovery of human genetic variations and their use as disease markers: Past, present and future. *Journal of Human Genetics*, 55(7), 403-415. <https://doi.org/10.1038/jhg.2010.55>
- L. Monda, K., E. North, K., C. Hunt, S., Rao, D. C., A. Province, M., & T. Kraja, A. (2010). The Genetics of Obesity and the Metabolic Syndrome. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets*, 10(2), 86-108. <https://doi.org/10.2174/187153010791213100>
- Larsen, L. H., Ängquist, L., Vimalaswaran, K. S., Hager, J., Viguerie, N., Loos, R. J., Handjieva-Darlenska, T., Jebb, S. A., Kunešova, M., Larsen, T. M., Martinez, J. A., Papadaki, A., Pfeiffer, A. F., van Baak, M. A., Sørensen, T. I., Holst, C., Langin, D., Astrup, A., & Saris, W. H. (2012). Analyses of single nucleotide polymorphisms in selected nutrient-sensitive genes in weight-regain prevention: The DIOGENES study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 95(5), 1254-1260. <https://doi.org/10.3945/ajcn.111.016543>

- Lee, Y. Y., Lee, N. S., Cho, Y. M., Moon, M. K., Jung, H. S., Park, Y. J., Park, H. J., Youn, B. S., Lee, H. K., Park, K. S., & Shin, H. D. (2005). Genetic association study of adiponectin polymorphisms with risk of Type 2 diabetes mellitus in Korean population. *Diabetic Medicine: A Journal of the British Diabetic Association*, 22(5), 569-575. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2005.01460.x>
- Lehman, D. M., Hamlington, J., Hunt, K. J., Leach, R. J., Arya, R., Abboud, H., Duggirala, R., Blangero, J., Göring, H. H. H., & Stern, M. P. (2006). A novel missense mutation in ADRB3 increases risk for type 2 diabetes in a Mexican American family. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 22(4), 331-336. <https://doi.org/10.1002/dmrr.620>
- León, F. J., Rondón González, F., Vargas Castellanos, C. I., Oróstegui, M., Bautista, L., Serrano, N. C., Páez, M. C., & Castillo Pico, A. (2012). Analysis of population genetic structure from Bucaramanga (Colombia) based on gene polymorphisms associated with regulation of blood pressure. *Colombia Medica*, 154-161. <https://doi.org/10.25100/cm.v43i2.787>
- Lizarzaburu Robles, J. C. (2014). Síndrome metabólico: Concepto y aplicación práctica. *Anales de la Facultad de Medicina*, 74(4), 315. <https://doi.org/10.15381/anales.v74i4.2705>
- López-Jaramillo, P., Rueda-Clausen, C. F., & Silva, F. A. (2007). The utility of different definitions of metabolic syndrome in Andean population. *International Journal of Cardiology*, 116(3), 421-422. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2006.03.074>
- López-Jaramillo, Patricio, Sánchez, R. A., Diaz, M., Cobos, L., Bryce, A., Parra-Carrillo, J. Z., Lizcano, F., Lanas, F., Sinay, I., Sierra, I. D., Peñaherrera, E., Bendersky, M., Schmid, H., Botero, R., Urina, M., Lara, J., Foss, M. C., Márquez, G., Harrap, S., ... Zanchetti, A. (2014). Consenso latino-americano de hipertensão em pacientes com diabetes tipo 2 e

- síndrome metabólica. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 58(3), 205-225. <https://doi.org/10.1590/0004-2730000003019>
- Lucumi, D. I., LeBrón, A. M. W., Schulz, A. J., & Mentz, G. (2017). Social patterning of cardiovascular and metabolic risk in Colombian adults. *Ethnicity & Health*, 22(4), 389-401. <https://doi.org/10.1080/13557858.2016.1244628>
- Maeda, K., Okubo, K., Shimomura, I., Funahashi, T., Matsuzawa, Y., & Matsubara, K. (1996). CDNA Cloning and Expression of a Novel Adipose Specific Collagen-like Factor, apM1 (Adipose Most Abundant Gene Transcript 1). *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 221(2), 286-289. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1996.0587>
- Mantilla, G., Pérez, V. L., Vargas C, C. I., & Rondón G, F. (2017). Polimorfismo S19W (Ser19Ter) de la APOA5 y su relación con la hipertrigliceridemia en una población de Colombia. *Revista de la Universidad Industrial de Santander. Salud*, 49(1), 29-35. <https://doi.org/10.18273/revsal.v49n1-2017003>
- Márquez-Sandoval, F., Macedo-Ojeda, G., Viramontes-Hörner, D., Fernández Ballart, J., Salas Salvadó, J., & Vizmanos, B. (2011). The prevalence of metabolic syndrome in Latin America: A systematic review. *Public Health Nutrition*, 14(10), 1702-1713. <https://doi.org/10.1017/S1368980010003320>
- Matsunaga, A., Arishima, H., Niimura, H., Zhang, B., Uehara, Y., Ohwaki, K., Morita, M., Hayashida, K., & Saku, K. (2007). Strong Linkage Disequilibrium and Association of -1131T>C and c.553G>T Polymorphisms of the Apolipoprotein A5 Gene With Hypertriglyceridemia in a Japanese Population. *Circulation Journal*, 71(5), 746-752. <https://doi.org/10.1253/circj.71.746>

- McCracken, E., Monaghan, M., & Sreenivasan, S. (2018). Pathophysiology of the metabolic syndrome. *Clinics in Dermatology*, 36(1), 14-20. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2017.09.004>
- Mohammadzadeh, G., & Zarghami, N. (2009). Associations between single-nucleotide polymorphisms of the adiponectin gene, serum adiponectin levels and increased risk of type 2 diabetes mellitus in Iranian obese individuals. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 69(7), 764-771. <https://doi.org/10.3109/00365510903137237>
- Nannipieri, M., Posadas, R., Bonotti, A., Williams, K., Gonzalez-Villalpando, C., Stern, M. P., & Ferrannini, E. (2006). Polymorphism of the 3'-Untranslated Region of the Leptin Receptor Gene, but Not the Adiponectin SNP45 Polymorphism, Predicts Type 2 Diabetes: A population-based study. *Diabetes Care*, 29(11), 2509-2511. <https://doi.org/10.2337/dc06-0355>
- Nilsson, S. K., Heeren, J., Olivecrona, G., & Merkel, M. (2011). Apolipoprotein A-V; a potent triglyceride reducer. *Atherosclerosis*, 219(1), 15-21. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2011.07.019>
- Norris, E. T., Wang, L., Conley, A. B., Rishishwar, L., Mariño-Ramírez, L., Valderrama-Aguirre, A., & Jordan, I. K. (2018). Genetic ancestry, admixture and health determinants in Latin America. *BMC Genomics*, 19(8), 861. <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5195-7>
- Oh, S.-W., Lee, J.-E., Shin, E., Kwon, H., Choe, E. K., Choi, S.-Y., Rhee, H., & Choi, S. H. (2020). Genome-wide association study of metabolic syndrome in Korean populations. *PLOS ONE*, 15(1), e0227357. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227357>
- Oliveira, C. S. V., Giuffrida, F. M. A., Crispim, F., Saddi-Rosa, P., & Reis, A. F. (2011). ADIPOQ and adiponectin: The common ground of hyperglycemia and coronary artery disease?

- Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 55(7), 446-454.
<https://doi.org/10.1590/S0004-27302011000700003>
- Oliveira, C. S. V., Saddi-Rosa, P., Crispim, F., Canani, L. H., Gerchman, F., Giuffrida, F. M. A., Vieira, J. G. H., Velho, G., & Reis, A. F. (2012). Association of ADIPOQ variants, total and high molecular weight adiponectin levels with coronary artery disease in diabetic and non-diabetic Brazilian subjects. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 26(2), 94-98.
<https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2012.02.008>
- OMS. (2017). *Monitoreo de avances en materia de las enfermedades no transmisibles 2017*.
<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/259806/9789243513027-spa.pdf;jsessionid=45B8EA655970EEB8BDCB7A2C840D50A2?sequence=1>
- Orellana, G., Sapunar, J., Sáez, K., Aguayo, C., Calvo, C., Radojkovic, C., Riffo, B., Gleisner, A., Asenjo, S., & Ulloa, N. (2012). Asociación entre polimorfismos del gen de adiponectina y estado nutricional en escolares de la comuna de Hualpén. *Revista médica de Chile*, 140(10), 1245-1252. <https://doi.org/10.4067/S0034-98872012001000002>
- Ouatou, S., Ajjemami, M., Charoute, H., Sefri, H., Ghalim, N., Rhaissi, H., Benrahma, H., Barakat, A., & Rouba, H. (2014). Association of APOA5 rs662799 and rs3135506 polymorphisms with arterial hypertension in Moroccan patients. *Lipids in Health and Disease*, 13(1), 60.
<https://doi.org/10.1186/1476-511X-13-60>
- Pakala, R., Kuchulakanti, P., Rha, S.-W., Cheneau, E., Baffour, R., & Waksman, R. (2004). Peroxisome proliferator-activated receptor γ : Its role in metabolic syndrome. *Cardiovascular Radiation Medicine*, 5(2), 97-103.
<https://doi.org/10.1016/j.carrad.2004.03.006>

- Palomer, X., Pérez, A., & Blanco-Vaca, F. (2005). Adiponectina: Un nuevo nexo entre obesidad, resistencia a la insulina y enfermedad cardiovascular. *Medicina Clínica*, 124(10), 388-395. <https://doi.org/10.1157/13072576>
- Penyige, A., Poliska, S., Csanky, E., Scholtz, B., Dezso, B., Schmelczer, I., Kilty, I., Takacs, L., & Nagy, L. (2010). Analyses of association between PPAR gamma and EPHX1 polymorphisms and susceptibility to COPD in a Hungarian cohort, a case-control study. *BMC Medical Genetics*, 11(1), 152. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-11-152>
- PEREZ FORERO, V. L. (2015). *Estudio poblacional de los polimorfismos Ser19Trp del gen APOA5, Pro12Ala Del Gen PPAR-GAMMA, SNP276 del gen de la Adiponectina y Trp64Arg del gen del Receptor Beta 3-Adrenergico asociados con Síndrome metabólico en una población de Bucaramanga, Col. UIS.*
- Perez-Forero, V L et al. (2021). Diseño y validacion de cebadores para el estudio de polimorfismos SNP relacionados con Sindrome Metabolico. *Manuscrito en preparación.*
- Petrosino, M., Lori, L., Pasquo, A., Lori, C., Consalvi, V., Minicozzi, V., Morante, S., Laghezza, A., Giorgi, A., Capelli, D., & Chiaraluce, R. (2017). Single-Nucleotide Polymorphism of PPAR γ , a Protein at the Crossroads of Physiological and Pathological Processes. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(2), 361. <https://doi.org/10.3390/ijms18020361>
- Quail, D. F., & Dannenberg, A. J. (2019). The obese adipose tissue microenvironment in cancer development and progression. *Nature Reviews Endocrinology*, 15(3), 139-154. <https://doi.org/10.1038/s41574-018-0126-x>

- Ramírez-Vélez, R. (2015). ADIPOSIDAD CORPORAL Y SU RELACIÓN CON COMPONENTES DEL SÍNDROME. *NUTRICION HOSPITALARIA*, 4, 1468-1475. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.32.4.9164>
- Ranasinghe, P., Mathangasinghe, Y., Jayawardena, R., Hills, A. P., & Misra, A. (2017). Prevalence and trends of metabolic syndrome among adults in the asia-pacific region: A systematic review. *BMC Public Health*, 17(1), 101. <https://doi.org/10.1186/s12889-017-4041-1>
- Reaven, G. M. (1988). Role of Insulin Resistance in Human Disease. *Diabetes*, 37(12), 1595-1607. <https://doi.org/10.2337/diab.37.12.1595>
- Ristow, M., Müller-Wieland, D., Pfeiffer, A., Krone, W., & Kahn, C. R. (1998). Obesity Associated with a Mutation in a Genetic Regulator of Adipocyte Differentiation. *New England Journal of Medicine*, 339(14), 953-959. <https://doi.org/10.1056/NEJM199810013391403>
- Rodríguez Bolaños, R. de los Á., Reynales Shigematsu, L. M., Jiménez Ruíz, J. A., Juárez Márquezy, S. A., & Hernández Ávila, M. (2010). Costos directos de atención médica en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 en México: Análisis de microcosteo. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 28(6), 412-420. <https://doi.org/10.1590/S1020-49892010001200002>
- Rooki, H., Haerian, M., Azimzadeh, P., Mirhafez, R., Ebrahimi, M., Ferns, G., Ghayour-Mobarhan, M., & Zali, M.-R. (2014). Associations between C1431T and Pro12Ala variants of PPAR γ gene and their haplotypes with susceptibility to metabolic syndrome in an Iranian population. *Molecular Biology Reports*, 41(5), 3127-3133. <https://doi.org/10.1007/s11033-014-3172-z>

- Ruan, H., & Dong, L. Q. (2016). Adiponectin signaling and function in insulin target tissues. *Journal of Molecular Cell Biology*, 8(2), 101-109. <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjw014>
- Ryuk, J. A., Zhang, X., Ko, B.-S., Daily, J. W., & Park, S. (2017). Association of β 3-adrenergic receptor rs4994 polymorphisms with the risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 129, 86-96. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2017.03.034>
- Sahli, S., Khlifi, L., Jaballah, A., Khelil, S., Bouzidi, N., Chahed, H., & Miled, A. (2017). Evaluation of serum adiponectin and ADIPOQ+45 T>G polymorphism with metabolic syndrome in tunisian population. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8, 7.
- Saklayen, M. G. (2018). The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Current Hypertension Reports*, 20(2), 12. <https://doi.org/10.1007/s11906-018-0812-z>
- Salehi, S., Emadi-Baygi, M., Rezaei, M., Kelishadi, R., & Nikpour, P. (2018). Lack of Evidence of the Role of APOA5 3'UTR Polymorphisms in Iranian Children and Adolescents with Metabolic Syndrome. *Diabetes & Metabolism Journal*, 42(1), 74. <https://doi.org/10.4093/dmj.2018.42.1.74>
- Salzano, F. M., & Sans, M. (2014). Interethnic admixture and the evolution of Latin American populations. *Genetics and Molecular Biology*, 37(1), 151-170. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572014000200003>
- Sánchez, M. P., Prieto, C., Mujica, E., Vergara, K., Valencia, E., Villalobos, E., Medina, M., Parra, M., D'Addosio, R., Hoedebecke, K., Rodríguez, J. E., & Bermudez, V. (2019). Association between +45T>G adiponectin polymorphism gene and type 2 diabetes mellitus and

- metabolic syndrome in a Venezuelan population. *F1000Research*, 8, 292. <https://doi.org/10.12688/f1000research.16890.1>
- Scholze, J., Alegria, E., Ferri, C., Langham, S., Stevens, W., Jeffries, D., & Uhl-Hochgraeber, K. (2010). Epidemiological and economic burden of metabolic syndrome and its consequences in patients with hypertension in Germany, Spain and Italy; a prevalence-based model. *BMC Public Health*, 10, 529. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-10-529>
- Serrano, N., Villa-Roel, C., Gamboa-Delgado, E. M., Barrera, J. G., & Quintero-Lesmes, D. C. (2019). Early evaluation of the metabolic syndrome in Bucaramanga, Colombia. *Translational Pediatrics*, 8(5), 363-370. <https://doi.org/10.21037/tp.2019.04.04>
- Sharma Vineeta, Witkowski Andrzej, Witkowska H. Ewa, Dykstra Andrew, Simonsen Jens B., Nelbach Lisa, Beckstead Jennifer A., Pullinger Clive R., Kane John P., Malloy Mary J., Watson Gordon, Forte Trudy M., & Ryan Robert O. (2014). Aberrant Hetero-Disulfide Bond Formation by the Hypertriglyceridemia-Associated p.Gly185Cys APOA5 Variant (rs2075291). *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 34(10), 2254-2260. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.114.304027>
- Shuldiner, A. R., Nguyen, W., Kao, W. H., Beamer, B. A., Andersen, R. E., Pratley, R., & Brancati, F. L. (2000). Pro115Gln peroxisome proliferator-activated receptor-gamma and obesity. *Diabetes Care*, 23(1), 126-127. <https://doi.org/10.2337/diacare.23.1.126a>
- Sotos-Prieto, M., Francés, F., & Corella, D. (2010). Impacto de la apolipoproteína A5 en el riesgo cardiovascular: Modulaciones genéticas y ambientales. *Revista médica de Chile*, 138(7). <https://doi.org/10.4067/S0034-98872010000700013>
- Tang, Y., Sun, P., Guo, D., Ferro, A., Ji, Y., Chen, Q., & Fan, L. (2006). A genetic variant c.553G>T in the apolipoprotein A5 gene is associated with an increased risk of coronary

- artery disease and altered triglyceride levels in a Chinese population. *Atherosclerosis*, 185(2), 433-437. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2005.06.026>
- Taylor, J. B., Cummins, T. D. R., Fox, A. M., Johnson, B. P., Tong, J. H., Visser, T. A. W., Hawi, Z., & Bellgrove, M. A. (2018). Allelic variation in dopamine D2 receptor gene is associated with attentional impulsiveness on the Barratt Impulsiveness Scale (BIS-11). *The World Journal of Biological Psychiatry*, 19(sup2), S75-S83. <https://doi.org/10.1080/15622975.2016.1273549>
- Tune, J. D., Goodwill, A. G., Sassoon, D. J., & Mather, K. J. (2017). Cardiovascular consequences of metabolic syndrome. *Translational Research*, 183, 57-70. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2017.01.001>
- Vendramini, M. F., Pereira, A. C., Ferreira, S. R., Kasamatsu, T. S., Moisés, R. S., & Japanese Brazilian Diabetes Study Group. (2010). Association of genetic variants in the adiponectin encoding gene (ADIPOQ) with type 2 diabetes in Japanese Brazilians. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 24(2), 115-120. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2009.01.007>
- Vergotine, Z., Kengne, A. P., Erasmus, R. T., Yako, Y. Y., & Matsha, T. E. (2014). Rare Mutations of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma: Frequencies and Relationship with Insulin Resistance and Diabetes Risk in the Mixed Ancestry Population from South Africa. *International Journal of Endocrinology*, 2014, 1-8. <https://doi.org/10.1155/2014/187985>
- Vizmanos, B., Betancourt-Nuñez, A., Márquez-Sandoval, F., González-Zapata, L. I., Monsalve-Álvarez, J., Bressan, J., de Carvalho Vidigal, F., Figueredo, R., López, L. B., Babio, N., & Salas-Salvadó, J. (2020). Metabolic Syndrome Among Young Health Professionals in the

- Multicenter Latin America Metabolic Syndrome Study. *Metabolic Syndrome and Related Disorders*, 18(2), 86-95. <https://doi.org/10.1089/met.2019.0086>
- Wang, Yabing, Zhang, D., Liu, Y., Yang, Y., Zhao, T., Xu, J., Li, S., Zhang, Z., Feng, G., He, L., & Xu, H. (2009). Association study of the single nucleotide polymorphisms in adiponectin-associated genes with type 2 diabetes in Han Chinese. *Journal of Genetics and Genomics*, 36(7), 417-423. [https://doi.org/10.1016/S1673-8527\(08\)60131-9](https://doi.org/10.1016/S1673-8527(08)60131-9)
- Wang, Yu, Lam, K. S. L., Yau, M., & Xu, A. (2008). Post-translational modifications of adiponectin: Mechanisms and functional implications. *The Biochemical Journal*, 409(3), 623-633. <https://doi.org/10.1042/BJ20071492>
- Wang, Yuchen, Lu, D., Chung, Y.-J., & Xu, S. (2018). Genetic structure, divergence and admixture of Han Chinese, Japanese and Korean populations. *Hereditas*, 155(1), 19. <https://doi.org/10.1186/s41065-018-0057-5>
- WMA - The World Medical Association-. (2013). *Declaración de Helsinki de la AMM – Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos*. <https://www.wma.net/es/policies-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos/>
- Wu, Y., Yu, Y., Zhao, T., Wang, S., Fu, Y., Qi, Y., Yang, G., Yao, W., Su, Y., Ma, Y., Shi, J., Jiang, J., & Kou, C. (2016). Interactions of Environmental Factors and APOA1-APOC3-APOA4-APOA5 Gene Cluster Gene Polymorphisms with Metabolic Syndrome. *PloS One*, 11(1), e0147946. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147946>
- Yang, L.-K., & Tao, Y.-X. (2019). Physiology and pathophysiology of the β 3-adrenergic receptor. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 161, 91-112. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2018.09.003>

- Yang, W.-S., Tsou, P.-L., Lee, W.-J., Tseng, D.-L., Chen, C.-L., Peng, C.-C., Lee, K.-C., Chen, M.-J., Huang, C.-J., Tai, T.-Y., & Chuang, L.-M. (2003). Allele-specific differential expression of a common adiponectin gene polymorphism related to obesity. *Journal of Molecular Medicine*, 81(7), 428-434. <https://doi.org/10.1007/s00109-002-0409-4>
- Yang-Feng, T. L., Xue, F. Y., Zhong, W. W., Cotecchia, S., Frielle, T., Caron, M. G., Lefkowitz, R. J., & Francke, U. (1990). Chromosomal organization of adrenergic receptor genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(4), 1516-1520. <https://doi.org/10.1073/pnas.87.4.1516>
- Zacharova, J., Chiasson, J.-L., Laakso, M., & the STOP-NIDDM Study Group. (2005). The Common Polymorphisms (Single Nucleotide Polymorphism [SNP] +45 and SNP +276) of the Adiponectin Gene Predict the Conversion From Impaired Glucose Tolerance to Type 2 Diabetes: The STOP-NIDDM Trial. *Diabetes*, 54(3), 893-899. <https://doi.org/10.2337/diabetes.54.3.893>
- Zaharan, N. L., Muhamad, N. H., Jalaludin, M. Y., Su, T. T., Mohamed, Z., Mohamed, M. N. A., & A. Majid, H. (2018). Non-Synonymous Single-Nucleotide Polymorphisms and Physical Activity Interactions on Adiposity Parameters in Malaysian Adolescents. *Frontiers in Endocrinology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00209>
- Zahary, M. N., Harun, N. S., Ridzwan, N., Jumli, M. N., Rohin, M. A. K., Yahaya, R., Nik Him, N. A. S., & Wan Jusoh, A. F. (2020). Increased risk of metabolic syndrome with genetic polymorphism of ADIPOQ among a Temiar population in Malaysia. *Meta Gene*, 24, 100653. <https://doi.org/10.1016/j.mgene.2020.100653>
- Zamora-Valdés, D., Chávez-Tapia, N. C., & Méndez-Sánchez, N. (2004). *Mecanismos moleculares de resistencia a la insulina*. 11, 12.

- Zeke, A., Misheva, M., Reményi, A., & Bogoyevitch, M. A. (2016). JNK Signaling: Regulation and Functions Based on Complex Protein-Protein Partnerships. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* : *MMBR*, 80(3), 793-835. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00043-14>
- Zha, D., Wu, X., & Gao, P. (2017). Adiponectin and Its Receptors in Diabetic Kidney Disease: Molecular Mechanisms and Clinical Potential. *Endocrinology*, 158(7), 2022-2034. <https://doi.org/10.1210/en.2016-1765>
- Zhai, G., Wen, P., Guo, L., & Chen, L. (2006). Association of APOA5 c.553G>T polymorphism with type 2 diabetes mellitus in a Chinese population. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 44(11), 1313-1316. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2006.255>
- Zhang, Z., Li, Y., Yang, X., Wang, L., Xu, L., & Zhang, Q. (2018). Susceptibility of multiple polymorphisms in ADIPOQ , ADIPOR1 and ADIPOR2 genes to myocardial infarction in Han Chinese. *Gene*, 658, 10-17. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.03.022>
- Zhou, Y., Mägi, R., Milani, L., & Lauschke, V. M. (2018). Global genetic diversity of human apolipoproteins and effects on cardiovascular disease risk. *Journal of Lipid Research*, 59(10), 1987-2000. <https://doi.org/10.1194/jlr.P086710>

Apéndices

Apéndice A.

Secuencias de los cebadores empleados en la amplificación del fragmento polimórfico y los cebadores tipo sonda para llevar a cabo la Extensión de una Sola Base (SBE).

GEN	POLIMORFISMO	SNP	SECUENCIA DE PRIMERS	Tamaño del fragmento (pb)	Base identificada
ADRB3	250G>C	rs4998	5'-CCAAGTGGGTTTTYACCATC-3'(F) 5'-AGYTCTCTTTGCCCTAAGCA-3'(R)	185	
	Sonda 250G>C	rs4998_SF	5'-cgctcgtgaaagtctgacaaCCTCAGTGGTAGTGTCCAG-3'(F)		C/G
APOA5	Gly185Cys	rs2075291	5'-AMTGAAGCCCTACACGATGG-3'(F) 5'-ACCAGGCTCTCGGCGTAT-3'(R)	213	
	Sonda Gly185Cys	rs2075291_SR	5'-actaggtgccacgtcgtgaaagtctgAGCTCTTGAAGCGGY-3'(R)		G/T
ADIPOQ	Gly15=	rs2241766	5'-TGTGTGTGTGGGGTCTGTCT-3'(F) 5'-TTGARTCGTGGTTTCCTGGT-3'(R)	130	
	Sonda Gly15=	rs2241766_SR	5'-ctctctctctctctgaaagtctgacaaGTGGTTCCTGGTCATG-3'(R)		G/T
PPARG	Pro12Ala	rs1801282	5'-TCCATGCTGTTATGGGTGAA-3'(F) 5'-CAAACACAACCTGGAAGACAAA-3'(R)	186	
	Sonda Pro12Ala*	rs1801282_SR	5'-gtgaaagtctgacaaGTGAAGGAATCGCTTTCTG-3'(R)		C/G

Nota: Adaptado de (Pérez-Forero, V L et al., 2021).



Código del Participante 

INCIDENCIA DE ENFERMEDADES CARDIOVASCULARES Y DE SUS FACTORES DE RIESGO EN LA POBLACIÓN DE 20 A 70 AÑOS DE ESTRATOS SOCIOECONÓMICOS 2 Y 3 DE BUCARAMANGA - INEFAC

CONSENTIMIENTO INFORMADO INDIVIDUAL

1. Introducción y Propósito del estudio

La Universidad Industrial de Santander, a través del Centro de Investigaciones Epidemiológicas, está haciendo un estudio sobre problemas de salud en Bucaramanga. El objetivo del estudio es conocer la cantidad de personas afectadas por enfermedades como las del corazón y la cantidad de personas que tienen características que las hacen más o menos susceptibles a adquirir este tipo de enfermedades. Esta información será usada para identificar nuevos casos de enfermedad y medir los cambios en los factores de riesgo.

2. Por qué ha sido usted seleccionado

Ud. fue seleccionado para participar en el estudio INEFAC ya que hace más o menos 6-años Ud. participó en un estudio similar y este es un primer seguimiento.

3. Procedimientos del estudio

Si decide participar nuevamente, lo invitaremos a asistir a una evaluación médica en la que le tomaremos la presión arterial, mediremos su peso, su talla y los perímetros de su cintura y cadera. También le tomaremos una muestra de sangre de aproximadamente 20 cc. (4 cucharadas) en varios tubos pequeños. Ese día tendrá que asistir en ayunas (sin tomar nada diferente al agua desde la noche anterior) para tomarse la muestra de sangre. Las muestras se tomarán mediante una punción venosa y se usarán agujas nuevas y equipo estéril para su seguridad. Las muestras se usarán ahora para medir su nivel de azúcar, colesterol, triglicéridos, HDL y LDL y creatinina en sangre. Además, una parte de las muestras se guardarán y en un futuro, podrían usarse para hacer otras investigaciones incluyendo pruebas bioquímicas (es decir, medición de sustancias en la sangre) y genéticas (para establecer predisposiciones genéticas para las enfermedades y factores de riesgo). En tal caso, dichos estudios tendrían que ser autorizados por un comité de ética en investigación. También le entregaremos antes de su cita, un frasco para recolectar una muestra de orina en la cual se determinará la presencia o ausencia de proteínas en su orina.

Consentimiento Informado - Estudio 1 de 1

Código del Participante: □□□□□□



Una vez terminado el examen médico, le haremos una encuesta en la que le preguntaremos sobre algunas enfermedades que Ud. o sus familiares podrían haber padecido, sobre algunos comportamientos como hacer ejercicio, fumar y tomar alcohol, sobre sus hábitos alimenticios, sobre su estado de ánimo y la calidad del sueño.

Es probable que este estudio se repita dentro de cinco años, para conocer la evolución de estas condiciones en las personas que participan.

4. Confidencialidad

Nosotros haremos todos los esfuerzos razonables para proteger su privacidad. A usted se le asignará un número de código y su nombre no aparecerá en los formatos utilizados para la recolección de datos. Sólo los investigadores tendrán acceso al archivo en el cual se vincula su nombre con su número de código. Los datos obtenidos en este estudio serán usados sólo para los fines del estudio. Los resultados del estudio se presentarán en la forma de promedios y porcentajes y usted no será identificado de forma individual en ningún caso.

Si su muestra de sangre almacenada es usada para futuras pruebas, estas pruebas serán anónimas y tendrán que ser aprobadas por un Comité de Ética en Investigación en Sujetos Humanos.

5. Riesgos y beneficios

Los riesgos derivados de su participación en este estudio son mínimos. Sin embargo, Ud. podría beneficiarse directa e indirectamente. Si participa en el estudio los resultados de las pruebas de sangre y orina que se van a hacer actualmente y los datos de su presión arterial le serán entregados a fin de que pueda utilizarlos en su cuidado médico regular. Además, si alguna de sus pruebas es anormal, Ud. recibirá consejería médica sobre dónde y cuándo buscar asistencia. Por otra parte, los resultados del estudio podrán servir para desarrollar programas de prevención de enfermedades cardiovasculares que serán de beneficio para toda la comunidad.

Tomar una muestra de sangre resulta en dolor ligero y transitorio; algunas personas pueden desarrollar un hematoma o morado (una pequeña cantidad de sangre debajo de la piel) que desaparece en una semana aproximadamente, y hay también una pequeña probabilidad de infección. Sin embargo, como los resultados de este estudio nos podrían ayudar a entender mejor y a prevenir el desarrollo de las enfermedades cardiovasculares, usted y personas como usted podrían beneficiarse de su participación.



Código del Participante 

En el caso de futuros estudios en los cuales se hagan otras pruebas bioquímicas o genéticas que tengan implicaciones directas para su salud, usted tendrá la opción de decidir que le enviemos o no los resultados.

6. Costos y compensación

Usted no recibirá pago alguno por su participación en este estudio, pero todas las pruebas se le harán de forma gratuita.

7. Derecho a rehusar o a abandonar el estudio

Usted debe estar consciente de que su participación en este estudio es completamente voluntaria. Aún después de dar su aceptación para participar, usted tendrá derecho a retirarse del estudio, de negarse a contestar una pregunta o de proveer una muestra de sangre en el momento en que usted así lo desee. Más aún, si usted decide no participar en el estudio o si usted se niega a seguir participando, usted recibirá la misma atención y los mismos beneficios que usted hubiese recibido si nunca se le hubiese invitado a participar.

8. Preguntas

Por favor, siéntase en la libertad de haceme cualquier pregunta si hay algo que no haya entendido. Si tiene alguna pregunta adicional acerca del estudio más adelante, usted puede contactar a las doctoras: Myriam Gróstequi Arenas, Lina María Vera Cala, Laura Isabel Valencia Ángel o Isis Rey Moreno en el Centro de Investigaciones Epidemiológicas de la Universidad Industrial de Santander, al teléfono 6345781, en el Departamento de Salud Pública al teléfono 6454726 o en la Sede Bucarica de la Universidad Industrial de Santander al teléfono 6708901.

9. Declaración del participante

Nosotros le entregaremos una copia de este formato. Al firmar esta forma, usted está aceptando que entiende la información que se le ha dado y que está de acuerdo en participar como un sujeto de investigación en este estudio. Usted está de acuerdo en:

- Contestar a las preguntas de una entrevista verbal ☐ Si ☐ No
- Dejar que le tomen la presión arterial, el peso, la talla, los perímetros de cintura y cadera ☐ Si ☐ No
- Dar una muestra de sangre ☐ Si ☐ No

Consentimiento Informado - Biotica 3 de 4

  Código del Participante 

☐ Permitir que su muestra de sangre sea almacenada y usada en estudios futuros, incluyendo la realización de pruebas genéticas.
☐ Sí ☐ No

☐ Permitir ser contactado para estudios posteriores ☐ Sí ☐ No

¿Acepta usted participar en este estudio voluntariamente? ☐ Sí ☐ No

¿Desea usted conocer los resultados de sus pruebas realizadas en estudios futuros? ☐ Sí ☐ No

Si usted ha aceptado participar, por favor escriba su nombre y firme en el espacio de más abajo.

Nombre del participante: _____

Firma del participante: _____ Cédula _____

Fecha: Día ____ Mes ____ Año ____

Nombre del testigo 1: _____

Firma del testigo 1: _____ Cédula _____

Fecha: Día ____ Mes ____ Año ____

Nombre del testigo 2: _____

Firma del testigo 2: _____ Cédula _____

Fecha: Día ____ Mes ____ Año ____

10. Declaración del Investigador

Certifico que yo o algún miembro de mi grupo de investigación le ha explicado a la persona de más arriba sobre esta investigación, y que esta persona entiende la naturaleza y propósito del estudio y los posibles riesgos y beneficios asociados con su participación en el mismo. Todas las preguntas que esta persona ha hecho le han sido contestadas.

Nombre del Investigador / Encuestador: _____

Firma del Investigador / Encuestador: _____

Fecha: Día ____ Mes ____ Año ____

Apéndice C.

Aval de Ética proyecto por parte del Comité de Ética en Investigación Científica de la Universidad Industrial de Santander

 4110 

Bucaramanga,

Profesor
GERARDO MANTILLA MORA
Investigador principal
GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN GENÉTICA HUMANA UIS (GENEHUIS)
Departamento de Ciencias Básicas
Escuela de Medicina
Facultad de Salud
Universidad Industrial de Santander
Presente

Asunto: Aval Comité de Ética proyecto, "Estudio Poblacional de los Polimorfismos: rs2075291 del Gen APOA5, rs2241766 del Gen de la Adiponectina, rs1800571 del Gen PPAR-Gama y rs4998 del Receptor Beta 3-Adrenergico Asociados con Síndrome Metabólico en una población proveniente de Bucaramanga, Santander", Convocatoria interna con aporte en efectivo 2016.

Cordial Saludo. El Comité de Ética en Investigación Científica de la Universidad Industrial de Santander (CEINCI-UIS) en reunión realizada el día 3 de octubre de 2017, según consta en el acta N° 22, evaluó el proyecto del asunto y al respecto conceptúa:

En consideración a que el proyecto del asunto cumple con todos los requerimientos, el Comité de Ética acordó, por consenso, **APROBAR** el documento digital en su última versión.

De igual manera, aplicar según corresponda a la investigación, la normatividad del Sistema de Gestión Integral de la Universidad, que está disponible en el enlace: <https://www.uis.edu.co/intranet/calidad/calidad.jsp>, especialmente lo relacionado con el Manual de Gestión Integrado.

Finalmente, se solicita remitir al correo del Comité la información correspondiente cuando ocurra una de las circunstancias siguientes:

- Reporte de mala práctica científica por parte de cualquier miembro del equipo investigador.
- Notificación previa de las modificaciones realizadas al protocolo.
- Reporte de cualquier eventualidad que usted considera deba conocer el CEINCI-UIS.
- Informe de avance sobre los aspectos éticos según guía e instructivo anexo. Este informe debe enviarse a la mitad del desarrollo de la investigación y al finalizar la misma según el cronograma establecido en el Formato FIN 65.
- El informe debe ser enviado al correo: ceinci.seguimientos@uis.edu.co

En el momento del seguimiento se verificará el cumplimiento de las consideraciones éticas.

Proyectó César Hastamorir, revisó Francisco Espinel, Aprobó Dora Parra.



4110



En nombre del CEINCI-UIS le ofrecemos el apoyo que usted considere necesario, para la aplicación y salvaguarda de los asuntos éticos durante la investigación.

Atentamente,


DORA INÉS PARRA
Presidenta
CEINCI- UIS


FRANCISCO ESPINEL CORREAL
Secretario Técnico Científico
CEINCI- UIS

Copia: Profesora Diana Carolina Delgado Díaz, Directora de Investigación y Extensión Facultad de Salud.

Archivo Comité de Ética en Investigación Científica.

Proyectó César Hastamorir, revisó Francisco Espinel, Aprobó Dora Parra.