

UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Análisis de factores de riesgo para diabetes tipo 2 y obesidad en población colombiana de 40 a 70 años

Ginneth Lorena Riaño Ayala

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias, Departamento de Química
Bogotá, Colombia
2022

Análisis de factores de riesgo para diabetes tipo 2 y obesidad en población colombiana de 40 a 70 años

Ginneth Lorena Riaño Ayala

Tesis de Maestría presentada como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Ciencias - Bioquímica

Directora:

Dr.Sc. Martha Nancy Calderón Ozuna

Línea de Investigación:

Bioquímica y Biología Molecular

Grupo de Investigación:

Bioquímica y Biología Molecular de las Micobacterias (BBMM) Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias, Departamento de Química.

Bogotá, Colombia

2022

La ciencia, en el sentido más amplio, incluye todas las demandas razonables al conocimiento de nosotros mismos y del mundo

Sam Harris

Declaración de obra original

Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.

Nombre Ginneth Lorena Riaño Ayala

Fecha 06/05/2022

Agradecimientos

Agradezco a la Universidad Nacional de Colombia por permitirme llevar a cabo esta investigación y ser parte de mi crecimiento profesional, además a la división de investigación de la sede Bogotá por la ayuda en la financiación y así poder llevar a cabo la estancia de investigación en la Universidad Santiago de Compostela España.

Al Ministerio de Ciencia y Tecnología de Colombia como proyecto de la red IBEROBDIA (918PTE0540) por la financiación, y permitió que pudiera tener los recursos para poder mantenerme durante el desarrollo del proyecto, además de poder llevar a cabo la estancia de investigación en España lo que permitió aportarme a mi formación profesional.

Al grupo de investigación de Bioquímica y Biología Molecular y la profesora Martha Nancy Calderón Ozuna por dirigir mi trabajo de investigación y permitirme llevar a cabo este proyecto, por la confianza, paciencia, guía en este proceso de aprendizaje y una mejor formación en investigación y como persona.

Agradezco a mis padres, Esperanza Ayala Arias, José Orlando Riaño, a mi segunda mamá Mónica María Ayala Arias, por seguir creyendo en cada paso que doy y apoyarme en todo este proceso. A mis hermanos Geraldine Riaño, Jennifer Riaño y David García Ayala por motivarme y demostrarme que se debe seguir luchando por los sueños y cada día confían más en mí.

A mis compañeros del grupo de investigación, Haiver Antonio Rodríguez, Julieth Daniela Buell Acosta y a todos los médicos externos que participaron en el desarrollo de la investigación y atención a cada uno de los voluntarios también agradezco especialmente a Claudia Lorena Cruz Hernández, amiga, quien estuvo presente en todos los momentos de la realización de la investigación por escucharme, por su apoyo, ayuda y paciencia.

Al Laboratorio de Higiene Inspección y Control de Alimentos (LHICA). de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Santiago de Compostela (Lugo-España). Por permitirme llevar a cabo el desarrollo de las actividades experimentales, a la Doctora Alejandra

Cardelle, y al Doctor Alberto Cepeda Saez, por la guía, el recibimiento y la ayuda en el tiempo de estancia a mi compañera, estudiante de doctorado Laura Isabelle Sinisterra por el tiempo dedicado los consejos, enseñanzas en el laboratorio, apoyo y comprensión.

A cada uno de los voluntarios, que participaron en el proyecto de investigación, por su paciencia, por abrirnos sus puertas y confiar en la investigación que se llevó a cabo, además de esto al Medico Sergio Bermeo por prestar sus servicios en la ayuda de reclutamiento de voluntarios y a cada una de las entidades que participaron juntas de acción comunales y hospitales.

Resumen

Análisis de factores de riesgo para diabetes tipo 2 y obesidad en población colombiana de 40 a 70 años

La obesidad y la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) son enfermedades representativas de la alteración del metabolismo. Esta investigación comparó factores de riesgo a obesidad y DM2 en colombianos de 40-70 años. Se evaluó la glucosa preprandial y el perfil lipídico a 535 voluntarios; se les aplicó el cuestionario FINDRISC, que incluye información de antecedentes familiares, estilo de vida, composición e índice de masa corporal; además se analizaron los índices aterogénicos. Las medidas bioquímicas y antropométricas en la población mostraron situaciones de dislipidemias (54%), hiperglucemia (23%), alteración del perímetro de cintura (73%) y del IMC (70%). El FINDRISC valoró que el 57% de la población presentó riesgo entre moderado y alto a DM2.

El factor de riesgo genético se evaluó mediante qPCR de alto rendimiento, en 111 voluntarios, e incluyó el análisis de 16 SNPs relacionados con DM2 y 58 SNPs con obesidad; de esos 27 presentaron $OR \geq 1$ (relación de probabilidad) como factor de riesgo a obesidad. Se aplicó la puntuación de riesgo genético como predictor de alteración del IMC, con alta sensibilidad y especificidad descritas por el área bajo la curva ROC (AUC=0,9). En promedio la población presentó 62% de riesgo genético a obesidad, sugiriendo los genes LINGO2, NFE2L3, C2orf16, SEC16B, TNEM18, TBX15, APOA5 y BDNF como biomarcadores. El riesgo genético a DM2 en la población fue moderado (64%), en relación directamente proporcional con el IMC. El análisis de biomarcadores a DM2 sugirió a los genes PPARG, WFS1, JAZF1. Evaluar los factores de riesgo favorece la detección y la intervención temprana de las alteraciones metabólicas, en un intento de prevenir las complicaciones, que disminuyen la calidad de vida de la población.

Palabras clave: Diabetes mellitus tipo 2, obesidad, FINDRISC, índices aterogénicos, polimorfismos de un solo nucleótido, factores de riesgo genético.

Abstract

Analysis of risk factors for type 2 diabetes and obesity in a Colombian population between 40 and 70 years old

Obesity and type 2 diabetes mellitus (DM2) are representative diseases in the alteration of carbohydrate and lipid metabolism. In this research, we compared risk factors for obesity and DM2 in Colombians aged 40-70 years old. Preprandial glucose and lipid profile were evaluated in 535 volunteers; they were administered the noninvasive FINDRISC questionnaire, which includes information on family history, lifestyle, composition and body mass index (BMI), atherogenic indices were also analyzed. Biochemical and anthropometric measurements in the population showed dyslipidemia (54%), hyperglycemia (23%), altered waist circumference (73%) and BMI (70%). The FINDRISC assessed that 57% of the population presented moderate to high risk of DM2.

The genetic risk factor was evaluated by high-throughput qPCR, in 111 volunteers, and included the analysis of 16 SNPs related to DM2 and 58 SNPs associated with obesity; of these 27 presented $OR \geq 1$ (odds ratio) as a risk factor for obesity. Genetic risk score was applied as a predictor of BMI alteration, with high sensitivity and specificity described by AUC 0.9 (the area under the ROC curve). On average, the population presented 62% genetic risk to obesity, suggesting the genes LINGO2, NFE2L3, C2orf16, SEC16B, TNEM18, TBX15, APOA5 and BDNF as biomarkers. The genetic risk of DM2 in the population was moderate (64%), in direct proportion to BMI. The analysis of biomarkers to DM2 suggested PPARG, WFS1, JAZF1 genes. Evaluating risk factors favors the detection and early intervention of metabolic alterations, in an attempt to prevent complications, which diminish the quality of life of the population.

Keywords: Type 2 diabetes mellitus, obesity, FINDRISC, atherogenic indices, single nucleotide polymorphisms, genetic risk factors.

Contenido

Lista de figuras.....	1
Lista de tablas	2
Lista de Símbolos y abreviaturas.....	3
Introducción	5
Marco Teórico.....	8
1.1 Diabetes Mellitus Tipo 2	8
1.2 Síntomas y complicaciones asociadas a la DM2.....	10
1.3 Diagnóstico de diabetes.....	11
1.4 Factores de riesgo asociado a DM2 y obesidad.....	13
1.4.1 The Finnish Diabetes Risk Score (FINDRISC)	14
1.4.2 Variantes génicas asociadas a DM2	15
1.5 Variantes génicas asociadas a obesidad	19
Objetivos.....	23
2.1 Objetivo general.....	23
2.2 Objetivos específicos	23
Materiales y Métodos	24
3.1 Reclutamiento de Voluntarios	24
3.1.1 Criterios de inclusión.....	25
3.1.2 Criterios de exclusión.....	25
3.2 Protocolo de reclutamiento	25
3.3 Toma de muestra sanguínea	26
3.4 Análisis bioquímicos	26
3.5 Extracción de ADN de las muestras sanguíneas.....	27

3.6 Amplificación de SNPs mediante qPCR de alto rendimiento.....	28
3.7 Análisis Estadístico.....	30
4. Resultados y discusión	32
4.1 Características de población.....	32
4.2 Análisis bioquímicos	36
4.3 Factores de riesgo según índices aterogénicos y FINDRISC.....	39
4.4 Factores de riesgo genético a obesidad y DM2	43
4.4.1 Distribución de los SNPs asociados a obesidad	44
4.4.2 Relación entre los SNPs y probabilidad de obesidad.....	48
4.4.3 Puntuación de riesgo y porcentaje de riesgo genético a obesidad.....	52
4.4.4 Asociación del riesgo genético con parámetros clínicos.	56
4.4.5 Exploración de estabilidad de los SNPs de riesgo a obesidad.....	58
4.4.6 Análisis de riesgo genético para DM2.....	59
5. Conclusiones y recomendaciones	63
5.1 Conclusiones.....	63
Bibliografía	66
Anexo I a. Aprobación Comité de ética.....	79
Anexo I b Aval del comité de ética Universidad Nacional	80
Anexo II Consentimiento informado.....	81
Anexo III Cuestionario FINDRISC.....	86
Anexo IV base de datos inicial con cada uno de los datos por voluntario	87
Anexo V Matriz de resultados para los SNPs	88
Anexo VI Cálculos OR, Índice de confianza al 95%.....	89
Anexo VII Frecuencia alélica y de genotipos de los SNPs que se evaluaron	92
Anexo VIII Ejemplo cálculo equilibrio Hardy weinberg	95

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1.1 Tejidos y rutas involucradas en DM2 y obesidad.	9
Figura 3.1 Metodología general para el análisis de SNP mediante Openarray	29
Figura 4.1 Relación entre el perímetro de cintura alterado y el IMC.....	35
Figura 4.2 Comportamiento glucémico preprandial de los voluntarios.	38
Figura 4.3 Discriminación de colesterol cLDL en la población de estudio.	39
Figura 4.4 Relación entre el índice cintura/altura y el IMC	41
Figura 4.5 Clasificación del factor de riesgo según la escala FINDRISC	44
Figura 4.6 Ejemplo de cálculo de OR para el SNP del gen TNEM18	49
Figura 4.7 Relación de probabilidad (OR) a desarrollar obesidad.....	50
Figura 4.8 Relación de probabilidad (OR) a desarrollar obesidad.....	51
Figura 4.9 Genes característicos de cada una de las situaciones analizadas.....	52
Figura 4.10 Cálculo para el porcentaje de riesgo a obesidad.....	53
Figura 4.11 Relación entre la puntuación de riesgo genético a obesidad y el IMC.....	54
Figura 4.12 Relación entre el porcentaje de riesgo genético y el IMC.....	56
Figura 4.13 Curvas ROC para los 27 SNPs asociados a obesidad.....	58
Figura 4.14. Relación del riesgo genético y los parametros clínicos	60
Figura 4.15 Equilibrio de Hardy Weinberg para cada SNP asociado a obesidad	62
Figura 4.16 SNPs asociados a DM2 con OR ≥ 1	63
Figura 4.17 SNP asociados a DM2 con OR ≥ 1 en función de IMC	64
Figura 4.18 Relación del porcentaje de riesgo genético a DM2 con el IMC	65

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1.1 Valores de referencia glucosa en sangre y su interpretación	11
Tabla 1.2 Valores de referencia de la PTOG	12
Tabla 1.3 Valores de referencia HbA1c	13
Tabla 1.4 Clasificación de los SNPs	15
Tabla 1.5 Polimorfismos de un solo nucleótido asociado a DM2	17
Tabla 1.6 SNPs asociados a obesidad	20
Tabla 4.1 Medidas de la valoración clínica.....	32
Tabla 4.2 Resultados de las pruebas bioquímicas.	37
Tabla 4.3 Relación de triglicéridos en los voluntarios y su clasificación	38
Tabla 4.4 Índices aterogénicos y FINDRISC	40
Tabla 4.5 Características generales de la población de análisis genético	45
Tabla 4.6 Frecuencia alélica de los SNPs de genes asociados a obesidad	47
Tabla 4.7 Puntaje genético y porcentaje de riesgo a obesidad para la población.....	53
Tabla 4.8 Características generales de la población de estudio.....	59

Lista de Símbolos y abreviaturas

Símbolos

Símbolo	Término
μL	Volumen microlitros
mg	Miligramos
mL	Volumen mililitros
mM	Concentración milimolar
M	Concentración Molar
nL	Volumen nanolitros
mmHg	Presión milímetros de mercurio
cm	Centímetro
Kg	Masa kilogramo
dL	Volumen decilitros

Símbolos con letras griegas

Símbolo	Término
χ^2	Chi cuadrado
γ	Gamma

Abreviaturas

Abreviatura	Término
ALAD	Asociación Latinoamericana de Diabetes
ANOVA	Análisis de varianza
AUC	Área bajo la curva
cHDL	Colesterol de alta densidad
cLDL	Lipoproteínas de baja densidad
CT	Colesterol Total
CYTED	Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo
DM2	Diabetes Mellitus Tipo 2
DMG	Diabetes Gestacional
ENT	Enfermedades Crónicas No Transmisibles
FINDRISC	The Finnish Diabetes Risk Score
Glu Prep A	Glucosa preprandial alterada
GLUT4	Transportador de glucosa 4
GT	Grasa Total
GV	Grasa Visceral
GWAS	Genome Wide Association Study

Abreviatura Término

HbA1c	Hemoglobina Glicosilada
HTA	Hipertensión Arterial
IDF	Federación Internacional de Diabetes
IGF2	Factor de crecimiento similar insulínico tipo 2
IMC	Índice de Masa Corporal
INSR	Receptor de Insulina
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
LPL	Lipoproteína Lipasa
N Glu	Normoglucémicos
NP	Normopeso
OB	Obesidad
OMS	Organización Mundial de la Salud
OR	Odds Ratio
PBLs	Pheripheral Blood Lymphocytes
PC	Perímetro de Cintura
PHW	Equilibrio de Hardy Weinberg
PRG	Puntuación de Riesgo genético
PTOG	Prueba Tolerancia Oral a la Glucosa
qPCR	Reacción en cadena polimerasa Cuantitativa
RI	Resistencia a la Insulina
ROC	Característica Operativa del Receptor
SNP	Polimorfismos de un solo nucleótido
SP	Sobrepeso
TAD	Tensión Arterial Diastólica
TAS	Tensión Arterial Sistólica
TG	Triglicéridos
VLDL	Lipoproteína de muy baja densidad

Introducción

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha informado que las enfermedades crónicas no transmisibles (ENT) son la principal causa de muerte y discapacidad en el mundo [1]. Según reportes del 2021, se estima que cada año mueren 15 millones de personas con edades entre 30 y 69 años, por una de estas enfermedades. Las patologías cardiovasculares lideran este grupo, seguidas por el cáncer, las enfermedades respiratorias y la diabetes [2]. Todos los grupos poblacionales son susceptibles de padecer una ENT especialmente cuando se exponen a factores de riesgo como dietas hipercalóricas (de alta ingesta de carbohidratos y lípidos, con bajo consumo de fibra), sedentarismo, el consumo alcohol y el tabaco [1]. La diabetes mellitus tipo 2 (DM2), se ha catalogado como la cuarta causa principal de ENT en todo el mundo, en consecuencia es un problema global de salud pública que requiere de mayor atención e intervención de carácter prioritario [2] [4], que ha venido aumentando paralelamente con la obesidad y el riesgo cardiovascular, especialmente en países de ingresos bajos y medios [2].

La DM2 se caracteriza por hiperglicemia, a consecuencia del uso ineficaz de la insulina que conlleva a resistencia a la insulina (RI), generando alteraciones de órganos, tejidos, vasos sanguíneos y nervios [3]. La obesidad se puede diagnosticar mediante el índice de masa corporal (IMC), que relaciona la masa corporal del individuo (en Kg) con la talla (m) al cuadrado (peso/talla²). La condición de obesidad (OB) es descrita por $IMC \geq 30$ y el sobrepeso (SP) entre 25 y 29,9 [4]. A nivel mundial se reporta un mayor número de muertes debido al sobrepeso y la obesidad, en comparación con las muertes a causa de la desnutrición de cualquier tipo [5][6]; a partir de 1975, la obesidad se ha triplicado en todo el mundo y en el 2016, más de 1.900 millones de adultos tenían $IMC \geq 25$, de éstos, más de 650 millones eran obesos [2][6]; durante el 2018 se reportó una de cada tres personas presentaba sobrepeso [4]. En Colombia, la Encuesta Nacional de Situación Nutricional (ENSIN) en el año 2015 reportó que en adultos entre 18 a 64 años, el 56,4% de la población presentaba exceso de peso, específicamente con sobrepeso el 37,7% y con obesidad el 18,7% [5].

Para el año 2021, la Federación Internacional de Diabetes (IDF, de las siglas en inglés International Diabetes Federation) estimó que a nivel mundial 537 millones de adultos entre 20-79 años padecían DM2; de éstos el 79,4% de la población proviene de países con

ingresos medios y bajos [6]. Durante el mismo año para Colombia se reportó que 3,4 millones de personas padecían DM2, sin embargo, se sugiere de un subdiagnóstico. Esas cifras convierten a esta patología, en un problema de salud pública, entre otras por el gasto en el recurso económico asociado al tratamiento, que es aproximadamente de siete millones de pesos colombianos por persona [7]. El fondo Colombiano de Enfermedades de Alto Costo, reporta que la tasa de mortalidad se calculó en 55 casos por cada 100.000 habitantes, se analizó que la incidencia en la población nacional es de 4 casos nuevos por cada 1000 habitantes [8]. En comparación con las estadísticas de años anteriores, el reporte de DM2 disminuyó debido a la emergencia sanitaria por COVID-19, en consecuencia, se espera un alto porcentaje de pacientes que no han sido diagnosticados y/o controlados, situación negativa para su calidad de vida, dado que consultarán cuando las complicaciones estén de manifiesto [9].

La Asociación Latinoamericana de Diabetes (ALAD) ha reportado múltiples factores de riesgo asociados a la DM2, entre ellos un IMC mayor de 27 kg/m², obesidad abdominal (mayor a 88 cm en mujeres y 102 cm en hombres), familiares diabéticos en primer grado de consanguinidad, residir en áreas urbanas de forma reciente siendo de procedencia rural; antecedentes obstétricos de diabetes gestacional (DMG) y/o ser hijos macrosómicos (peso al nacer > 4 kg); ser menor de 50 años con enfermedad coronaria; presentar hipertensión con otro factor de riesgo; presencia de triglicéridos mayor de 150 mg/dl y colesterol de alta densidad (cHDL) menor de 35 mg/dl; presentar alteración previa de la glucosa y/o tener diagnóstico de síndrome metabólico [10]. La DM2 cursa en sus inicios sin ningún tipo de sintomatología o con sintomatología sutil, por lo que es conocida como “la enfermedad silenciosa”, de ahí que la prevención y el diagnóstico temprano sea la clave para evitar o enlentecer el desarrollo de las complicaciones de la DM2, generalmente asociadas a daños micro y macrovasculares [11].

La escala de riesgo FINDRISC es una herramienta no invasiva, para la predicción de DM2. La valoración de esta escala permite identificar el riesgo a desarrollar la enfermedad en los siguientes 10 años; siendo de origen y aplicación inicial en la población finlandesa, pero validado en diferentes países [11]. La guía práctica clínica para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de la DM2 en la población mayor a 18 años de Colombia, tiene en cuenta la escala de riesgo FINDRISC como método de control y tamización a la población que permita dar una alerta temprana [12]. Aunque la DM2 tiene base multifactorial, la obesidad

y la inactividad física son la característica común. Por esa razón, uno de los objetivos planteados en el Plan de acción mundial para la prevención y el control de las ENT para 2025 es reducir la mortalidad conjunta de diabetes y obesidad [1]. En estas patologías existe asociación entre polimorfismos genéticos y factores ambientales. Se ha identificado que la relación entre la genética y los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) incide en el desarrollo de la enfermedad [13]. Existen polimorfismos que se encuentran en las regiones codificantes (cSNP) y se usan para verificar las mutaciones de genes de enfermedades y su susceptibilidad [13].

Los estudios alrededor de todo el genoma (GWAS, por sus siglas en inglés de Genome-Wide Association Study) han identificado locus que se relacionan al desarrollo de estas patologías, en los estudios de población y grupos étnicos [14]. Se ha asociado que los hijos de un progenitor diabético presentan un 40% de riesgo a desarrollar DM2, y en el caso de que ambos padres sean diabéticos el riesgo aumenta al 70%, sugiriendo el factor genético de la enfermedad [14]. Los países de la región de América Latina tienen mayor prevalencia a desarrollar DM2 debido al conjunto de las causas ambientales y genéticas que contribuyen a su etiología [15], para su estudio es necesario tener en cuenta la localización y el papel fundamental de los SNP para genes específicos que se encuentren relacionados. En Colombia y América Latina los estudios relacionados a estas variantes genéticas son escasos, por esta razón se hace necesario realizar pesquisas que permitan ampliar la información del análisis de SNP y puedan relacionarse con los marcadores bioquímicos en el desarrollo de DM2 y obesidad [16].

Este proyecto ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia y Tecnología de Colombia, hace parte del macroproyecto “Obesidad y diabetes en Iberoamérica: factores de riesgo y nuevos biomarcadores predictivos” financiado por el CYTED (IBEROBDIA 918PTE0540). Como grupo de investigación las actividades experimentales de reclutamiento de voluntarios, medidas de composición corporal y medidas antropométricas fueron desarrolladas en conjunto, con la participación de todos los integrantes del grupo, por tal razón los datos son compartidos en otros reportes científicos y son la base de comparación con el análisis de riesgo genético.

Marco Teórico

1.1 Diabetes Mellitus Tipo 2

La IDF define a la DM2 como una enfermedad multifactorial compleja y crónica que se caracteriza por la incapacidad de producción y utilización de la insulina y trae como consecuencia hiperglucemia crónica [9]. Se encuentra asociada a factores genéticos y ambientales, está caracterizada por (i) un incremento en la producción de insulina (hiperinsulinemia) por parte de las células beta pancreáticas, que con el tiempo lleva a daño en estas células al tratar de mantener la demanda; (ii) uso ineficiente de la insulina a nivel celular que resulta en resistencia a la insulina (RI); (iii) alteración en el efecto del sistema incretina, perdiéndose el metabolismo fisiológico de proteínas y lípidos [15] [17]. En la figura 1.1 se describen los tejidos y las rutas involucrados en el desarrollo de la DM2.

La insulina endógena es una hormona anabólica liberada por las células beta pancreáticas encargada de disminuir la concentración de glucosa en sangre, provocar aumento de peso, inhibir el catabolismo proteico (aumento de masa corporal magra), estimular la lipogénesis e inhibir la lipólisis, ralentiza el metabolismo basal y aumentar la acumulación de grasa [18][19].

En condiciones fisiológicas, la insulina se une a su receptor INSR (del inglés insuline receptor), que es una proteína transmembranal caracterizada por estructura tirosina quinasa. La unión receptor ligando conlleva a una cascada de señalización mediada por fosforilación de efectos citoplasmáticos y transcripcionales [20]. La hiperinsulinemia en los estados de RI es consecuencia de una menor expresión de receptores de la hormona en las membranas celulares o de isoformas de menor afinidad [19].

El INSR se caracteriza por tener dos isoformas A y B; la isoforma B se expresa en hígado, células beta pancreáticas, músculo, tejido adiposo y riñón, tejidos diana de los efectos

metabólicos de la insulina y están asociados a variadas respuestas efectoras de la hormona. La isoforma A se expresa durante el desarrollo fetal y en el cerebro, tiene afinidad además por el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 2 (IGF2) [21]

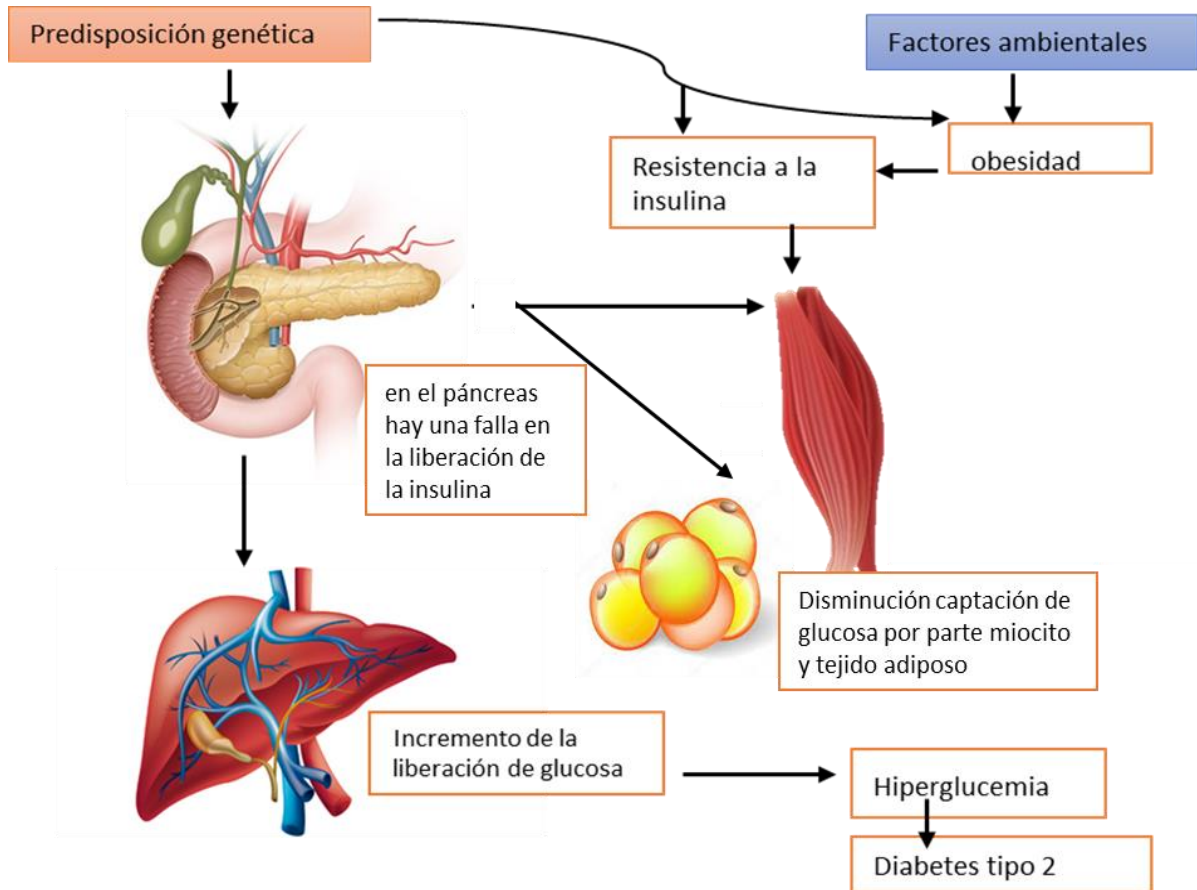


Figura 1.1 Tejidos y rutas involucradas en DM2 y obesidad [19].

El desequilibrio en la ingesta calórica, con bajo gasto de energía e incluso predisposición genética son la base para el desarrollo de la RI. Esto tiene como consecuencia disminución o pérdida de la señalización de la insulina luego de la unión con su receptor en los tejidos diana, generalmente asociada con alteración de las modificaciones postraduccionales de las enzimas involucradas en el proceso. El resultado de la pérdida de la señalización conlleva a efectos citoplasmáticos (i) sobre la acción del transportador de glucosa GLUT4, disminuyendo la entrada de glucosa al miocito y al adipocito, generando hiperglicemia. (ii)

se pierde la regulación de las enzimas quinasas y fosfatasas del metabolismo de los carbohidratos y de los lípidos. Se generan alteraciones transcripcionales relacionadas con las proteínas involucradas en el metabolismo [23]. Dentro de la respuesta del páncreas a la RI se genera un aumento de secreción de insulina por parte de las células beta que conlleva a que se den (i) lipodistrofias que es el deterioro en el almacenamiento de energía de los adipocitos por el impacto negativo del manejo de la glucosa en hígado y musculo, (ii) defecto en la señalización de insulina [22]. En el caso de la DM2 las células que se ven con mayor afectación son las células beta pancreáticas ya que su función decrece y se da un aumento en la apoptosis [20], y así puede inhibir o promover la secreción según la relación con el metabolismo [21].

1.2 Síntomas y complicaciones asociadas a la DM2

En el diagnóstico de una persona con DM2 y para facilitar la estrategia de manejo se tienen en cuenta dos parámetros, (i) niveles de glucosa normal (normoglucemia) con procesos fisiopatológicos que empiezan con alteración previa al metabolismo de la glucosa; (ii) niveles elevados de glucosa en sangre [2], asociado a síntomas que se presentan en su desarrollo como (a) polidipsia, aumento de sed, (b) poliuria, aumento en ganas de orinar y eliminación frecuente de orina, (c) polifagia, aumento excesivo por ganas de comer [23].

Dentro de las complicaciones de la DM2 están las alteraciones macrovasculares que están relacionadas con enfermedad coronaria, miocardiopatía, arritmias, enfermedad cerebrovascular, enfermedad arterial periférica, que incluso puede llevar a la muerte del paciente diabético. El mecanismo principal de su desarrollo es el estrés oxidativo y contribuye a la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) [24][25]. Las complicaciones microvasculares están asociadas a (i) la retinopatía, por ser la retina altamente vascularizada, los daños a nivel de vasos sanguíneos ocasiona edemas y hemorragias, dando lugar a pérdida de visión; (ii) la nefropatía se da cuando hay un aumento de proteinuria (microalbuminuria), que es uno de los indicativos de daño a nivel renal, y suele ser asintomática [26], y (iii) la neuropatía, asociada a daño en cualquier nervio del cuerpo, principalmente genera mala circulación en los pies que conlleva a heridas debido a la pérdida sensorial, luego a úlceras y hasta amputaciones; en los hombres se presenta disfunción eréctil [27][28]. A medida que el riesgo cardiovascular aumenta se puede desarrollar periodontitis, que es la pérdida de dientes debido a la

inflamación del tejido que rodea el diente [10][29]. Los datos clínicos y epidemiológicos indican que la DM2 en combinación con el IMC elevado es un factor de riesgo para desarrollar cáncer colorrectal, renal, pancreático, hepático, vesícula biliar, mama, ovario, cuello uterino, endometrio y enfermedades digestivas, debido a la hiperinsulinemia, hiperglucemia y la inflamación [26].

Alrededor de la mitad de los pacientes que presentan DM2 tienen hipertensión arterial (HTA), asociado con colesterol de baja densidad (cLDL) ≥ 100 mg/dL, junto colesterol no HDL y triglicéridos aumentados en comparación con población sin diabetes. El envejecimiento y la etnicidad aumenta en gran medida que se de esta heterogeneidad de las características que presentan las personas que padecen DM2 [2].

1.3 Diagnóstico de diabetes

El diagnóstico clínico de la DM2 se establece en función de tres parámetros, (i) valores de glucosa plasmática en ayunas, y luego de la prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG); (ii) valor de hemoglobina glicosilada; y (iii) prueba aleatoria de glucosa en sangre [30].

Glucosa plasmática en ayunas

La glucosa preprandial se determina mediante análisis enzimático- colorimétrico en mg de glucosa/dL de suero. El paciente debe acudir al laboratorio clínico, en ayuno de no más de 8 horas (preprandial), donde se le realizará la extracción de sangre. En función del valor de glucosa obtenido (ver tabla 1.1), el paciente podrá ser diagnosticado [23][31].

Tabla 1.1 Valores referencia de glucosa plasmática y su interpretación

Concentración de Glucosa plasmática en ayunas o preprandial	Diagnóstico
70-99 mg/dL	Glucosa en sangre normal
100-125 mg/dL	Prediabetes o glucosa en ayunas alterada
Glucosa en ayunas ≥ 126 mg/dL Glucosa más síntomas ≥ 200 mg/dL	Diabetes mellitus tipo 2

Valores reportados por la guía práctica clínica para el manejo y control de DM2 en población colombiana del año 2017 [23].

Prueba de Tolerancia Oral a la Glucosa (PTOG)

En esta prueba además de la glucosa preprandial, el paciente debe ingerir una carga de glucosa del 21,4% (75 g de glucosa anhidra disueltos en 350 mL de agua a temperatura ambiente), justo después de la primera toma de muestra de sangre. A las dos horas poscarga se hace una nueva extracción de sangre para realizar el análisis de glucosa enzimático-colorimétrico. La PTOG permite determinar alteraciones en la internalización fisiológica de la glucosa. La tabla 1.2 muestra los valores de referencia poscarga [23] [30].

Tabla 1.2 Valores de referencia de la PTOG

Concentración de Glucosa plasmática poscarga.	Diagnóstico
≤ 140 mg/dL	Normal
141- 199mg/dL	Prediabetes o tolerancia alterada a la glucosa
≥ 200 mg/dL	Diabetes

Valores reportados por la guía práctica clínica para el manejo y control de DM2 en población colombiana del año 2017 [23].

Cuando se reportan valores que indican tolerancia alterada a la glucosa se relaciona directamente a un mayor riesgo a desarrollar DM2. En esta etapa el proceso puede ser reversible a condiciones fisiológicas, por ello la Asociación Latinoamericana de Diabetes (ALAD) estipula que si se realizan intervenciones positivas en el estilo de vida, que incluye una dieta equilibrada y actividad física pueden llevar a niveles normales de glucosa en sangre [9].

Prueba aleatoria de glucosa

En esta prueba aleatoria o también llamada glucosa al azar se realiza un análisis de glucosa en sangre que es tomado en cualquier momento del día. Se hace el diagnóstico de DM2 cuando el nivel de glucosa en sangre es igual o superior a 200 mg/dL [30].

Hemoglobina glicosilada (HbA1c)

La hemoglobina es una hemoproteína de los glóbulos rojos, cuya función es transportar el oxígeno a las células. La glucosa por ser una molécula tan reactiva genera reacciones de glicosilación no enzimática con esta proteína, en caso de hiperglicemia se ha relacionado un valor mayor al 5,7% [30][32]. Ese porcentaje es referente de las concentraciones de glucosa en sangre promedio durante los últimos dos o tres meses (viabilidad de los glóbulos rojos), la tabla 1.3 muestra los valores referencia para este marcador [30][33].

Tabla 1.3 Valores de referencia HbA1c

Valores de HbA1c.	Diagnóstico
< 5,7%	Normal
5,7% a 6,4%	Prediabetes
≥ 6,5%	Diabetes

Valores reportados por la guía práctica clínica para el manejo y control de DM2 en población colombiana del año 2017 [23].

1.4 Factores de riesgo asociado a DM2 y obesidad

Entre los factores de riesgo para el desarrollo de DM2 se encuentran (i) los no modificables como la edad y la predisposición genética; (ii) los modificables que incluyen el sobrepeso/obesidad, alimentación inadecuada y sedentarismo. Esos últimos también se conocen como factores ambientales y son los que más han influido en el aumento de la prevalencia de DM2 en las últimas tres décadas [34].

La obesidad es una condición fisiológica que está caracterizada por una acumulación anormal de grasa y se cataloga como un factor de riesgo para ENT. Tiene incidencia en la DM2 y enfermedades cardiovasculares debido al estilo de vida [35], y factores genéticos que influyen en la ingesta de alimentos y en la elección de éstos que contribuyen a la obesidad [36].

La diabetes y la obesidad se han enmarcado bajo el nombre de diabetes-obesidad, mostrando una interrelación fisiopatológica. Este término surgió debido a que el IMC por sí solo es una medida incompleta, que no tiene en cuenta la composición corporal (grasa corporal y

musculo). En el IMC no se incluye la relación entre un exceso de grasa o baja masa muscular (sarcopenia), por esta razón es necesario tener en cuenta medidas antropométricas adicionales como el perímetro de cintura. Con éste se relaciona la acumulación de grasa abdominal, la RI, aumentando el riesgo de aterosclerosis y mortalidad prematura [37]. El manejo del control glucémico es una de las prioridades en una situación de diabetes, la cual se ha visto en aumento en las últimas décadas [19][38].

La obesidad está relacionada con varias complicaciones, entre ellas, enfermedades cardiovasculares, trastornos metabólicos, enfermedad pulmonar obstructiva, artritis, cáncer y afecciones psicosociales que son consecuencia de la hiperglucemia, hiperlipidemia, RI e inflamación crónica [39]. La relación de estas condiciones se da debido a la inflamación crónica que se asocia a la obesidad, donde las citoquinas proinflamatorias producidas por los adipocitos afectan los tejidos insulino-dependientes y las células beta pancreáticas. Se conforma un estado de lipotoxicidad que promueve de forma cíclica el daño en los tejidos [40].

1.4.1 The Finnish Diabetes Risk Score (FINDRISC)

El test o cuestionario de FINDRISC es una herramienta no invasiva, para la valoración del riesgo a DM2 a 10 años, e incluso permite detectar casos asintomáticos de la patología [41]. La escala fue diseñada para la población finlandesa, ha permitido adaptarse y validarse en diversas partes del mundo. Además de no ser invasiva, tiene otras ventajas como, bajo costo, fácil de realizar, de alta sensibilidad y especificidad que permite alertar, prevenir y llamar la atención en ciertos parámetros de estilo de vida [65][66][67]. El FINDRISC asigna puntaje entre 0 y 5 diferencialmente a las siguientes ocho variables (i) la edad, (ii) el IMC, (iii) el perímetro de cintura, (iv) el consumo de medicamentos para la hipertensión, (v) el consumo diario de frutas y verduras, (vi) la actividad física diaria, (vii) los antecedentes de niveles de glucosa elevados y (viii) antecedentes familiares de diabetes. En la población finlandesa el punto de corte validado y más eficiente para discriminar entre alto y bajo riesgo de DM2 fue 14/15 puntos, sin requerir de mediciones en el laboratorio. De acuerdo con las guías del Ministerio de Salud de Colombia el punto de corte para seguimiento o alerta es 12 puntos [34] [63] [64].

1.4.2 Variantes génicas asociadas a DM2

La epigenética es un factor en la patología porque puede influir de manera positiva o negativa en la expresión de determinados genes. Estudios recientes han identificado una serie de factores genéticos que explican en parte la variabilidad interindividual de la susceptibilidad [41]. Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) son las variaciones genéticas que se encuentran relacionadas con el desarrollo de patologías multifactoriales. Se caracterizan por ser marcadores genéticos que están distribuidos alrededor de todo el genoma. En promedio se localizan cada 250 pb, e involucran la sustitución de un nucleótido cuando se comparan con los cromosomas homólogos [42]. Los SNP varían de acuerdo con la ubicación en la que se encuentren en el genoma y a partir de esto se realiza su clasificación según la región en la que estén localizados (Tabla 1.4).

Tabla 1.4 Clasificación de los SNPs

SNP funcionales	Ubicación	Función
rSNP y miR-rSNP	Promotor codificante y no codificante de proteínas	Alteración en la expresión de la proteína
srSNP	Pre-mRNA y mRNA maduros	Altera traducción estabilidad longitud y la interacción
cSNP	Secuencia codificante	Afectan la estructura y función o actividad de las proteínas

Tomado de [42].

Los SNP funcionales de promotores de genes que codifican para proteínas se conocen como SNP reguladores (rSNP). También existe los SNP no codificantes de regiones reguladoras conocidos como microRNA (miR-rSNP), que afectan la expresión génica [43]. Esos miR-rSNP se han relacionado con el desarrollo de enfermedades, dado que al unirse al ADN pueden competir con los factores de transcripción en los sitios de reconocimiento y alterar la capacidad transcripcional de un específico gen. Los SNP funcionales localizados en la estructura de los mRNA precursores (pre-mRNA) y los mRNA maduros se denominan miR-srSNP, que pueden intervenir en los procesos de traducción, corte y empalme [44].

Los SNP funcionales se clasifican en (i) sinónimos (sSNP), cuyo cambio en el nucleótido no altera el código del codón por lo que da origen al mismo aminoácido; y (ii) no sinónimos (nsSNP) que se encuentran ubicados en las regiones codificantes de exones. Estos últimos

pueden ser “sin sentido” cuando generan un codón de parada y terminación de la proteína; o de “sentido erróneo” que producen cambio de un aminoácido, afectando la secuencia, estructura y función de la proteína producto [45]. La asociación de la DM2 con los factores genéticos y la influencia para su desarrollo puede variar dependiendo el grupo étnico y antecedentes consanguíneos. Al comparar pacientes con factores de riesgo modificables pero que no presentan antecedentes familiares, en ellos se tiende a retrasar los signos y síntomas de la patología. Mientras que los pacientes con antecedentes familiares de DM2, generalmente presentan (i) alteraciones asociadas a hiperglucemia mucho antes de su desarrollo; (ii) fallas en el metabolismo no oxidativo de la glucosa; (iii) RI; y (iv) aumento de peso que se produce de manera más temprana [46].

Los estudios realizados a lo largo del genoma humano, especialmente en el GWAS, han relacionado genes y alelos de riesgo con la susceptibilidad al desarrollo de la DM2, determinando loci de riesgos genéticos que contribuyen a la predisposición de desarrollarla [47] [48]. En la tabla 1.5 se describen las variantes de los alelos que contribuyen de manera significativa a la predicción de DM2, y que son los analizados en la prueba comercial Prevent DM2 del grupo PATIA [49].

Entre la lista de variantes que se ha analizado las de mayor y constante asociación al desarrollo de DM2 son TCF7L2, PPARG, FTO, KCNJ11, NOTCH2, WFS1, CDKAL1, IGF2BP2, SLC30A8, JAZF1 y HHEX [64][70]. Estas variantes se relacionan con procesos del metabolismo de los carbohidratos y de los lípidos, también efectos de la proliferación, regeneración y apoptosis de las células beta pancreáticas [70]. El TCF7L2 hace parte del factor de transcripción 7 asociado a la secreción de la insulina y se relaciona con la expresión de los islotes de Langerhans; hasta el momento ha sido el gen más estudiado en cuanto a los SNP. Esta variante presenta un efecto alterado de la acción de la insulina y de la incretina en los individuos que portan el polimorfismo [47][61]. Con relación a la repercusión de todas las variantes genéticas, se ha reportado que cada variante adicional ocasiona un aumento entre el 16% y el 19% de riesgo a DM2 [71]. Los estudios del GWAS señalan que más del 90% de los SNP ocurre en los intrones y hacen parte de las regiones no codificantes, que pueden ser de acción reguladora [72].

Tabla 1.5 Polimorfismos de un solo nucleótido asociado a DM2

Gen	Localización SNP	Alelo riesgo	Posición	Característica	Ref.
SLC16A11	rs75493593	T	17p13.1	Metabolismo de lípidos, aumento TAG ¹ y RI ²	[50] [56] [52]
INS-IGF2	rs149483638	T	11p15.5	Alelo protector, promueve proliferación y supervivencia de las células beta	[52][53]
HNF1A	E508K	A	12q24.31	Regulación en los genes para metabolismo de la glucosa y lípidos, función normal células beta del páncreas	[54][55]
WFS1	rs4458523	G	4p16.1	Falta de función de la wolframina, deficiencia de insulina	[56]
SLC30A8	rs3802177	G	8q24.11	Transportador salida de Zinc implicado en la acumulación en vesículas intracelulares, se relaciona con los procesos de maduración y almacenamiento de insulina	[57]
PPARG	rs1801282	C	3p25.2	Regulador en la diferenciación de adipocitos y homeostasis de la glucosa	[58]
IGF2BP2	rs4402960	T	3q27.2	Implicada en el desarrollo pancreático	[59]
CDKAL1	rs7756992	G	6p22.3	No se conoce su función, se asocia a susceptibilidad de DM2	[60]
ADCY5	rs11717195	T	3q21,1	Relacionado con niveles elevados de glucosa en ayunas	[61]
JAZF1	rs849135	G	7p15.1	Se expresa en todos los tejidos, regula genes diana (no se ha elucidado el mecanismo) asociado a DM2	[62]
HHEX/IDE	rs1111875	C	10q23.33	Esencial para el desarrollo de las células del páncreas	[63]
KCNJ11	rs5219	T	11p15.1	Control en la secreción de la insulina	[64][65]
KCNQ1	rs2237897	C	11p15.4	Influye en la secreción de insulina, metabolismo glucosa	[66]
TCF7L2	rs7903146	T	10q25.2	Regulación metabolismo de glucosa, daño secreción insulina	[64]
FTO	rs9936385	C	16q12.2	Actúa como regulador de la masa grasa, adipogénesis	[67]
CDKN2A/B	rs10811661	T	9p21.3	Regeneración en las células beta	[68]

¹TAG: triacilglicerol y ²RI: resistencia a la insulina. En la tabla se identifica cada variante, la vía, la localización de cada SNP mediante el rs (del inglés reference SNP) y los alelos que se ven implicados [69].

Con relación a la raza y el origen étnico, Latinoamérica se caracteriza por tener contribuciones ancestrales de Europa, América y África. La mayor carga genética al desarrollo de DM2 y enfermedades cardiovasculares se encuentra en América, con una alta prevalencia en los nativos americanos y afroamericanos, en comparación con los europeos que emigraron a Estados Unidos [73]. La prevalencia de la DM2 en hispanos /latinos se encuentra en aumento y se relaciona con los factores genéticos de mayor ascendencia nativa americana y africana; como característica común se presentan niveles socioeconómicos bajos [74]. Puede sugerir que los factores ambientales determinan predominantemente los resultados de DM2 en comparación con los factores genéticos [35]. El riesgo a DM2 es de dos a cinco veces mayor en latinos, y hay una contribución del nivel socioeconómico a la relación ascendencia-diabetes [75].

En la población latinoamericana se han reportado diversos estudios asociados a los SNP de riesgo para DM2, entre estos las variantes del gen SLC16A11 que son comunes en individuos mexicanos que presentan un aumento del 20% en el riesgo a DM2 [75]; esta variante se proyecta como un potencial objetivo terapéutico [76][51][77]. El gen SLC16A11 traduce a una proteína con función de transportador de monocarboxilato ligado a protones, entre ellos el piruvato, y se involucra en el metabolismo de los carbohidratos y lípidos hepáticos [51].

El consorcio de DM2 en Medicina Genómica para América (SIGMA) ha caracterizado la base genética en poblaciones mexicanas y latinoamericanas, donde la prevalencia a esta patología es el doble de la reportada para los blancos no hispanos de USA. Los estudios se miden con la localización del SNP (rs), la relación de probabilidades (OR del inglés Odds Ratio), que indica la probabilidad de que ocurra una enfermedad y el valor "p" que refleja la significancia estadística. Se ha reportado que para el gen TCF7L2 (rs7903146), el valor p es $2,5 \times 10^{-17}$ (de alta significancia estadística), y el OR es 1,41, dentro de un intervalo de confianza del 95 % [55]. El gen KCNQ1 codifica para una proteína con función de canal de potasio dependiente de voltaje, se expresa en tejido cardíaco, cerebral, adiposo y pancreático [66]. Se ha reportado que la variante rs2237897 de KCNQ1, con un valor p de $4,9 \times 10^{-16}$ (de alta significancia estadística), presenta un OR de 0,74 dentro del rango de confianza del 95% [78][50].

En Colombia se reportó un estudio de SNP asociados al desarrollo de DM2, el análisis incluyó 545 pacientes con DM2 del nordeste colombiano. La investigación se centró en las

proteínas desacoplantes (UCP) de la producción de ATP en la respiración mitocondrial; éstas pertenecen a la familia de transportadores de aniones con liberación de protones que llevan a la disipación de energía en forma de calor. Se encontró que algunas de las variantes de las proteínas desacoplantes 1, 2 y 3 y sus haplotipos confieren riesgo para DM2; específicamente las variantes -3826A (OR=0,78; IC95% p=0,02), -55C (OR=1,41; IC95% 1,04-1,92; p=0,03), respectivamente, y el haplotipo D45, -866G, -1957G, -2723T, -55C (OR=1,26; IC95% 1,02-1,56; p=0,03) [79].

1.5 Variantes génicas asociadas a obesidad

Diferentes investigaciones evidencian que la obesidad es altamente prevalente y hereditaria. La relación de la distribución de grasa corporal medida a través del IMC y la relación cintura-cadera son moduladas por diferentes loci indicando el carácter hereditario. Se reporta de una contribución genética sustancial al riesgo de obesidad entre el 40 y 70% [80][81].

Utilizando qPCR de alto rendimiento se pueden hacer estudios de variantes SNP, esta técnica tiene amplias aplicaciones en el campo de la medicina, entre ellas el análisis de la expresión génica, diagnóstico y seguimiento de ciertas enfermedades y estudios de señalización de vías metabólicas. Permite utilizar volúmenes muy pequeños del orden de los nanolitros en la reacción, lo que la convierte en una herramienta atractiva en investigación. En esta técnica se permite hacer varios ensayos que pueden ser analizados al mismo tiempo con más sensibilidad y especificidad [82].

El grupo de investigación del Laboratorio de Higiene, Inspección y Control de Alimentos (LHICA) de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Santiago de Compostela, seleccionó un grupo de SNPs asociados a obesidad, consultando la información en las bases de datos científicas Scopus y Web of Science. La búsqueda se realizó con las palabras claves “SNPs”, “obesidad”, “síndrome metabólico”, “Puntuación de Riesgo Genético (PRG)” y “GWAS”. De acuerdo con el metaanálisis se seleccionaron 53 genes con 64 variantes asociadas con riesgo a obesidad (Tabla 1.6).

Tabla 1.6 SNPs asociados a obesidad

Gen	Identificador NCBI	Alelo de riesgo	Rasgo	GWAS		Ref
				Sujetos (N)	P-value	
DNM3	rs1011731	G	IMC ¹ , RCC ²	77094	1,72 × 10 ⁻¹⁰	[81]
GRB14	rs10195252	T	IMC, RCC	77119	3,23 × 10 ⁻¹⁰	[81]
LIPC	rs10468017	T	HDL, CC ³	22161	5,5 × 10 ⁻⁸	[84]
HSD17B4	rs10478424	A	IMC, RCC	73137	1,02 × 10 ⁻⁵	[85]
NFE2L3	rs1055144	T	IMC, RCC	77145	1,49 × 10 ⁻⁸	[81]
BDNF	rs10767664	A	IMC	204158	2,67 × 10 ⁻²⁵	[86]
GNPDA2	rs10938397	G	IMC	197008	1,6 × 10 ⁻²⁹	[86]
LRRN6C	rs10968576	G	IMC	216916	2,65 × 10 ⁻¹³	[86]
NCAM2	rs11088859	A	CC	1060	3,75 × 10 ⁻⁸	[87]
FTO	rs1121980	A	IMC	16876	3,6 × 10 ⁻⁸	[88]
MAP3k1	rs11743303	G	IMC, RCC	73137	2,27 × 10 ⁻⁶	[85]
PRKD1	rs11847697	T	IMC	241667	2,23 × 10 ⁻¹⁰	[86]
FTO	rs12149832	A	IMC	62245	4,80 × 10 ⁻²²	[75]
GPRC5B	rs12444979	C	IMC	239715	3,27 × 10 ⁻²¹	[86]
LY86	rs1294421	G	IMC, RCC	77154	6,31 × 10 ⁻⁹	[81]
MC4R	rs12970134	A	IMC	2684	4,6 × 10 ⁻⁶	[36]
COBLL1	rs13389219	C	RCC	9880	2,68 × 10 ⁻⁶	[87]
HOXC13	rs1443512	A	IMC, RCC	77165	3,33 × 10 ⁻⁸	[81]
TNNI3K	rs1514175	A	IMC	227900	2,51 × 10 ⁻¹³	[86]
FTO	rs1558902	A	IMC, RCC	192344	2,3 × 10 ⁻¹¹	[86]
CETP	rs173539	C	HDL ⁵ , CC	22161	1,0 × 10 ⁻¹⁶	[84]
<i>MC4R</i>	rs17782313	C	IMC ¹	110567	1,10 × 10 ⁻²⁰	[86]
<i>FTO</i>	rs17817449	G	IMC	65406	4,60 × 10 ⁻²⁷	[80]
<i>ZNF512</i>	rs1919128	A	TG ⁴ , CC ³	22161	2,0 × 10 ⁻⁹	[84]
<i>ZNF259</i>	rs2075290	C	TG, CC	22161	1,1 × 10 ⁻¹⁶	[84]
<i>MAP2K5</i>	rs2241423	G	IMC	227950	2,76 × 10 ⁻¹⁸	[86]
<i>APOA5; ZPR1</i>	rs2266788	A	TG, CC	22161	2,2 × 10 ⁻¹⁶	[84]
<i>QPCTL</i>	rs2287019	C	IMC	194564	7,56 × 10 ⁻¹⁵	[86]
<i>NEGR1</i>	rs2815752	A	IMC	198380	2,95 × 10 ⁻²⁰	[86]
<i>TMEM18</i>	rs2867125	C	IMC	197806	3,71 × 10 ⁻⁴⁶	[86]

¹IMC índice de masa corporal, ²RCC ratio cintura cadera, ³CC circunferencia cintura, ⁴TG triglicéridos

Tabla 1.6 (continuación) SNPs asociados a obesidad

Gen	Identificador NCBI	Alelo de riesgo	Rasgo	GWAS		Ref
				Sujetos (N)	P-value	
<i>LRP1B</i>	rs2890652	C	IMC	209068	$9,27 \times 10^{-11}$	[86]
<i>IRS1</i>	rs2943650	T	% Grasa	76150	$3,80 \times 10^{-11}$	[61]
<i>CCDC121</i>	rs3749147		TG, CC	22161	$1,4 \times 10^{-9}$	[84]
<i>MTIF3</i>	rs4771122	G	IMC	198577	$9,48 \times 10^{-10}$	[86]
<i>ZNRF3-</i>	rs4823006	A	IMC, RCC ²	77086	$2,41 \times 10^{-5}$	[81]
<i>LYPLAL1</i>	rs4846567	G	IMC, RCC	77167	$2,37 \times 10^{-12}$	[81]
<i>SPRY2</i>	rs534870	A	% Grasa	70831	$3,2 \times 10^{-8}$	[89]
<i>SEC16B</i>	rs543874	G	IMC	179414	$7,68 \times 10^{-22}$	[86]
MC4R	rs571312	A	IMC	203600	$2,22 \times 10^{-40}$	[86]
SEC16B	rs574367	T	IMC ¹	65406	$9,47 \times 10^{-20}$	[80]
TMEM18	rs6548238	C	IMC	114643	$3,20 \times 10^{-26}$	[61]
MC4R	rs6567160	C	IMC	65406	$2,76 \times 10^{-15}$	[36]
GRB14	rs6717858	T	IMC, RCC ²	73137	$2,78 \times 10^{-15}$	[85]
ADAMTS9	rs6795735	C	IMC, RCC	77162	$2,47 \times 10^{-7}$	[81]
VEGFA	rs6905288	A	IMC, RCC	77129	$4,72 \times 10^{-10}$	[81]
FAIM2	rs7138803	A	IMC	200064	$1,63 \times 10^{-17}$	[86]
ITPR2	rs718314	G	IMC, RCC	77167	$2,41 \times 10^{-8}$	[81]
SH2B1	rs7359397	T	IMC	204309	$9,54 \times 10^{-20}$	[86]
GCKR	rs780093	T	TG ⁴ , CC ³	22161	$1,9 \times 10^{-12}$	[84]
FTO	rs8050136	A	IMC	72003	$1,1 \times 10^{-47}$	[67]
RSPO3	rs9491696	G	IMC, RCC	77164	$2,10 \times 10^{-14}$	[81]
ETV5	rs9816226	T	IMC	196221	$1,69 \times 10^{-18}$	[86]
TBX15	rs984222	G	IMC, RCC	77167	$3,81 \times 10^{-14}$	[81]
TFAP2B	rs987237	G	CC	195776	$1,24 \times 10^{-19}$	[86]
FTO	rs9939609	A	CC	159848	$5,4 \times 10^{-43}$	[89]

¹IMC índice de masa corporal, ²RCC ratio cintura cadera, ³CC circunferencia cintura, ⁴ TG triglicéridos

Con las secuencias de estas variantes se diseñó una matriz como herramienta para el análisis de SNPs en la población mediante la tecnología qPCR de alto rendimiento; varios de los genes seleccionados que presentan SNPs pueden ser de tipo monogénicos o poligénicos y están relacionados con metabolismo lipídico, el IMC, la asociación cintura/cadera, el perímetro de cintura, entre otros [83].

Los anteriores estudios son una muestra de la utilidad de analizar las variaciones génicas para establecer el riesgo a DM2 y a obesidad. En ese orden de ideas se considera que estas investigaciones deben ser de mayor implementación en Colombia, como parte de la estrategia de prevención y seguimiento de estas enfermedades metabólicas.

Objetivos

2.1 Objetivo general

Comparar entre factores de riesgo a DM2 y obesidad en población colombiana entre 40 y 70 años.

2.2 Objetivos específicos

2.2.1 Evidenciar los factores de riesgo asociados a DM2 con escala FINDRISC, medidas antropométricas y análisis bioquímicos.

2.2.2 Analizar factores de riesgo asociados a obesidad mediante composición corporal y análisis bioquímicos.

2.2.3 Asociar pruebas bioquímicas y factores de riesgo a polimorfismos de un solo nucleótido.

Materiales y Métodos

Esta investigación hace parte del proyecto “Obesidad y Diabetes en Iberoamérica: Factores de riesgo y nuevos biomarcadores patogénicos y predictivos”, financiado por el programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CyTED), y por el Ministerio de Ciencia y Tecnología de Colombia como proyecto de la red IBEROBDIA (918PTE0540). Se desarrolló en el grupo de investigación de Bioquímica y Biología Molecular de Micobacterias (BBMM) del Departamento de Química de la Universidad Nacional de Colombia, y el Laboratorio de Higiene Inspección y Control de Alimentos (LHICA). de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Santiago de Compostela (Lugo-España). El desarrollo de las actividades experimentales obtuvo dictamen favorable con código de registro 2018/270 del 20 de septiembre de 2018 del Comité Autonomo de Ética de Investigación de Galicia (Santiago de Compostela) (Anexo I a). El proyecto también fue avalado por el Comité Ética de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de Colombia, según Acta 02 del día 04 de marzo de 2019 (Anexo I b).

La metodología desarrollada para el cumplimiento de los objetivos de este estudio de tipo descriptivo, analítico y de corte transversal, involucró el reclutamiento de voluntarios de edad entre 40 y 70 años. A estos hombres y mujeres se les realizó valoración médica junto con pruebas bioquímicas, medidas de composición corporal y antropométricas. Se hizo el análisis de las variantes génicas (SNPs), sobre el ADN de linfocitos de sangre periférica (PBL del inglés Peripheral Blood Lymphocytes) extraído de la sangre de los voluntarios.

3.1 Reclutamiento de Voluntarios

El reclutamiento de voluntarios permitió obtener las muestras biológicas necesarias para el desarrollo del estudio. Para dar a conocer el proyecto se empleó una estrategia de comunicación que incluyó afiches, plegables y videos, que fueron enviados a la población de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá, familiares de pacientes diabéticos de la asociación Colombiana de Diabetes, Juntas de Acción Comunal de localidades y hospitales de diferentes municipios del país entre ellos Cáqueza, La Vega, Usme, Une en el Departamento de Cundinamarca; Circasia en el Quindío, además de las ciudades de Bogotá, Medellín e Ibagué. Por motivos de pandemia no se pudo cumplir con la agenda de incorporar voluntarios de otras ciudades al proyecto. Se realizaron jornadas de salud para

atender a los voluntarios por personal médico, bacteriólogos y personal capacitado en toma de medidas antropométricas, de composición corporal y diligenciamiento de encuestas.

A todos los voluntarios se les entregó un documento que contenía la información del proyecto, el consentimiento informado que permitía la toma de muestras biológicas y su análisis, además del tratamiento de datos según la ley 1581 de 2012. En este documento se le indicaba al voluntario que tenía la libertad de abandonar el estudio en cualquier momento (Anexo II). Para iniciar el proceso cada voluntario debía firmar el consentimiento informado, el cual quedó en poder del grupo de investigación; a cada documento se le asignó un código numérico como parte de la identificación de las muestras y la protección de datos.

3.1.1 Criterios de inclusión

Todos los voluntarios debían ser de nacionalidad colombiana, además de cumplir con los siguientes criterios de inclusión *(i)* estar dentro del rango de edad de 40 a 70 años; *(ii)* no tener diagnóstico de diabetes y/o no estar tomando medicación para esta patología; *(iii)* no estar tomando medicación para la hipertensión arterial (HTA), y/o fármacos que puedan alterar la capacidad mental o de alerta; *(iv)* no estar en estado de embarazo, y *(v)* estar en ayuno alrededor de 8 horas.

3.1.2 Criterios de exclusión

Se excluyeron voluntarios menores o mayores al rango de edad (40-70 años), con diagnóstico de diabetes. También mujeres en estado de embarazo, voluntarios que estuvieran ingiriendo medicamentos para DM2 y sustancias psicoactivas; personas con discapacidad mental, y todos aquellos que no estaban en ayunas.

3.2 Protocolo de reclutamiento

Luego de firmar el consentimiento informado cada voluntario pasaba a la valoración médica que incluyó, *(i)* la medida de la tensión arterial (tensiómetro Welch Allyn); *(ii)* la talla (el tallímetro-estadímetro portátil SECA modelo 213); *(iii)* el perímetro de cintura se midió entre el borde inferior de la décima costilla y el borde superior de la cresta ilíaca en espiración,

el procedimiento se realizaba después de una espiración normal con una cinta métrica plástica con una precisión de 1mm (LORD) LDC-338; (iv) diligenciamiento de la historia clínica; (v) glucometría en ayunas (glucómetro Roche y kit Accu-chek).

Las medidas de composición corporal y bioimpedancia se realizaron en una balanza Omron modelo Hbf-514c (healthcare, inc USA). Luego de ser calibrado el equipo, a cada voluntario se le solicitó el retiro de calcetines, y elementos metálicos, colocando los pies sobre los electrodos de la balanza, en posición erguida con mirada al frente y empuñando los electrodos para cerrar el circuito. En el formulario se diligenciaron los valores de masa corporal (Kg), IMC (Kg/m^2), porcentajes de grasa corporal total, grasa visceral y musculo.

Con los datos correspondientes se diligenció el cuestionario FINDRISC (Anexo III), que luego de la valoración permitió discriminar entre aquellos voluntarios a los que se les realizaría la PTOG (puntaje mayor a 12, con riesgo del 17% a padecer DM2 en 10 años). A los voluntarios se les tomó muestra de sangre para las pruebas bioquímicas del análisis metabólico y para extracción de ADN.

El universo de la población reclutada fue 620 mujeres y hombres colombianos, de estos quienes completaron el protocolo básico fueron 535. Se seleccionaron 111 para el análisis de las variantes génicas (SNP) de acuerdo con las características de FINDRISC, antecedentes familiares de DM2, e IMC.

3.3 Toma de muestra sanguínea

La extracción de la muestra de sangre se realizó por punción venosa, aproximadamente 10 mL en tubo seco y 5 ml en tubo con anticoagulante (EDTA). Las muestras se centrifugaron por 10 minutos a 1600 xg. se hizo la separación del sobrenadante suero o plasma y la fracción enriquecida en linfocitos de sangre periférica (PBLs). Las fracciones se almacenaron a -70°C , en alícuotas de 500 μL para su posterior uso.

3.4 Análisis bioquímicos

Las pruebas bioquímicas se determinaron utilizando la metodología enzimática-colorimétrico con detección espectrofotométrica a 505 nm siguiendo el protocolo y uso de kits de la marca SPINREACT. Se determinó cuantitativamente en mg/dL la glucosa (pre y poscarga según correspondía), triglicéridos (TG), colesterol total (CT), colesterol HDL

(cHDL). Los valores de colesterol LDL (cLDL) se determinaron mediante la fórmula de Friedewald que indica que esta lipoproteína es igual al resultado proveniente de sumar el c-HDL con el c-VLDL y ese valor restarlo del CT, $[c\text{-LDL} = \text{CT} - (\text{c-HDL} + \text{c-VLDL})]$. [90], el cálculo de colesterol VLDL (cVLDL) se realizó dividiendo el valor de TG entre 5.

3.5 Extracción de ADN de las muestras sanguíneas

La fracción celular de glóbulos blancos se sometió a extracción de ADN, mediante el kit Purelink Genomic (Invitrogen de Thermo Fisher Scientific, Inc Alemania). En la optimización del proceso de extracción para aumentar la concentración y calidad del DNA, se hicieron algunas modificaciones al protocolo recomendado por el fabricante. En un tubo estéril de 2,0 mL se adicionaron por cada 600 μL de la fracción de sangre enriquecida en los glóbulos blancos, 1200 μL buffer de lisis (160 mM NH_4Cl – 20 mM NaHCO_3), se homogenizó por inversión y se realizó un pulso de centrifuga. Se descartó el sobrenadante y al pellet se le adicionó 20 μL de proteinasa K (20 mg/mL), además de 20 μL de RNasa (20 mg/mL) y se homogenizó con vortex suave; el lisado se incubó a temperatura ambiente por 2 minutos. Se adicionó 20 μL de SDS y 100 μL de CTAB 2%, se homogenizó e incubó a 55°C por 12 minutos. Se adicionó 250 μL de buffer de unión que contenía cloruro de guanidinio ($\text{CH}_5\text{N}_3\cdot\text{HCl}$ saturado - 10 mM Tris-HCl pH 8,0 - 500mM EDTA), se homogenizó e incubó por 5 minutos. Por cada 300 μL de la muestra anterior, se adicionaron 100 μL de acetato de amonio 10M y 400 μL de isopropanol; se homogenizó con vortex suave, y el sobrenadante traslucido se transfirió a la columna de sílica, ensamblada a un tubo de recolección. Se centrifugó a 9000 xg por un minuto a temperatura ambiente, se descartó el filtrado. La columna de sílica-ADN fue lavada dos veces por centrifugación con 400 μL del buffer de lavado (3 M $\text{CH}_5\text{N}_3\cdot\text{HCl}$ en etanol 70%).

Se lavó dos veces más con 500 μL de etanol 70%, y el último lavado se centrifugó a 10000 xg por 3 minutos a temperatura ambiente, para garantizar la eliminación del etanol. Para la elución del ADN, la columna se ensambló a un tubo de microcentrífuga estéril de 1,5 mL y se adicionó 100 μL de buffer de elución (10mM Tris - 1mM EDTA pH 8), se incubó a temperatura ambiente por cinco minutos y se centrifugó la columna a 10000 xg por 1 minuto. Se evaluó la concentración y pureza del ADN teniendo en cuenta la relación de absorbancia 260/280nm y 260/230nm, mediante espectrofotometría UV-Vis (Nanodrop

OneC Thermo Fisher Scientific) y espectroscopia de fluorescencia (Qubit y kit 1X dsDNA High Sensitivity - Thermo Fisher Scientific). El ADN se almacenó a -20°C hasta su uso.

3.6 Amplificación de SNPs mediante qPCR de alto rendimiento

Se realizó el análisis de SNPs asociados a obesidad y DM2 al ADN extraído de linfocitos de sangre periférica (PBLs) de 111 voluntarios. En la selección se tuvo en cuenta aquellos que cumplieron los criterios de inclusión y completaron todo el protocolo de reclutamiento, especialmente con antecedentes familiares de DM2, FINDRISC mayor a 12, sobrepeso y obesidad.

El perfil genotípico de cada ADN proveniente de los PBLs de los voluntarios se realizó mediante PCR cuantitativa de alto rendimiento. Para el análisis de las variantes génicas asociadas a riesgo de obesidad se utilizó la tecnología TaqMan® OpenArray® (Applied Biosystems™, Thermo Fisher Scientific). Con los fluoróforos VIC (alelo 1) y FAM (alelo 2) se marcaron las sondas TaqMan® diseñadas para cada uno de los SNPs. Estos fueron precargados en placas de Openarray® por la empresa ThermoFisher Scientific. Las placas de Openarray® están compuestas por 3072 pozos divididos en 48 *subarreglos* de 64 pozos cada uno. Se cargaron en el Openarray 111 muestras de ADN, este proceso está robotizado dado lo complejo del sistema e ínfimo de los volúmenes aplicados (nL).

Cada muestra fue sometida al análisis de 58 SNPs (Tabla 1.6). Las reacciones de PCR se realizaron según el protocolo TaqMan® OpenArray® del fabricante (figura 3.1). De forma resumida, en la placa de PCR de 384 pozos, se adicionaron volúmenes iguales (2,5 µL) de la muestra de ADN y el buffer de TaqMan® OpenArray® Genotyping PCR Master Mix (Applied Biosystems™, Thermo Fisher Scientific). Cada mezcla de reacción de PCR fue cargada automáticamente en las placas OpenArray®, utilizando el sistema OpenArray® AccuFill™ (Applied Biosystems™, Thermo Fisher Scientific). Ese proceso garantiza 33 nL en cada uno de los 3072 pozos de la placa de OpenArray®. La placa fue sellada e inmersa en aceite para evitar la evaporación de las muestras; ésta se ensambló en el equipo de qPCR QuantStudio 12K Flex para el proceso de amplificación con el siguiente protocolo (i) ciclo Pre-PCR de 10 min a 93°C (ii) 50 ciclos con la siguiente programación 95 °C por 45 s, 94°C por 13 s y 53,5°C por 120 s.

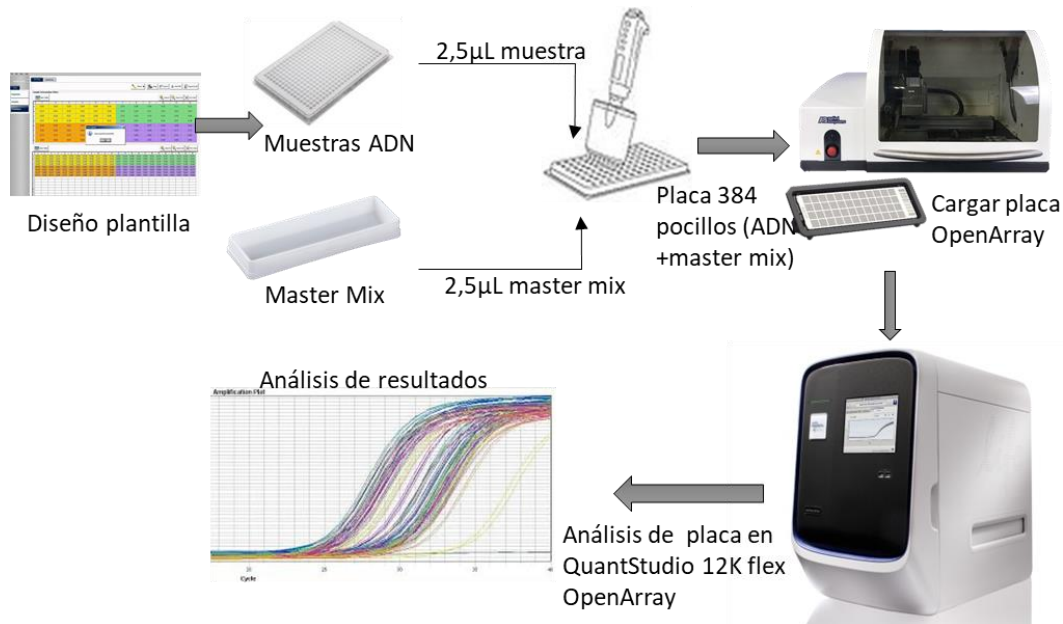


Figura 3.1 Metodología general para el análisis de SNP mediante Openarray

Finalizada la reacción de qPCR, los datos del ensayo *OpenArray*[®] fueron procesados en el software *Cloud online* (*Thermo Fisher Scientific*). El software asigna automáticamente los alelos según los valores de fluorescencia generados por cada sonda Taqman[™]. Los resultados se muestran en forma de gráfico de discriminación donde cada punto corresponde con una muestra. Las muestras homocigotas emiten fluorescencia de una única sonda y son visualizadas sobre los ejes X o Y según corresponda. Para las muestras de individuos heterocigotos la fluorescencia proviene de dos sondas (una por cada alelo) que es visualizado en medio de las coordenadas. En general, el software asignó automáticamente los SNPs, sin embargo, existieron algunos que debieron ser asignados manualmente, de acuerdo con la característica del gráfico de discriminación alélica. El software permite exportar los resultados a la hoja de cálculo de Microsoft Excel (Microsoft Office, WA, USA). Con estos datos se inició el cálculo de los parámetros para determinar el riesgo genético; entre ellos la frecuencia alélica, la frecuencia genotípica, la relación de probabilidades (OR), la puntuación de riesgo genético y por último el porcentaje global del riesgo genético para el desarrollo de obesidad y diabetes.

Para el análisis de las variantes génicas asociadas a riesgo de DM2 las muestras de ADN fueron diluidas a la mitad de su concentración y enviadas a la empresa “Patia diabetes”. Ellos desarrollaron el Test Genético “Diabetes Prevent”, siendo la primera prueba patentada para detectar el riesgo genético a padecer DM2 [91]. Como parte del convenio con el LHICA, la empresa Patia presta el servicio de procesamiento y análisis de los SNPs asociados a DM2. El Test Diabetes Prevent contiene la matriz para el análisis de 16 variantes génicas (SLC16A11, INS-IGF2, HNF1A, WFS1, SLC30A8, PPARG, IGF2BP2, CDKAL1, ADCY5, JAZF1, HHEX/IDE, KCNJ11, KCNQ1, TCF7L2, FTO, CDKN2A/B)

3.7 Análisis Estadístico.

Los datos básicos y los resultados de las pruebas bioquímicas obtenidos de las muestras de suero de los voluntarios fueron analizados estadísticamente en el Software STATGRAPHICS Centurión XVI. La distribución se determinó variable a variable, el IMC y su discriminación en normopeso (NP), sobrepeso (SP) y obesidad (OB) fue la variable con la que se contrastaron las demás. Se aplicó la prueba de Kolmogórov-Smirnov para determinar la normalidad de los datos. Se calculó el valor de p mediante el test de análisis de varianza ANOVA para variables con distribución normal, y el test de Kruskal Wallis para las variables con una distribución no normal. El cálculo de p permitió determinar las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Se asignó el rango para $p \leq 0.05$ en un intervalo de confianza \geq del 95% [92]. Se usó el programa Graphpad Prism 9 (Graphpad, Estados Unidos) para el análisis de variantes génicas de riesgo a diabetes y obesidad.

Para cada uno de los grupos estudiados, la frecuencia alélica de cada SNP se calculó dividiendo el número de uno de los dos tipos de alelos entre el número total de alelos de la muestra. Para calcular la frecuencia de cada genotipo en cada SNP, se dividió el número de genotipos de cada tipo entre el número total de genotipos para ese SNP. Se utilizó la prueba estadística de X^2 de Pearson para analizar el equilibrio de *Hardy-Weinberg*.

Para determinar la asociación entre los alelos de riesgo y la población estudiada, (normopeso, sobrepeso y obesidad), se realizó una prueba χ^2 para determinar los Odds Ratio (O.R.). Se utilizó el test de Fisher para calcular el valor p , y también para determinar

la influencia de los genotipos en el desarrollo de obesidad. Un valor de O.R mayor a 1 indica una relación positiva entre el alelo de riesgo y el desarrollo de obesidad. Cuando el valor de O.R. es menor de 1, no hay relación entre el alelo de riesgo y la obesidad.

La puntuación de riesgo genético (PRG) resulta de la sumatoria de la relación de cada OR con su SNP multiplicado por el número de eventos y dividido en la sumatoria de los OR positivos para el riesgo [67].

$$PRG = (OR1 \times SNP1 + OR2 \times SNP2 + \dots + ORn \times SNPn) \times \left(\frac{n}{\sum ORs}\right) \quad (\text{Ecuación 1})$$

Para el cálculo final del PRG se asignó un código numérico a cada uno de los genotipos. A los individuos que no presentaron alelo de riesgo se les asignó el código 1. Quienes tuvieron un alelo de riesgo se codificaron con el número 2, y para aquellos individuos que portaron los dos alelos de riesgo se les asignó el código 3. Con el fin de asociar las variantes génicas de riesgo a obesidad con el IMC, se calculó un PRG con los SNPs que presentaron un O.R. mayor a 1, para cada grupo de discriminación normopeso (NP), sobrepeso (SP) y obesidad (OB).

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de un factor, para determinar las diferencias significativas de PRG entre los diferentes grupos de estudio. La valoración de la sensibilidad y la especificidad de la fórmula PRG para cada grupo fue analizada mediante la curva ROC.

4. Resultados y discusión

4.1 Características de población

Los voluntarios atendidos en las jornadas de salud fueron 620, se excluyó el 14% de los participantes (n=85) por padecer o consumir medicación para enfermedades agudas o crónicas, además de aquellos que no donaron muestra de sangre o fue insuficiente para completar los análisis bioquímicos. Los voluntarios que cumplieron el protocolo básico de reclutamiento para el análisis metabólico fueron 535 (86%); de éstos 348 (65%) correspondieron a mujeres y 187 (35%) fueron hombres. Las características generales de la población son descritas en la tabla 4.1, los análisis bioquímicos en la tabla 4.2 y FINDRISC e índices aterogénicos en la tabla 4.3.

Tabla 4.1 Medidas de la valoración clínica

Variable	Normopeso (IMC 18,0-24,9 kg/m ²) n=158 (30%)	Sobrepeso (IMC 25,0-29,9 kg/m ²) n=238 (44%)	Obesidad (IMC > 30,0 kg/m ²) n=139 (26%)	Valor p*
Masa corporal (kg)	58,6 ± 7,5 57,5 (45,0 - 83,5)	70,4 ± 8,3 69,3 (52,6 - 97,4)	81,8 ± 12,9 78,6 (60,7 - 137,6)	< 0,0001
Talla (m)	1,60 ± 0,09 1,59 (1,42 - 1,85)	1,60 ± 0,09 1,60 (1,40 - 1,83)	1,56 ± 0,09 1,55 (1,40 - 1,88)	< 0,0001
IMC (Kg)/m ²	22,6 ± 1,6 22,8 (18,5 - 24,9)	27,3 ± 1,3 27,4 (25,0 - 29,9)	33,1 ± 3,6 31,8 (30,0 - 49,6)	< 0,0001
Edad (años)	55 ± 8 55 (40 - 70)	55 ± 8 56 (40 - 70)	55 ± 8 55 (40 - 70)	0,6548
Tensión arterial sistólica (TAS) - VR (120 mmHg)	114 ± 12 112 (92 - 160)	120 ± 10 120 (70 - 160)	125 ± 15 124 (80 - 200)	2,7x10 ⁻¹²
Tensión arterial diastólica (TAD) - VR (80 mmHg)	75 ± 9 73 (56 - 100)	78 ± 12 78 (58 - 100)	79 ± 9 79 (58 - 120)	< 0,0001
Perímetro de cintura (PC) (cm)	82 ± 7 82 (66 - 96)	93 ± 7 94 (71 - 110)	104 ± 10 104 (77 - 144)	< 0,0001
Grasa total (%)	29,2 ± 8,3 31,3 (8,4 - 63,0)	36,2 ± 8,3 38,6 (19,0 - 46,7)	43,7 ± 7,0 45,6 (25,6 - 59,7)	< 0,0001
Grasa visceral (%)	6 ± 2 6 (2 - 10)	10 ± 2 10 (6 - 17)	13 ± 4 12 (8 - 30)	< 0,0001
Músculo (%)	29,5 ± 5,3 27,4(20,3 - 42,0)	27,7 ± 4,8 26,5 (19,7 - 39,6)	24,7 ± 4,1 23,8 (15,2 - 33,6)	< 0,0001

El cálculo de p* se realizó por Kruskal-Wallis (función no paramétrica) y ANOVA (función paramétrica) Valores de p ≤ 0.05 tienen significancia estadística. Para las celdas que representan las variables la primera línea corresponde al promedio ± la desviación estándar y la segunda línea (en cursiva) reporta la mediana (valor mínimo - valor máximo). VR significa valor de referencia [93][94]

Las medidas de masa corporal según el género muestran que las mujeres tuvieron en promedio $66,4 \pm 11,7$ Kg y los hombres $75,8 \pm 13,2$ Kg. Para esta variable la asociación de los datos entre cada grupo (NP, SP y OB) tiene significancia estadística con $p < 0,0001$, en consecuencia, a mayor masa corporal pasa de normopeso a sobrepeso y hasta obesidad. Los valores promedio para la talla de mujeres fue $1,54 \pm 0,07$ m, clasificada como estatura media baja, en los hombres $1,67 \pm 0,07$ m catalogada como baja. El IMC es la relación entre la masa y la talla al cuadrado, y tiene relevancia por su asociación con patologías metabólicas como la obesidad y diabetes [95][95][96]. En la población de estudio se determinó que mujeres y hombres presentaron $27,7 \pm 4,0$ Kg/m² de IMC en promedio, con valor mínimo de 18,5 Kg/m² y máximo de 49,6 Kg/m². No se registraron participantes con algún grado de desnutrición, representado por $IMC < 18,5$ Kg/m². En normopeso (NP) se detectó el 30% de los voluntarios (n=158), en sobrepeso (SP) el 44% (n=238); la condición de obesidad (OB) fue valorada en 139 voluntarios (26%), de éstos ocho padecían obesidad grado III o mórbida. En conclusión, el 70% de la población presentó alteración a nivel de este indicador antropométrico, hacia un exceso de masa corporal y o baja talla, valor mayor al reportado por la encuesta nutricional ENSIN (2015). En ese estudio el 56,5% de la población colombiana entre 18 a 65 años presentó sobrepeso u obesidad; ese valor comparado con el reportado en la encuesta del 2010 reveló un aumento en la prevalencia del 5,2% [5][97].

El rango de edad para la población reclutada fue entre 40 y 70 años, el promedio y la mediana fue de 55 años en los tres grupos (NP, SP y OB), dado que aquellos voluntarios cercanos a los 70 años fueron de los más excluidos por la presencia de patologías o consumo de medicamentos. La medida exploratoria de tensión arterial sistólica (TAS) y diastólica (TAD) se encontró dentro de los valores de referencia fisiológicos, sin embargo, hay diferencias estadísticamente significativas entre los grupos discriminados por IMC, se observa que la tensión arterial va en aumento de normopeso a sobrepeso y de éste a obesidad. Los reportes indican que el 60% de la hipertensión arterial (HTA) es atribuible a un exceso de masa corporal; la obesidad contribuye a la HTA por varios mecanismos, entre ellos, la resistencia a la insulina (RI) y el gasto cardíaco [98][99].

El perímetro de cintura (PC) es un indicador de obesidad abdominal, que está directamente relacionado con RI y el síndrome metabólico [97][100]. De acuerdo con reportes en

población colombiana, los valores de PC que mejor discriminaron la presencia de RI fueron en mujeres ≥ 89 cm y hombres ≥ 91 cm [23][100][101]. Los resultados en la población de estudio mostraron diferencias estadísticamente significativas para el PC entre los diferentes grupos de IMC, especialmente el grupo de obesidad que superó el valor de referencia con un promedio 104 ± 10 cm, según la literatura ese rango estaría prediciendo RI en esos voluntarios [102][103]. El análisis por género mostró que el 58% de la población femenina ($n=201$) presentó valores mayores a 89 cm, de éstas el 27% ($n=93$) estaban en condición de obesidad, el 28% ($n=99$) en sobrepeso e incluso se detectó que el 3% de las mujeres en normopeso ($n=9$) tenían alteración del PC. Se ha reportado que los accidentes cardiovasculares y la muerte súbita son más frecuentes en los hombres, especialmente en aquellos que están entre la quinta y la sexta década; altos valores de PC se han asociado con estos eventos cardiovasculares [104]. Los resultados mostraron que la población masculina presentó mayor alteración del PC que las mujeres, en ellos el 87% ($n=162$) registró PC ≥ 91 cm; incluso, en 44 hombres en NP se evidenció alteración del PC (24%), en SP el 43% ($n= 81$) y el 20% en OB ($n=37$) (figura 4.1).

Como medidas de composición corporal se reporta la grasa total (GT), la grasa visceral (GV) y el músculo. Para las dos primeras variables, GT y GV, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tres grupos de discriminación (NP, SP y OB) y se asocian en una relación directamente proporcional con el PC, la masa corporal y el IMC. Los resultados son compatibles con lo reportado en la literatura, la grasa total en las mujeres ($40,8 \pm 6,8$ %) es mayor que la valorada en los hombres ($27,2 \pm 7,8$ %) [105]. El rango fisiológico de GT en mujeres es 23,0 - 33,9%, se cataloga elevado entre 34,0 – 39,9% y muy elevado $\geq 40,0\%$, siendo esta última condición la que representa el promedio de las voluntarias del estudio (Tabla 4.1). En los hombres se reporta como rango fisiológico de 11,0 a 21,9% de GT, se cataloga elevado entre 22,0 - 27,9% y muy elevado $\geq 28,0\%$; Los hombres que participaron en el estudio presentaron en promedio GT 27,2% que se categoriza como elevado [106]. Entre los grupos (NP, SP y OB), la grasa corporal aumenta a medida que lo hace el IMC con significancia estadística de $p < 0,0001$ (Tabla 4.1), acorde con lo reportado por la literatura [107].

En general, para la grasa visceral (GV), que tiene un valor referencia de 9%, los voluntarios en condición de obesidad superaron ese límite. Para aquellos en condición de sobrepeso el valor de GV fue de $10\% \pm 2\%$, y en normopeso de $6\% \pm 2\%$, los datos registraron

individuos que aun en NP superaron el valor de referencia. En promedio el valor de las mujeres fue de 12 ± 5 y para los hombres de 11 ± 5 , valor compatible con lo reportado de perímetro de cintura alterado, en ellos. La grasa visceral es un importante predictor de riesgo cardiovascular y de DM2 [108]; estudios en población colombiana en 413 voluntarios, mostraron prevalencia de elevada grasa visceral con factores de riesgo asociado a enfermedad cardiovascular [109]. Otros reportes indican que los individuos que superan el valor de referencia de GV son más propensos a sufrir insulinoresistencia, aterosclerosis, procesos protrombóticos, e inflamatorios [100][108].

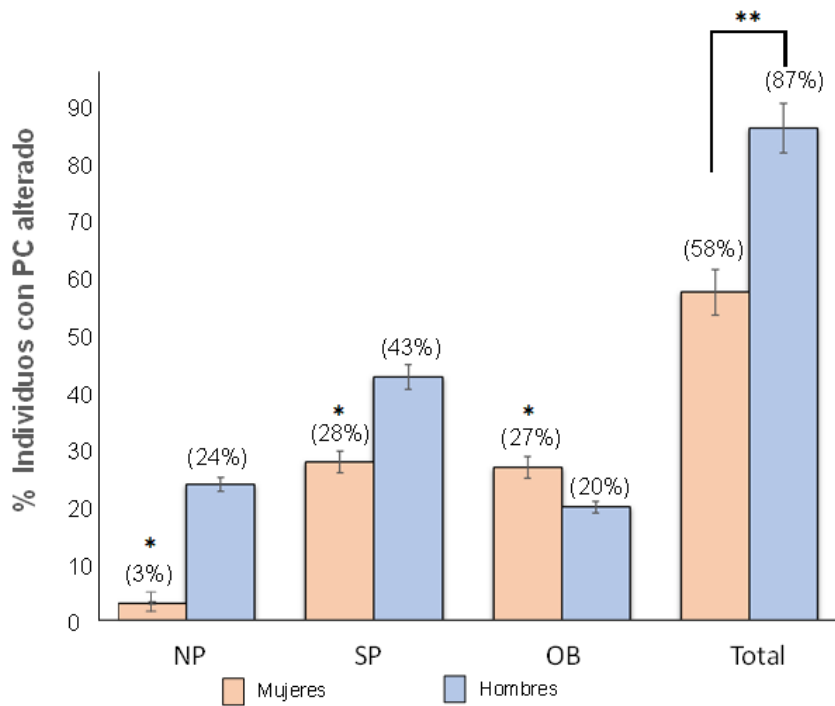


Figura 4.1 Relación entre el perímetro de cintura alterado y el IMC. Perímetro de cintura mayor a la referencia, mujeres >89 cm y hombres >91 cm. Normopeso (NP), sobrepeso (SP) y obesidad (OB). *Comparación entre mujeres NP, SP y OB valor $p < 0,005$; entre hombres valor $p < 0,005$; **comparación del total valor $p 0,0006$.

Los resultados muestran que el perímetro de cintura, la grasa total y la grasa visceral tienen una relación inversamente proporcional con el porcentaje de músculo ($p < 0,0001$), datos mostrados en la Tabla 4.1. En las mujeres se determinó que el porcentaje de músculo en promedio fue $24,8 \% \pm 3,8 \%$, justo al límite del valor de referencia recomendado ($>24,1\%$). Para los hombres el promedio de músculo fue $32,6 \% \pm 4,0 \%$, que comparado con el valor

referencia de < 33,1 se clasifica como bajo [106]. Se sabe que a medida que aumenta el IMC y la GT hay pérdida de masa muscular, proceso conocido como sarcopenia [110][111].

4.2 Análisis bioquímicos

Los análisis bioquímicos de la población en estudio incluyeron una glucometría en ayunas como prueba exploratoria de la glucosa capilar; la glucosa preprandial y el perfil lipídico (triglicéridos, colesterol total y en las diferentes lipoproteínas). Los resultados muestran que la concentración de glucosa preprandial en sangre, en promedio, estuvo dentro del valor de referencia (<100 mg/dL) [112]. Sin embargo, hay diferencias significativas entre los tres grupos (NP, SP y OB) con un valor *p* de 0,007. Cuando se observa el rango total de concentraciones que incluye el valor máximo detectado de glucosa, se determinó que el 23 % de los voluntarios (n=125) presentaron alteración de esta prueba (figura 4.2). En las jornadas de salud se detectó que el 21% de los voluntarios (n=113) estaban en condición de prediabetes, ésta fue corroborada mediante la prueba PTOG; además se registraron 12 voluntarios (2%) con DM2 no diagnosticada previamente. Las jornadas de salud permitieron hacer un pesquisaje de riesgo hacia DM2 que llevó a la detección de morbilidad oculta en el 23% de los voluntarios; quienes no conocían de su condición de enfermedad y fueron alertados a asistir a su EPS con carácter prioritario.

Junto con la glucosa, los triglicéridos (TG) son fuente de reserva energética del cuerpo que pueden acumularse casi sin límite en el tejido adiposo [113]. En el estudio los resultados mostraron que en los estados de alteración del IMC, los TG superaron el valor de referencia ideal (<150 mg/dL). La tabla 4.2 reporta que en sobrepeso el valor promedio de TG fue de 155 ± 77 mg/dL y en obesidad de 178 ± 73 mg/dL, con diferencias estadísticamente significativas ($p=5,9 \times 10^{-12}$). Los resultados de TG en toda la población (Tabla 4.3), mostraron que el 56,6% están en un nivel óptimo (n=303), el 21,5% con límite alto (n=115), el 21,7% con niveles elevados (n=116) a quienes se les aconsejó cambios en el estilo de vida (dieta y actividad física). Solo un voluntario presentó niveles muy elevados de TG (576 mg/dL), en condición de hipertrigliceridemia, a quien se le alertó de consultar a la EPS debido al riesgo cardiovascular, de aterosclerosis, pancreatitis y pérdida de la movilidad articular [113][114]. Reportes sugieren que el aumento de triglicéridos en el torrente sanguíneo es consecuencia de cambios en la producción y activación del complejo proteico de la lipoproteína lipasa (LPL) y sus receptores hepáticos por la RI [115].

Tabla 4.2 Resultados de las pruebas bioquímicas.

Variable	Normopeso (IMC 18,0-24,9 kg/m ²) n=158 (30%)	Sobrepeso (IMC 25,0-29,9 kg/m ²) n=238 (44%)	Obesidad (IMC > 30,0 kg/m ²) n=139 (26%)	Valor p*
Glucometría en ayunas (mg/dL)	91 ± 18 88 (70 - 267)	95 ± 16 93 (69 - 232)	98 ± 15 96 (69 - 206)	3,6x10 ⁻¹⁰
Glucosa preprandial (VR (70-99mg/dL)	89 ± 23 86 (51 - 297)	93 ± 23 90 (54 - 254)	92 ± 21 91 (57 - 200)	0,007
Triglicéridos(mg/dL) VR (<150 mg/dL)	124 ± 62 112 (44 - 450)	155 ± 77 141 (50 - 576)	178 ± 73 170 (65 - 354)	5,9x10 ⁻¹²
Colesterol Total (mg/dl) VR (<200 mg/dL)	213 ± 64 200 (92,3 - 381,3)	216 ± 59 206 (92 - 400)	219 ± 65 206 (108 - 506)	0,701
Colesterol HDL (mg/dl) VR (35-65 mg/dL)	47 ± 13 46 (20 - 88)	44 ± 14 43 (16 - 90)	41 ± 12 41 (18 - 81)	<0,0001
Colesterol LDL (mg/dl) VR (<150 mg/dL)	142 ± 61 133 (36 - 296)	141 ± 60 139 (30 - 334)	141 ± 63 134 (28 - 374)	0,955
Colesterol VLDL (mg/dl) VR (<30 mg/dL)	25 ± 13 22 (9 - 90)	31 ± 15 28 (10 - 115)	36 ± 15 34 (13 - 71)	9,9x10 ⁻¹²

El cálculo de p^* se realizó por Kruskal-Wallis (función no paramétrica) y ANOVA (función paramétrica). Valores de $p \leq 0.05$ tienen significancia estadística. Para las celdas que representan las variables la primera línea corresponde al promedio \pm la desviación estándar y la segunda línea (en cursiva) reporta la mediana (valor mínimo - valor máximo). VR significa valor de referencia [116][112].

La molécula de colesterol y sus derivados son importantes para formar membranas celulares, en la digestión, conversión de vitamina D, síntesis de hormonas, entre otras funciones [117]. En el torrente sanguíneo el colesterol se encuentra asociado a las lipoproteínas de baja densidad (cLDL) de tipo aterogénico, y en las de alta densidad de calidad protectora (cHDL) y en las VLDL ricas en triglicéridos [118]. En los tres grupos de discriminación de IMC (NP, SP y OB) no se encontró relación estadística con el colesterol total y el LDL (Tabla 4.1), sin embargo, el valor promedio de colesterol total en los tres grupos superó el límite máximo catalogado como óptimo (<200 mg/dL) [112]. Un comportamiento similar se observa para el cLDL, solo el 27% de los voluntarios (n=146) presentaron el rango ideal (<100 mg/dL) (figura 4.3), en consecuencia el 73% de la población puede considerarse con algún porcentaje de riesgo cardiovascular [119].

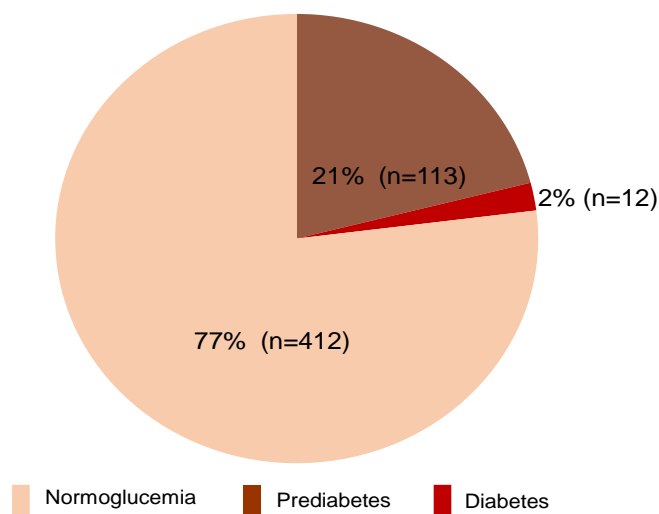


Figura 4.2 Comportamiento glucémico preprandial de los voluntarios. Analizado en suero mediante ensayo colorimétrico-enzimático glucosa oxidasa.

El colesterol HDL (cHDL) es considerado un factor antiaterogénico, con capacidad antioxidante y protector cardiovascular [113]. Los resultados indican que existe una relación inversa entre el IMC y el cHDL con significancia estadística ($p < 0,0001$); se determinó que de normopeso (47 ± 13 mg/dL) a sobrepeso (44 ± 14 mg/dL) disminuyó el valor y de éste a obesidad (41 ± 12 mg/dL). El cHDL debe ser analizado dependiendo del género, ya que se ha reportado que las mujeres, deben tener niveles más altos dado que el límite mínimo para mujeres es de 50 mg/dL [120]; el valor referencia mínimo en hombres es de 40 mg/dL.

Tabla 4.3 Relación de triglicéridos en los voluntarios y su clasificación

Clasificación nivel de TG	Valores referencia (mg/dL)	Número de voluntarios n=535	%
Óptimo	<150	303	56,6
Limite alto	150-199	115	21,5
Elevado	200-499	116	21,7
Muy elevado	> 500	1	0,2

Clasificación de los voluntarios junto con el porcentaje, según los valores de referencia establecidos de triglicéridos [112].

Los resultados indican que solo el 33% de las voluntarias (n=116) presentaron el rango óptimo de cHDL, mientras que el 67% de ellas (n=232) debe iniciar actividad física en un

intento de alcanzar ese límite mínimo de 50mg/dL. El reporte para los hombres indica que el 54% de ellos (n=101) deben incluir la actividad física y/o evitar el sedentarismo para alcanzar la meta de 40mg/dL, con ello disminuir el riesgo aterogénico y eventos cardiovasculares [121]. Estos resultados son coherentes con la condición de sobrepeso y obesidad que presentó el 70% de población en estudio. Se sabe que en la RI hay hiperinsulinemia, que genera un estímulo de las VLDL y aumenta la liberación de ácidos grasos libres (estimulo proinflamatorio), que se dirigen al hígado para la síntesis de TG, disminuyendo el cHDL, que lleva al aumento de lipoproteínas de baja densidad (cLDL) de fenotipo pequeñas y densas. También se genera acumulación de lípidos en el músculo esquelético [118][12].

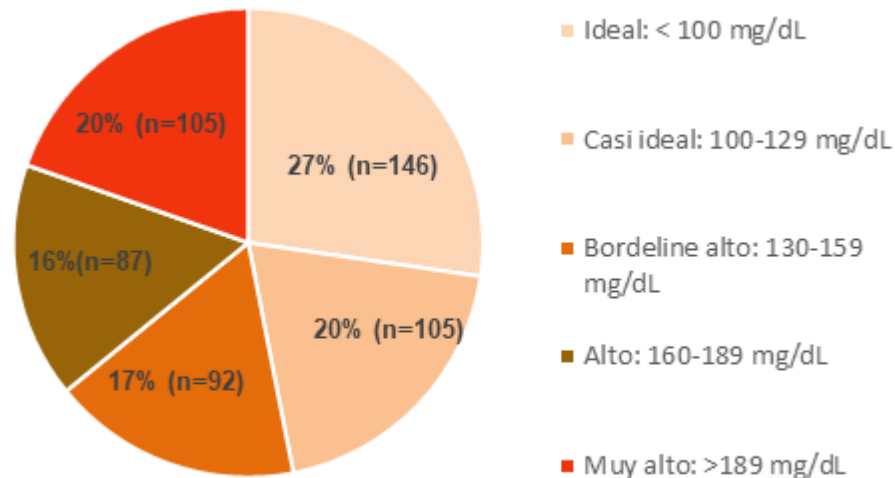


Figura 4.3 Discriminación de colesterol LDL en la población de estudio. Clasificación según las metas reportadas en la guía del Ministerio de Salud para el manejo de dislipidemias [112].

4.3 Factores de riesgo según índices aterogénicos y FINDRISC

Los índices aterogénicos dan información sobre factores de riesgo metabólico y cardiovascular, están relacionados directamente con el perfil lipídico y los parámetros antropométricos [122]. Es una medida asociada a la distribución relativa de la grasa y un indicador de obesidad central, por ello se cataloga como marcador predictivo de riesgo temprano en la salud [107].

El índice de mayor asociación a riesgo cardiovascular y metabólico, independiente de la etnia, es la relación antropométrica entre cintura (cm)/altura (cm), con valor de referencia óptimo hasta 0,5 [123]. Los resultados mostraron que el 82% de la población (n= 439) tiene un valor mayor a 0,5 en este índice y se correlaciona directamente con el IMC de forma estadísticamente significativa (valor $p < 0,0001$) (figura 4.4). El índice antropométrico cintura/altura se mide de forma independiente de la composición corporal y las pruebas bioquímicas, sin embargo, los resultados se correlacionan dado el significativo porcentaje de grasa total, colesterol total y cLDL por fuera del rango óptimo analizado en la población. Los datos indican que incluso en el grupo de normopeso, hay valores alterados del índice cintura/altura, que ha sido descrito como un marcador revelador de resistencia a la insulina y dislipidemia con sujetos de IMC normal de apariencia “saludable” [124].

Tabla 4.4 Índices aterogénicos y FINDRISC

Variable	Normopeso (IMC 18,0-24,9 kg/m ²) n=158 (30%)	Sobrepeso (IMC 25,0-29,9 kg/m ²) n=238 (44%)	Obesidad (IMC > 30,0 kg/m ²) n=139 (26%)	Valor p*
Índice Cintura(cm)/ Altura (cm) VR (0,5)	0,50 ± 0,04 <i>0,51 (0,40 - 0,63)</i>	0,58 ± 0,04 <i>0,58 (0,47 - 0,70)</i>	0,67 ± 0,06 <i>0,66 (0,54 - 1,00)</i>	< 0,0001
Índice TG/HDL VR (3,5)	2,96 ± 1,96 <i>2,35 (0,78 - 10,44)</i>	4,05 ± 3,04 <i>3,25 (0,56 - 22,23)</i>	4,86 ± 2,97 <i>4,16 (0,93 - 17,71)</i>	2,7x10 ⁻¹¹
Índice CT/HDL VR (4,5)	4,87 ± 2,04 <i>4,48 (1,66 - 14,18)</i>	5,41 ± 2,51 <i>4,96 (1,71 - 17,75)</i>	5,73 ± 2,30 <i>5,33 (2,12 - 13,50)</i>	0,003
Índice LDL/HDL VR (2,5)	3,31 ± 1,80 <i>2,99 (0,47 - 12,68)</i>	3,62 ± 2,21 <i>3,26 (0,52 - 14,59)</i>	3,76 ± 1,98 <i>3,39 (0,56 - 11,38)</i>	0,1308
FINDRISC	8 ± 4 <i>8 (0 - 18)</i>	13 ± 4 <i>12 (3 - 23)</i>	16 ± 4 <i>16 (9 - 25)</i>	< 0,0001

La significancia estadística al 95% tiene validez hasta $p \leq 0,05$. Para las celdas que representan las variables la primera línea corresponde al promedio ± la desviación estándar y la segunda línea (en cursiva) reporta la mediana (valor mínimo - valor máximo). VR significa valor de referencia [121].

El índice TG/HDL se ha correlacionado con síndrome metabólico, resistencia a la insulina y prehipertensión [108]; en diferentes poblaciones se ha validado hasta 3,5 como valor de referencia [125]. El análisis en la población total indica que el índice esta alterado en el 57% (n=306) con alta dispersión en los datos. La tabla 4.4 muestra la relación entre el índice TG/HDL y el IMC, los resultados se correlacionan estadísticamente con un valor $p = 2,7 \times 10^{-11}$. Se observa que en el grupo de normopeso el valor promedio está dentro del rango óptimo, sin embargo, los grupos de sobrepeso y obesidad presentan este índice alterado.

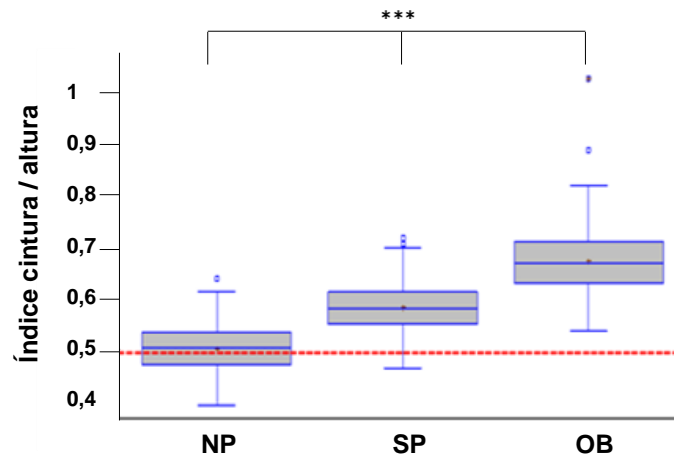


Figura 4.4 Relación entre el índice cintura/altura y el IMC. Discriminación en normopeso (NP), sobrepeso (SP) y Obesidad (OB). La línea punteada indica el límite del valor de referencia (0,5) Significancia estadística entre grupos ***valor $p < 0,0001$

En el índice CT/cHDL se consideran cifras de riesgo en la prevención primaria valores $>4,5$ [125]; un 60% de la población ($n=319$) presentó valores mayores al rango óptimo. Siendo un reflejo de los resultados descritos para el colesterol total (por fuera de la meta ideal) y alterados para cHDL. En conjunto las pruebas bioquímicas y los índices sugieren un alto riesgo cardiovascular en los voluntarios. La tabla 4.4 muestra la relación de este índice con el IMC, se detectó alteración en los tres grupos con una relación estadística de valor $p=0,003$. Hay menos dispersión de los datos en comparación con los anteriores índices.

Se sabe que el índice cLDL/cHDL es la radiografía que evidencia el riesgo cardiovascular inminente, dada la capacidad aterogénica de las cLDL y en aumento de éstas, la pérdida de la calidad antioxidante y antiaterogénica de las cHDL [121]. Se reporta un valor de referencia $< 2,5$ para este índice [125]; cuando se analizó para la población en estudio se evidenció que el 65% ($n=346$) superó el valor referencia, no se encontraron diferencias significativas entre género o cuando los valores se discriminaron de acuerdo al IMC, aunque el valor promedio en todos grupos fue mayor a 2,5 (tabla 4.4). Al igual que lo descrito para los anteriores índices, el cLDL/cHDL confirma el riesgo cardiovascular de la población analizada incluso en voluntarios normopeso catalogados aparentemente como “saludables”. Estudios demuestran que a mayor concentración de colesterol total, triglicéridos y cLDL, se da una correlación directa con estos índices aterogénicos, hacia

valores predictivos de riesgo cardiovascular, en comparación del análisis de cada variable del perfil lipídico de forma independiente [125][126].

La escala FINDRISC es una herramienta no invasiva, que permite identificar pacientes con riesgo a desarrollar DM2 en un lapso de 10 años; este cuestionario es uno de las más usados a nivel mundial, y le asigna un puntaje a los diferentes factores de riesgo predictores a DM2 [127]. El FINDRISC se aplicó a toda la población que participó en las jornadas de salud, se determinó que el 57% de los voluntarios (n=303) presentó puntaje total ≥ 12 , con riesgo moderado y alto, que implica iniciar control metabólico según la guía de práctica clínica [23]. El FINDRISC se relacionó de forma directamente proporcional con el IMC con significancia estadística ($p < 0,0001$) (Tabla 4.4). El puntaje promedio en normopeso fue de 8 ± 4 puntos para un riesgo bajo (4%); en condición de sobrepeso ($25 \text{ kg/m}^2 - 29,9 \text{ kg/m}^2$) el promedio del puntaje fue 13 ± 4 puntos con un riesgo moderado (17%). Cuando se aplicó el FINDRISC a los voluntarios obesos el puntaje osciló entre 9 y 25, con un promedio de 16 ± 4 puntos para un nivel de riesgo alto (33%).

En la clasificación según la escala de puntaje (figura 4.5), con menos de 7 puntos se encontró el 13% de los voluntarios (n=70), indicando un nivel de riesgo muy bajo (1%). Entre 7 a 11 puntos, con nivel de riesgo bajo (4%), se detectaron 162 voluntarios el 30% de la población. En riesgo moderado (17% a desarrollar DM2) con un rango de 12-14 puntos se valoraron 128 voluntarios, el 24% de la población. En el rango de 15 a 20 puntos (33% de riesgo alto a DM2) se encontró el 30% de los voluntarios (n=158); y >20 puntos (50%, nivel de riesgo muy alto) se detectó el 3% de la población (n=18). Los resultados confirman que la obesidad es un factor de riesgo para desarrollar DM2. Cada voluntario fue informado del nivel riesgo según FINDRISC y sus análisis bioquímicos; aquellos que presentaron alteración en las pruebas fueron alertados de asistir a consulta médica en su EPS.

El análisis en conjunto de los resultados de las pruebas bioquímicas, las medidas antropométricas, las de composición corporal y los índices aterogénicos muestran valores alterados compatibles con hiperglicemia en el 23% de la población, dislipidemias (54%), grasa total (78%), visceral (54%), IMC (70%), el perímetro de cintura (85%) y el cintura/altura (82). La alteración del metabolismo de los lípidos es el principal factor de riesgo cardiovascular que sigue siendo una de las causas prevalentes de muerte en Colombia [118]. Diferentes estudios han demostrado que el aumento en el perímetro de

cintura, la grasa visceral y el índice TG/HDL están fuertemente asociados con el desarrollo de obesidad y DM2 [122]. Los análisis de las pruebas de algunos voluntarios normopeso con aparente buen “estado de salud”, expresaron marcadores de riesgo metabólico; por lo que se concluye que la evaluación del riesgo no debe limitarse exclusivamente a las pruebas bioquímicas de forma aislada, si no que se debe hacer un análisis conjunto con la implementación de herramientas de fácil acceso y aplicación como el FINDRISC, los índices aterogénicos.

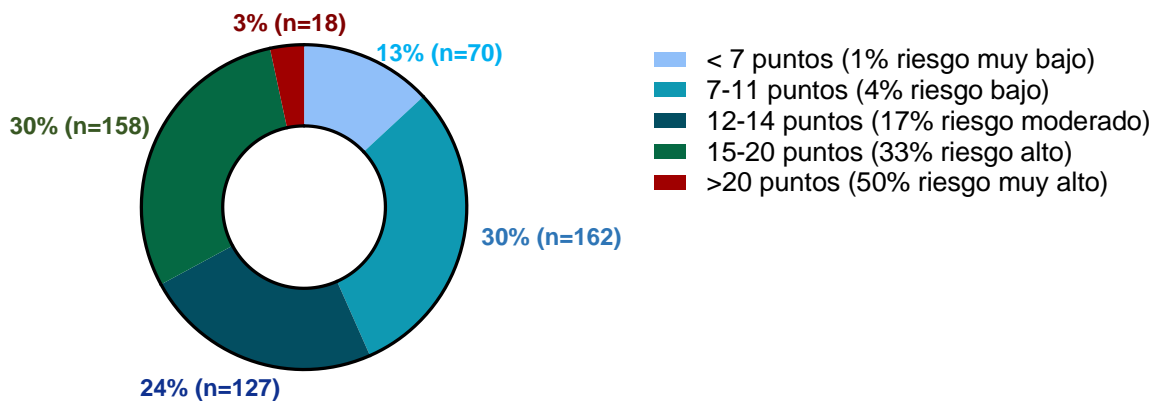


Figura 4.5 Clasificación del factor de riesgo según la escala FINDRISC. El número total de voluntarios es 535

4.4 Factores de riesgo genético a obesidad y DM2

De la población que cumplió los criterios de inclusión se seleccionaron 111 voluntarios, que especialmente tenían antecedentes familiares de DM2 y FINDRISC >12. A los PBLs de las muestras sanguíneas provenientes de los voluntarios se les hizo extracción de ADN, el cual fue sometido a secuencia de nucleótidos mediante qPCR de alto rendimiento. Esa metodología permitió elucidar polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) relacionados con obesidad y DM2; los genes y sus variantes asociados para cada patología fueron descritos en las tablas 1.5 y 1.6.

4.4.1 Distribución de los SNPs asociados a obesidad

En los SNPs se deben describir los dos alelos, el de riesgo y el de no riesgo, el genotipo puede ser homocigoto de riesgo (NN), heterocigoto de riesgo (Nn) u homocigoto de no riesgo (nn). El análisis de las secuencias de las variantes genéticas requiere un alto procesamiento de datos (anexo IV y V), que se realizan de forma manual. Teniendo en cuenta que para cada muestra debían examinarse 58 SNPs de los genes asociados a obesidad, además de discriminar el genotipo de los alelos, se decidió iniciar el procesamiento de datos y análisis para 42 de las muestras. Éstas fueron discriminadas de acuerdo con el IMC en NP, SP y OB; dentro de los subgrupos las muestras fueron escogidas al azar. De forma general las características de estos 42 voluntarios se muestran en la tabla 4.5, que son similares a las descritas anteriormente en los ítems 4.1 a 4.2.

Luego de la amplificación de las variantes mediante qPCR de alto rendimiento, los resultados fueron visualizados como texto en el software de Thermo Fisher Scientific (extensión csv). Los datos incluyen para cada muestra, los alelos que se presentan en cada uno de los SNPs de los genes analizados; manualmente se deben asignar los nucleótidos correspondientes a la característica de homocigoto o heterocigoto según lo indique el resultado. De esta forma se puede discriminar para cada SNP el número de voluntarios con el factor de riesgo homocigoto y/o heterocigoto o sin riesgo.

Con el procesamiento anterior, los datos se exportaron a una hoja de cálculo (Microsoft Excel) para determinar la frecuencia alélica de cada SNP en el conjunto de los voluntarios. Ese cálculo se hizo de forma independiente para cada subgrupo del IMC aplicando la siguiente relación:

$$frecuencia\ del\ alelo\ "N"\ en\ el\ SNP = \frac{\# \text{ sujetos con el alelo "N" en el subgrupo}}{2(\# \text{ sujetos analizados para el SNP})} \quad \text{Ecuación 3}$$

Donde “N” simboliza el alelo de riesgo que hace parte de un SNP determinado; se debe repetir el procedimiento para el otro alelo del gen (n). Se describe como “nn” la forma alélica de no riesgo. Por último, se calcula la frecuencia genotípica del SNP en términos de riesgo homocigoto y heterocigoto; y de forma independiente se repite el procedimiento para el alelo homocigoto de no riesgo, mediante la siguiente relación (anexo VII):

$$frecuencia\ genotipica\ del\ SNP = \frac{frecuencia\ (NN,\ Nn)}{2(\#\ total\ de\ la\ población)} \quad \text{Ecuación 4}$$

Tabla 4.5 Características generales de la población de análisis genético

Variable	Normopeso (IMC 18,0-24,9 kg/m ²) n=13 (33%)	Sobrepeso (IMC 25,0-29,9 kg/m ²) n=13 (33%)	Obesidad (IMC > 30,0 kg/m ²) n=13 (33%)
Masa corporal (kg)	59,1 (49,6 - 71,0)	68,1 (52,4 - 79,5)	80,9 (65,7 - 103,5)
FINDRISC	14 (7 - 19)	17 (13 - 20)	18 (15 - 21)
Perímetro de cintura (cm)	83,5 (75,0 - 90,5)	94,7 (84,0 - 103,0)	103,3 (94,0 - 115,5)
Grasa visceral (%)	7 (4 - 8)	10 (8 - 15)	13 (9 - 26)
Grasa total (%)	30 (19 - 37)	38 (29 - 46)	44 (30 - 52)
Músculo (%)	30 (25-39)	26 (22 - 33)	24 (20 - 31)
Glucosa preprandial (VR (70-99mg/dL))	99 (74 - 125)	97 (72 - 133)	100 (79 - 125)
Colesterol Total (mg/dl) VR (<200 mg/dL)	195 (129 - 381)	194 (131 - 261)	248 (143 - 406)
Triglicéridos(mg/dL) VR (<150 mg/dL)	110 (59 - 257)	135 (52 - 227)	153 (93 - 244)
colesterol HDL (mg/dl) VR (35-65 mg/dL)	48 (29 - 76)	50 (31 - 67)	49 (25 - 56)
colesterol LDL (mg/dl) VR (<150 mg/dL)	125 (61 - 281)	117 (46 - 208)	175 (107 - 335)

Los valores representan el promedio (valor mínimo y máximo); VR es el valor de referencia.

El análisis de resultados indica que de los 58 SNPs asociados a obesidad, un total de 24 variantes génicas presentaron frecuencias alélicas de riesgo mayor al 50%, descritas en la tabla 4.6. En ésta se detalla que los SNPs con los porcentajes de frecuencias alélicas >50%, además de encontrarse en la población SP y OB también se presentan en los NP. Entre los SNP de mayor frecuencia alélica en la población OB, se destaca el gen APOA5 con un 89%, este gen traduce para una apolipoproteína clave en la regulación del metabolismo lipídico; la variante génica se ha asociado con alteración de la función de las lipoproteínas (LDL y HDL), que conlleva a un estado más aterogénico con impacto negativo en la salud cardiovascular [128][129]. El SNP del gen TNEM18 presentó una frecuencia alélica del 96%, que codifica para una proteína de membrana nuclear posiblemente relacionada con la regulación transcripcional de RNA mensajeros asociados con la

adipogénesis, apetito y el equilibrio energético. La proteína es de características ubicuas, sin embargo, los estudios reportan actividad en el hipotálamo [130][131].

Otro de los SNP con alta frecuencia alélica fue el gen ETV5 (89%); éste codifica para el factor de transcripción ET versión 5, de expresión en el hipotálamo cuya función está asociada a la regulación del metabolismo y el equilibrio energético. Varios estudios reportan su asociación con el IMC y especialmente con la obesidad [132][133]. La variante alélica del gen QPCTL tuvo un 93% de frecuencia alélica; este gen codifica para la enzima glutaminil ciclotransferasa encargada de la biosíntesis del ácido peptidil piro glutámico, intermediario en la síntesis de glutatión [134]. Diferentes estudios del SNP del gen QPCTL se han asociado con alteración del IMC [133][135][136].

La variante del gen BDNF presentó un 92% de frecuencia alélica; el gen codifica para el factor neurotrófico derivado del cerebro, involucrado en la vía leptina-POMC (propiomelanocortina) que transfieren señales anorexigénicas [137]. Se ha reportado la relación entre el BDNF y la regulación de la homeostasis energética y la masa corporal. [138]. Estudios en población europea han reportado altos porcentajes de frecuencia alélica para las variantes del gen FTO (rs1121980, rs12149832, rs1558902, rs17817449, rs8050136, rs9939609) [80][87][88]. En el análisis de los 42 voluntarios y especialmente en la población obesa, los SNPs del gen FTO presentaron en promedio un 24% de frecuencia alélica; además se determinó que en todos los casos de sujetos obesos la frecuencia alélica fue mayor, comparada con los obtenidos en aquellos normopeso.

Se ha reportado que el gen CLOCK (del inglés Circadian Locomotor Output Cycles Kaput), codifica para un factor de transcripción, involucrado en la regulación de ritmos circadianos y también con el metabolismo de nutrientes [141]. En población europea se evidenció una asociación significativa de CLOCK con el IMC, además de alteración en los ritmos circadianos que afecta el sueño y la regulación de la masa corporal [142][143]. De forma inesperada, este gen fue el único que no presentó alelo de riesgo en la población analizada, ni de tipo homocigoto, ni heterocigoto.

1

Tabla 4.6 Frecuencia alélica de los SNPs de genes asociados a obesidad

GEN	NP	SP	OB	%	CARACTERISTICAS DE LA PROTEÍNA
TNEM18	0,93	0,86	0,96	92	Proteína transmembrana 18, asociados con la adipogénesis, apetito y el equilibrio energético [130].
ETV5	0,93	0,93	0,89	92	Factor de transcripción ET versión 5, está asociada a la regulación el metabolismo [136].
QPCTL	0,89	0,93	0,93	92	Enzima glutaminil ciclotransferasa, biosíntesis del ácido peptidil piro glutámico, asociada IMC [80].
GPRC5B	0,86	0,89	0,89	88	Receptor acoplado a proteína G, modula la secreción de insulina, asociado a DM2 [133].
BDNF	0,80	0,86	0,92	86	Factor neurotrófico derivado de cerebro, involucrado en la vía leptina-POMC [137].
APOA5	0,79	0,89	0,89	86	Apolipoproteína V, transporte y movilización de lípidos en LDL y HDL [139].
ZNRF3	0,92	0,68	0,86	82	E3 ubiquitina proteína ligasa ZNRF3, posible asociación con la distribución de grasa corporal [66].
IRS1	0,83	0,77	0,81	80	Proteína sustrato del receptor de insulina, se asocia con DM2 y resistencia a la insulina [132].
CETP	0,82	0,63	0,86	77	Proteína de transferencia de esteres de colesterol, SNP asociado con dislipidemia [135].
LYPLAL1	0,79	0,57	0,86	74	Proteína similar a lisofosfolipasa 1, relacionada con alteración metabólica y obesidad [139].
NEGR1	0,77	0,71	0,68	72	Regulador de crecimiento neuronal, posible control de homeostasis energética y masa corporal [124].
HSD17B4	0,71	0,71	0,71	71	Enzima hidroxisteroide 17-beta deshidrogenasa, asociada a metabolismo de lípidos [125].
TFAP2B	0,68	0,68	0,75	70	Factor de transcripción AP2, posible efecto indirecto sobre la obesidad [137].
COBLL1	0,77	0,65	0,61	68	Similar a la proteína cordon bleu, relacionada con aumento de la adiposidad en general [141].
SPRY2	0,54	0,71	0,75	67	Proteína germinada homólogo 2, actividad inhibitoria de señalización tirosina quinasa [136].
GNPDA2	0,67	0,62	0,68	65	Enzima glucosamina 6 fosfato deaminasa, relacionada con la homeostasis de la glucosa y apetito [140].
GRB14	0,71	0,60	0,62	64	Proteína 14 de unión al receptor del factor de crecimiento, asociada al metabolismo y obesidad [127].
ITPR2	0,71	0,64	0,43	60	Receptor de inositol 1,4,5-trifosfato tipo 2 media liberación de calcio intracelular [138].
TBX15	0,50	0,43	0,75	56	Factor de transcripción T-box 15, importante en el desarrollo óseo, se ha visto asociado a obesidad [134].
SH2B1	0,61	0,54	0,50	55	Proteína adaptadora SH2B, relacionado con resistencia a la insulina, equilibrio energético [126].
PLIN1	0,71	0,50	0,39	54	Proteína perilipina, inhibe la lipólisis en adipocitos, en deficiencia hay respuesta proinflamatoria [129].
RSPO3	0,58	0,68	0,36	54	Proteína R-espondina 3, ligando receptores LGR4-6, distribución de la grasa corporal [131].
LY86	0,55	0,46	0,50	50	Antígeno linfocitario 86, actúa en la regulación de LPS*, posible biomarcador predictivo en DM2 [128].
C2orf16	0,31	0,50	0,62	47	Proteína no caracterizada C2orf16, posible asociación con niveles altos de triglicéridos [130].

*LPS (lipopolisacárido). Frecuencias alélicas en normopeso (NP), sobrepeso (SP) y obesidad (OB), % valor promedio de la frecuencia alélica

2

4.4.2 Relación entre los SNPs y probabilidad de obesidad

La probabilidad de que se desarrolle obesidad (la patología) respecto a un determinado genotipo de SNP, se calculó por comparación con la condición de normopeso (no patología). Para determinar el valor de probabilidad se comparó el producto de la frecuencia de los alelos de riesgo en obesidad por la frecuencia de los alelos de no riesgo en normopeso, contra el producto de la frecuencia de los alelos de no riesgo en obesidad por la frecuencia de los alelos de riesgo en normopeso; en otras palabras, para cada SNP se aplicó la relación de probabilidades conocida como "Odds Ratio" (OR). En la figura 4.6 se esquematiza el cálculo del OR para el SNP del gen TNEM18.

Gen TNEM18 rs2867125 Alelo de riesgo C	Patología obesidad (OB)	Controles normopeso (NP)
# de veces que está presente el alelo de riesgo (N)	(A) 14	(B) 14
# de veces que está presente el alelo de no riesgo (n)	(C) 1	(D) 2

$$OR = \frac{\text{Frecuencia de expuestos OB (A/C)}}{\text{Frecuencia de expuestos NP (B/D)}} = \frac{AD}{BC}$$

Figura 4.6 Ejemplo de cálculo de OR para el SNP del gen TNEM18.

La literatura reporta que si el valor de OR es mayor o igual a 1, existe una relación directa entre el SNP y el desarrollo de la patología; en el caso de $OR < 1$ se reduce el riesgo a sufrir la alteración [144]. Los valores de OR para los SNPs relacionados con obesidad y analizados en los 42 voluntarios oscilaron entre 0,0 y 4,3.

Cuando se calculó la probabilidad a desarrollar obesidad, comparando desde la condición en normopeso, se encontraron 27 SNPs con $OR \geq 1$ [145][145], donde las variantes génicas de mayor valor son LINGO2, BDNF, NFE2L3, C2orf16, SEC16B, TNEM18, TBX15, con rango de OR de 2,0 a 4,3. El gen LINGO2, codifica para la proteína neuronal 6c rica en repeticiones de leucina, está relacionada con la regulación positiva del ensamblaje de sinapsis, y se ha asociado con obesidad y DM2 [131]. En la figura 4.7 se muestran los 27 SNPs con $OR \geq 1$, además se compara cada uno con su porcentaje de frecuencia alélica,

que oscila entre el 13% para la variante génica de LINGO2 y el 92% para el SNP de TNEM18. En consecuencia, los dos parámetros calculados OR y frecuencia alélica actúan de forma independiente.

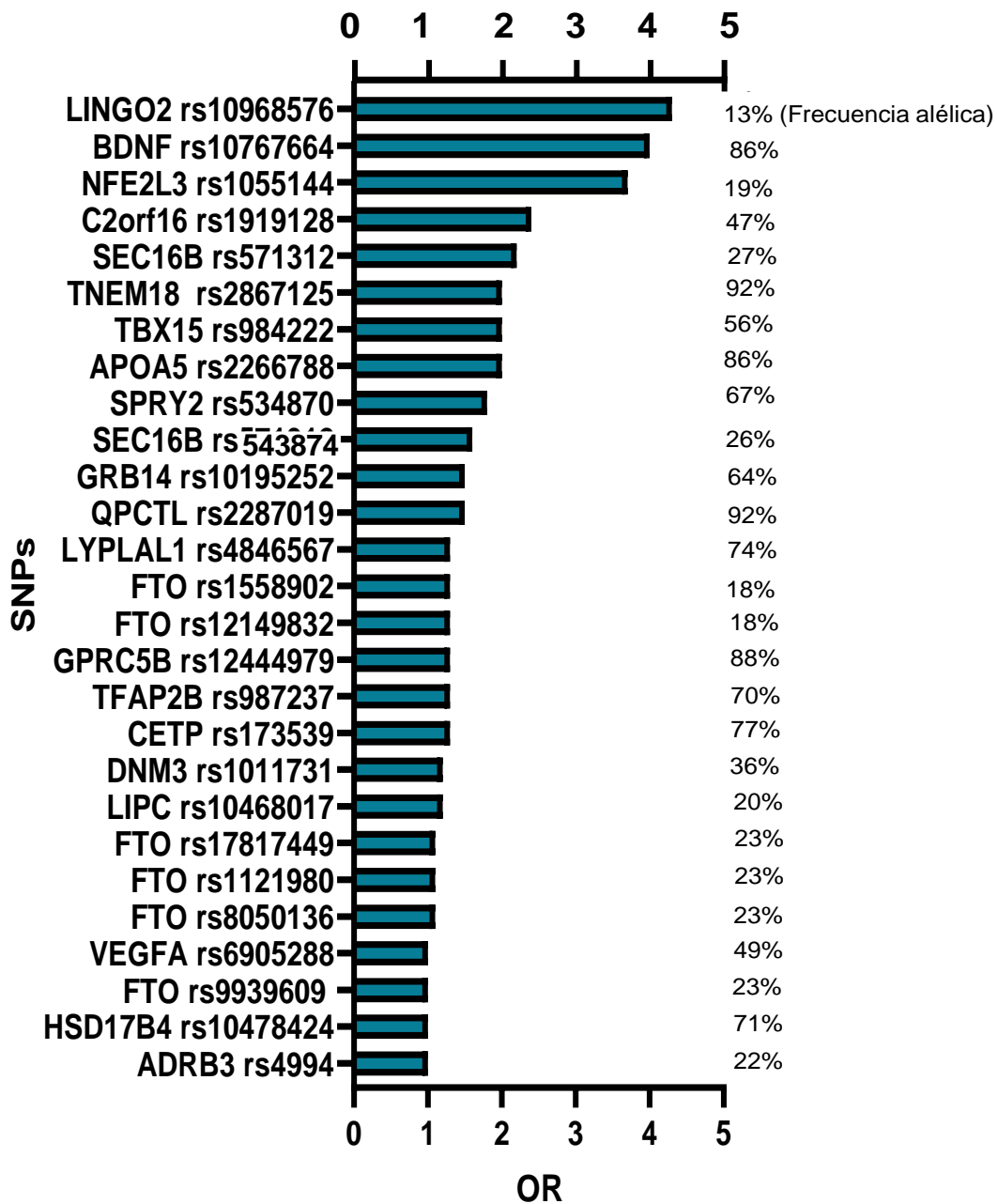


Figura 4.7 Relación de probabilidad (OR) a desarrollar obesidad. Se calculó el valor de OR de cada SNP comparando la situación de normopeso con obesidad. $OR \geq 1$ indica fuerte asociación para el desarrollo de la patología. Entre paréntesis se muestra el porcentaje de frecuencia alélica para cada SNP.

Se encontraron resultados similares en el cálculo de la probabilidad, OR, al desarrollo de sobrepeso desde normopeso. En total se asociaron 20 SNPs (figura 4.7), el rasgo diferencial es la presencia de la variante génica de TNNI3K con un OR de 1,1 y frecuencia alélica de 50%; este gen codifica para una proteína de la familia de las MAP quinasas, asociada a la fisiología cardíaca [140]. Desde la condición de sobrepeso a obesidad, con $OR \geq 1$, se encontraron 21 SNPs (figura 4.8), con dos nuevos genes involucrados. Un rasgo diferencial fue el gen MTIF3 con OR de 1,3 y frecuencia alélica de 29%, que codifica para la proteína factor 3 de iniciación de la traducción mitocondrial. Otro nuevo gen asociado con el desarrollo de sobrepeso es ADAMTS9 con un OR de 1,0 y frecuencia alélica de 38%, que traduce para una desintegrina y metaloproteínasa con motivos de trombospondina 9; la proteína está implicada en la escisión de los proteoglucanos, y la han asociado a DM2 [81].

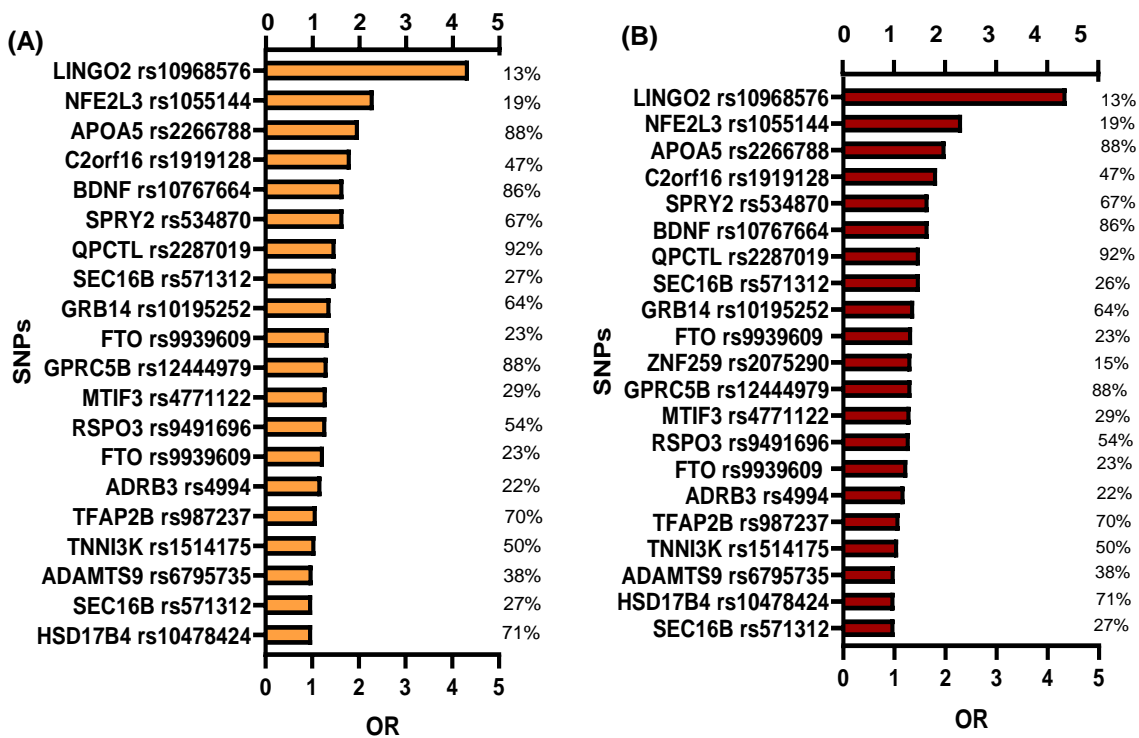


Figura 4.8 Relación de probabilidad (OR) a desarrollar obesidad. Se calculó el valor de OR de cada SNP comparando la situación de normopeso con sobrepeso en (A); de sobrepeso a obesidad en (B). $OR \geq 1$ indica fuerte asociación para el desarrollo de la patología. Entre paréntesis se muestra el porcentaje de frecuencia alélica para cada SNP.

De las condiciones anteriores se observa que hay variantes génicas asociadas al desarrollo de obesidad que se comparten en las tres situaciones de análisis para calcular la relación de probabilidad (OR), hay SNPs que son específicos de situación; la figura 4.9 describe los genes que son compartidos o específicos de cada estado de comparación. Los genes que estarían fuertemente asociados a la alteración del IMC son los que se encuentran en la intersección de los círculos que representan las situaciones de comparación, y corresponden a los SNPs de los genes ADRB3, HSD17B4, FTO, TFAP2, GPRC5B, QPCTL, GRB14, SEC16B, SPRY2, APOA5, C2orf16, NFE2L3 y BDNF. Los SNPs de los genes VEGFA LIPC DN3, CETP, LYPLAL1, TBX15 y TNEM18 están asociados a la condición de normopeso a obesidad. La variante del gen ZNF259 es específica de la situación sobrepeso – obesidad.

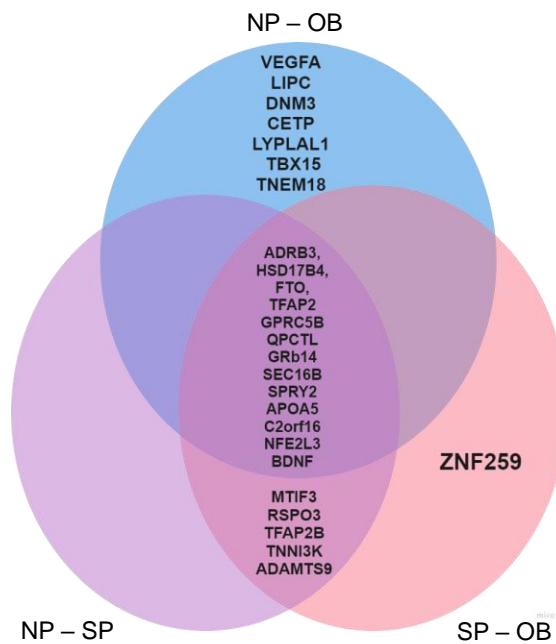


Figura 4.9 Genes característicos de cada una de las situaciones analizadas

4.4.3 Puntuación de riesgo y porcentaje de riesgo genético a obesidad

La puntuación de riesgo genético (PGR) permite estudiar el efecto combinado de los alelos de riesgo a la patología, mediante la suma de todos los alelos de las variantes que presentaron la relación de probabilidad, $OR \geq 1$. En el cálculo de PGR para desarrollar obesidad de cada uno de los voluntarios analizados, se asigna un puntaje o codificación a cada alelo que representa el SNP; al alelo homocigoto de riesgo (NN) se le asignó el código 3, el alelo de riesgo heterocigoto (Nn) es codificado como 2 y para el genotipo de no riesgo (nn) se le asignó 1. Con base en esa codificación se calculó PGR, mediante la relación del número de SNP con la sumatoria de todos los OR y esto multiplicado por la sumatoria del producto entre todos los alelos de riesgo de los SNPs, por el valor de OR de cada uno (ecuación descrita en el ítem 3.9 de la metodología). la figura 4.10 muestra un ejemplo del cálculo

$\sum Odds\ ratio\ SNP1 - SNP27$	$\sum Odds\ ratio * 3$	PRG Voluntario	PRG máx
46,6	139,8	45,8	81

$$PRG\ voluntario = \sum (Odds\ ratio * codificación\ alelo) \left(\frac{27\ SNPs}{\sum Odds\ ratio\ SNP1 - SNP27} \right)$$

$$PRG\ máx = \sum Odds\ ratio * 3 \frac{27\ SNPs}{\sum Odds\ ratio\ SNP1 - SNP27} = 81$$

$$\%Riesgo = \left(\frac{PRG\ Voluntario}{PRG\ máx} \right) * 100$$

Figura 4.10 Cálculo para la puntuación de riesgo y el porcentaje de riesgo a obesidad. Ejemplo para el voluntario N001. La sumatoria de la relación de probabilidad (OR) de todos los SNP se multiplicó por tres, dado que es la codificación para la presencia de los dos alelos de riesgo.

El posible riesgo genético de desarrollar obesidad proveniente de la comparación entre normopeso y obesidad se representó por 27 SNPs con $OR \geq 1$ (figura 4.7), con éstos se calculó el puntaje de riesgo genético para cada uno de los voluntarios (PGR_{27}). Se discriminó PGR_{27} en cada grupo de acuerdo con el IMC y se calculó el valor promedio para toda la población (tabla 4.7).

Tabla 4.7 Puntaje genético y porcentaje de riesgo a obesidad para la población

VOLUNTARIO NORMOPESO			VOLUNTARIO SOBREPESO			VOLUNTARIO OBESIDAD		
ID	PRG	% RIESGO	ID	PRG	%RIESGO	ID	PRG	%RIESGO
N001	46	57	N168	51	63	N329	53	66
N399	47	58	N309	51	64	N342	51	63
N193	48	60	N195	45	55	N020	51	64
N229	57	70	N215	50	62	N257	52	65
N352	51	63	N555	51	63	N282	55	68
N354	49	61	N572	53	65	N400	62	76
N375	49	60	N586	38	46	N403	58	72
N380	45	55	N587	50	62	N278	54	67
N387	50	62	N588	41	51	N395	58	72
N562	45	56	N590	46	56	N012	53	66
N582	39	48	N565	51	63	N543	53	66
N583	43	53	N591	50	62	N554	45	55
N594	52	64	N561	52	64	N559	56	70
N595	37	45	N601	46	57	N574	52	64
Promedio	47	58	Promedio	48	60	Promedio	54	67

Comparando entre toda la población el valor promedio de PGR_{27} fue de 50, con un rango de 37 a 62. Para el grupo de los NP el puntaje promedio fue de 47, con un rango de 37 a 57. El grupo en SP, presentó PGR_{27} 48 con un rango de 38 a 53; en condición de obesidad el valor promedio de PGR_{27} fue de 54 con un rango de 45 a 62. La distribución de la puntuación de riesgo genético para obesidad de los 27 SNPs, en cada grupo NP, SP y OB, fue representada en diagramas de cajas y bigotes, proveniente de un análisis de varianza (ANOVA). Ese análisis permitió verificar diferencias significativas entre la distribución de los grupos, mediante la comparación entre estos utilizando el test de Tukey post hoc. Se evidenciaron diferencias significativas entre NP vs OB (p 0,007) y SP vs OB (p 0,0003) (figura 4.11).

El porcentaje de riesgo genético para desarrollar obesidad se determinó mediante el producto del PGR_{27} por un factor proveniente de la relación de ponderación de los OR de cada SNP con la OR de los alelos. La población NP presentó un valor promedio de 58% con un rango de 45% a 70% de riesgo genético; el grupo de SP 60% con rango de 46% a 64%; y los OB 67% con rango de 55% a 72% (tabla 4.7).

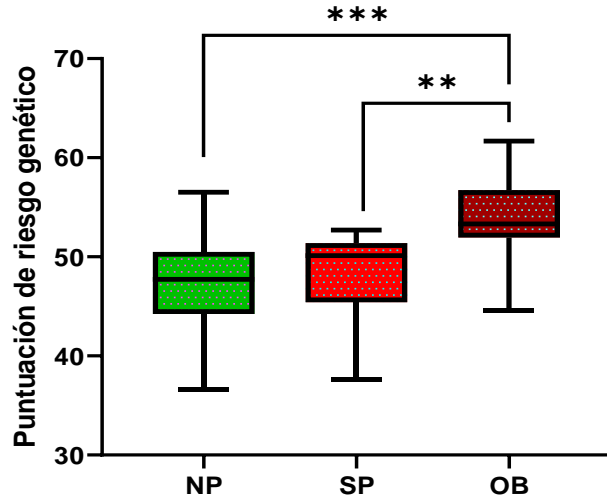


Figura 4.11 Relación entre la puntuación de riesgo genético (PGR₂₇) a obesidad y el IMC. Discriminado en NP, SP y OB. **valor p 0,007 y ***Valor p 0,0003.

La dispersión de los valores del porcentaje de riesgo fue analizada mediante un análisis de varianza (ANOVA), junto con el test de Tukey post hoc para un análisis de múltiples comparaciones. Los resultados se representaron mediante un diagrama de dispersión, en éste se evidenciaron diferencias significativas entre la comparación del estado NP a la condición de OB (p 0,0008), y también entre SP y OB (p 0,0059) (figura 4.12).

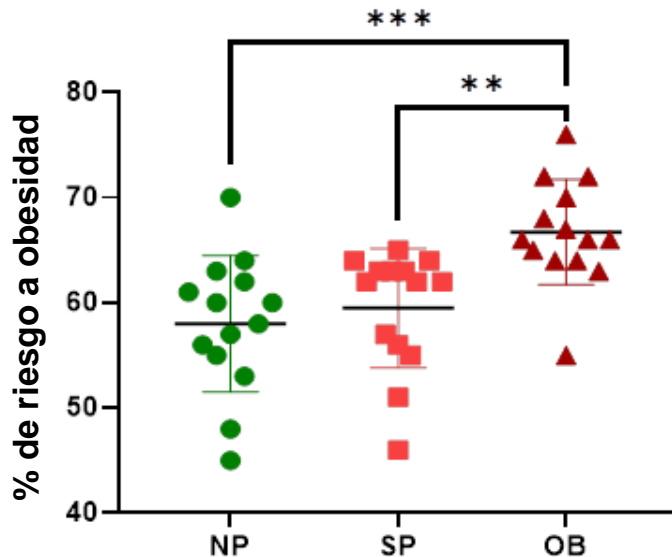


Figura 4.12 Relación entre el porcentaje de riesgo genético y el IMC. Se discrimina entre grupos normopeso (NP), sobrepeso (SP) y obesidad (OB). Diferencia significativa entre ***NP vs OB (valor p 0,0008), **SP vs OB (valor p 0,0059)

El rendimiento de la sensibilidad y la especificidad se evaluó mediante la curva ROC, a partir de los verdaderos positivos (sensibilidad) y verdaderos negativos (especificidad), que permite identificar puntos de corte con fines diagnósticos. Los verdaderos positivos corresponden a los voluntarios con obesidad y la enfermedad progresiva, los verdaderos negativos corresponden a los voluntarios que se identifican sin enfermedad [147].

La curva ROC (del inglés Receiver Operating Characteristic) representa los verdaderos positivos (sensibilidad) en función de falsos positivos (especificidad). En el análisis de la curva ROC el área bajo la curva (AUC, del inglés Area Under the Curve) es una medida que permite distinguir entre dos grupos de diagnóstico; un valor de 1 indica un rendimiento perfecto [148], en la caracterización de biomarcadores un AUC de 1 está relacionado con enfermedad [149]. Valores de AUC > 0,8 tienen valor predictivo y son de utilidad clínica para los biomarcadores en estudio; valores de AUC < 0,8 no se consideran con valor predictivo [150]. En el estudio actual se utilizó la curva ROC para analizar posibles SNPs como biomarcadores de obesidad, dado que ésta permite discriminar entre voluntarios con obesidad o en ausencia de la patología. La efectividad como biomarcadores de los 27 SNPs asociados a obesidad fue analizada mediante las curvas ROC; se comparó entre diferentes condiciones de IMC, (i) NP y SP, (ii) NP y OB, (iii) SP y OB (figura 4.13).

La curva ROC que compara los puntajes de riesgo (PGR_{27}) entre NP y SP valoró un AUC de 0,61 con valor $p = 0,323$; este resultado infiere ausencia de capacidad para discriminar entre NP y SP, dado que no existe significancia estadística y el valor de AUC < 0,8. Cuando se compararon los PGR_{27} entre NP y OB, en la curva ROC, a bajos valores de especificidad se alcanzaron los máximos de sensibilidad ampliando el área bajo la curva; el cálculo de AUC presentó un valor de 0,88 con significancia estadística ($p = 0,0006$). Esto representa que se puede discriminar entre NP y la condición OB, con un 88% de probabilidad utilizando como biomarcadores el conjunto de los 27 SNPs asociados a obesidad. Al igual que en el caso anterior, el comportamiento de la curva ROC para la comparación entre la situación de SP y OB presentó un AUC de 0,90 ($p = 0,0003$), indicando que el PGR_{27} de obesidad tiene un valor predictivo. Estos dos últimos resultados permiten inferir la potencial utilidad de PGR_{27} como herramienta genética, para evaluar la predisposición individual a obesidad de esa población colombiana entre 40 a 70 años.

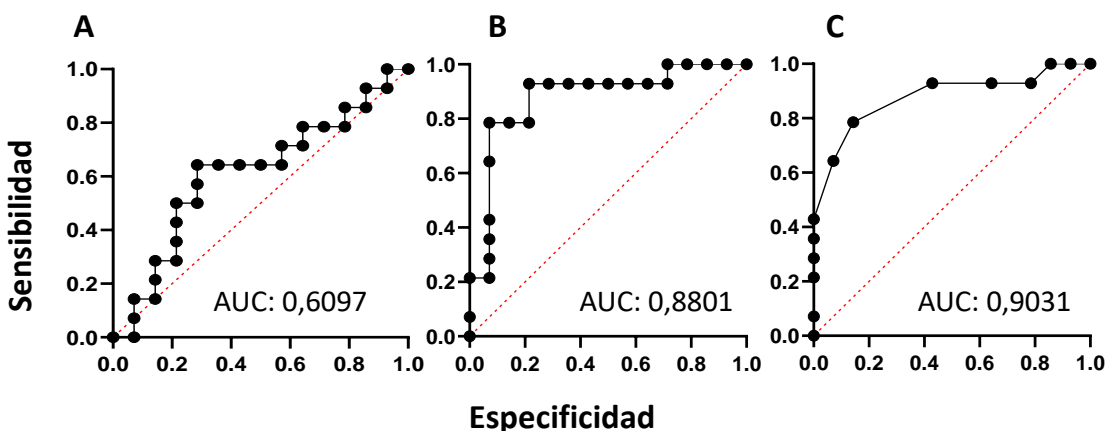


Figura 4.13 Curvas ROC para los 27 SNPs asociados a obesidad. Elaboradas con las puntuaciones de riesgo genético (PGR₂₇). En A, se comparó NP con SP (valor $p = 0,3232$); en B, la comparación fue entre NP y OB (valor $p = 0,0006$); en C, se comparó SP con OB (valor $p = 0,0003$).

Varios reportes utilizando PGR con un número más pequeño de SNPs (entre 20 y 21), han calculado AUC entre 0,57 hasta 0,73 en poblaciones de diferentes edades y latitudes, con un alto número de participantes (entre 1000 y 5000 individuos) [151] [152] [153]. Muchos de los SNPs descritos en esa literatura también fueron considerados en el actual estudio, entre los genes que se comparten están FTO, MC4R, BDNF, TNEM18, GNPDA2, SH2B1 y NEGR1. Entre más robusta sea la investigación, aumentando la cantidad de individuos y con un menor número de SNPs de $OR \geq 1$ para el cálculo del puntaje de riesgo genético, el AUC se aleja de 1. Sin embargo, un valor AUC de 0,73 permitió considerar esa PGR como una herramienta útil en la evaluación de la predisposición genética a sobrepeso y obesidad [153].

4.4.4 Asociación del riesgo genético con parámetros clínicos.

Se relacionaron los parámetros bioquímicos y de composición corporal con el porcentaje de riesgo proveniente de los 27 SNPs asociados a obesidad. Con significancia estadística se determinó una relación directamente proporcional entre el porcentaje de riesgo genético a obesidad con el IMC, la grasa visceral, además de los índices aterogénicos cintura/altura y CT/cHDL (figura 4.14). Mediante la estadística r , se confirmó la relación directa entre el porcentaje de riesgo y el IMC ($p = 0,0008$) (figura 4.14A). Utilizando estadística rho se

evidenció relación directa entre el porcentaje de riesgo genético y el porcentaje la grasa visceral (GV) ($p=0,0020$) (figura 4.14B). Teniendo en cuenta que GV se caracteriza por un aumento de los niveles de ácidos grasos libres circulantes, dada la capacidad limitada del hígado y el músculo a metabolizarlos, éstos se acumulan en la estructura de ceramidas y diacilgliceroles que directamente favorecen la resistencia a la insulina y a la lipotoxicidad [108]. Un comportamiento similar se observó con el índice cintura/altura y el índice CT/cHDL, confirmando la participación directa en el desarrollo de la patología desde los factores genéticos.

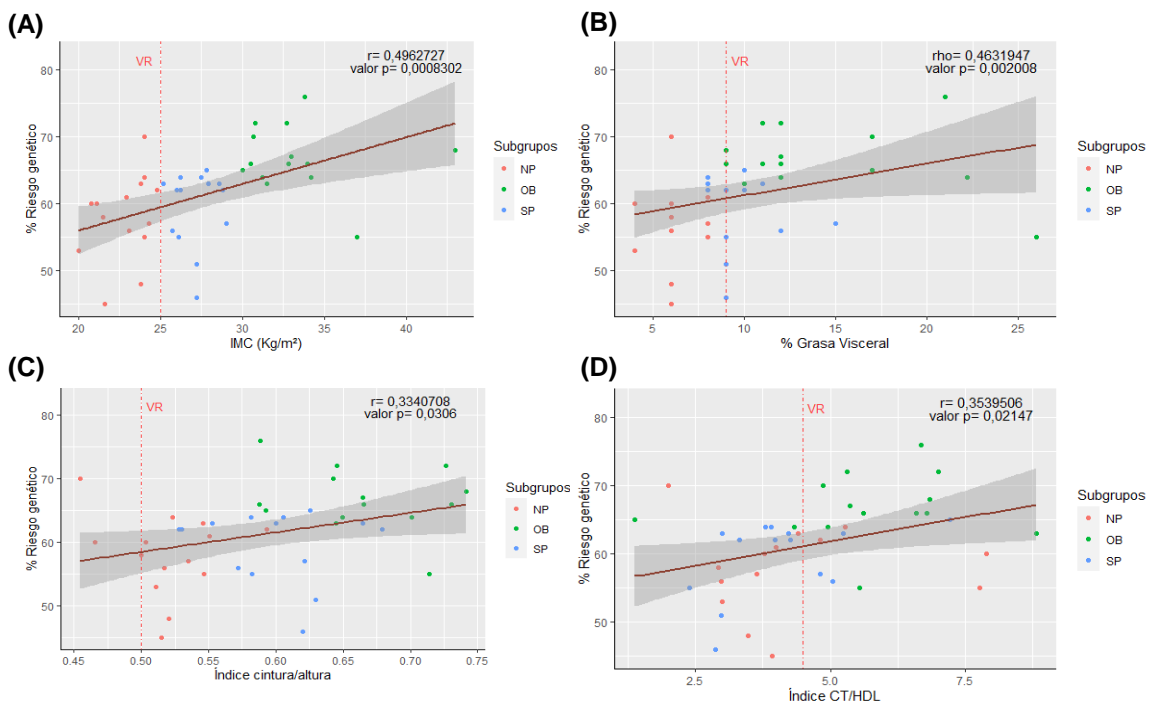


Figura 4.14 Relación del riesgo genético a obesidad y parámetros clínicos. En (A) asociación con el IMC; (B) en función de la grasa visceral (GV); (C) con el índice cintura/altura y en (D) con el índice colesterol total/cHDL. La línea roja puntada indica el límite máximo de referencia para cada variable clínica (VR), para el IMC 25, GV 9%, índice cintura/altura 0,5 y el índice colesterol total/cHDL 4,5. La franja gris indica el rango que representa dependencia fuerte entre las variables, con mínimo el 95% de confianza, teniendo en cuenta la recta de tendencia roja.

4.4.5 Exploración de estabilidad de los SNPs de riesgo a obesidad

La genética de poblaciones define que el equilibrio de Hardy Weinberg (PHW) plantea que mientras no interfiera la selección natural, factores evolutivos o se generen mutaciones, la composición genética de una población será estable o permanece en equilibrio (referencia). PHW se basa en las frecuencias alélicas y genotípicas; para determinar si existen cambios entre generaciones, se debe establecer y calcular las frecuencias genotípicas esperadas “bajo el equilibrio” y contrastarlas con las observadas. En esa determinación se utiliza la prueba χ^2 Pearson, mediante el desarrollo de la siguiente ecuación:

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1 \quad \text{(Ecuación 5)}$$

p= Frecuencia del alelo de riesgo “N”; q= Frecuencia del alelo de no riesgo “n”

Se aplicó la ecuación 4 del PHW a los valores de frecuencia genotípica de los 58 SNPs asociados a obesidad previamente descritos (anexo VIII). Teniendo en cuenta los grados de libertad de la función (1), el valor de la frecuencia genotípica “esperado” fue de 3,84; éste fue obtenido de la tabulación reportada para un grado de libertad con el 95% de confianza estadística (valor $p = 0,005$). Los resultados de las frecuencias genotípicas observadas para cada uno de los 58 SNPs asociados a obesidad fueron graficados relacionando el número del SNP con el valor de χ^2 (figura 4.15).

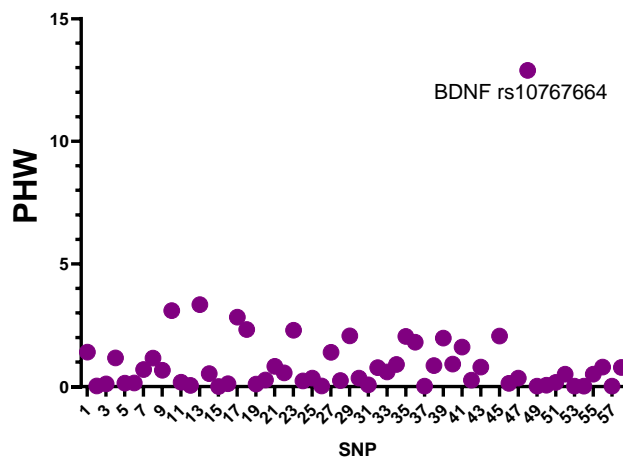


Figura 4.15 Equilibrio de Hardy Weinberg (PHW) para cada SNP asociado a obesidad. Cada punto equivale a uno de los 58 SNPs amplificados mediante qPCR de alto rendimiento.

Los valores de la prueba oscilaron entre 0,00 y 3,34 para 57 SNPs, solo hubo un valor de 12,84 de la variante génica BDNF rs10767664. De acuerdo con la definición del equilibrio, cualquier valor de χ^2 mayor a 3,84, indica que ese SNP no cumple el PHW. Por lo tanto, la población analizada no está en equilibrio genético para el gen BDNF; dado que no es un error de genotipado, este gen podría estar haciendo parte de un factor evolutivo y por ello directamente asociado al proceso patológico de obesidad.

4.4.6 Análisis de riesgo genético para DM2

Para el análisis de riesgo a DM2 se utilizó el test Diabetes Prevent (PATIA), dado que el procesamiento de los datos, en su mayoría, lo hace automáticamente el software patentado por PATIA se incluyeron los 111 voluntarios descritos en la tabla 4.8. La prueba Diabetes Prevent analiza 16 SNPs asociados a DM2 (tabla 1.5). Para el cálculo del porcentaje de riesgo el software aplica un algoritmo que incluye los parámetros como los antecedentes parentales de DM2, edad, genero, peso, talla y ascendencia geográfica. Los resultados de porcentaje de riesgo se compararon entre 63 voluntarios normoglucémicos (N Glu) y 48 con glucosa preprandial alterada (Glu Prep A).

Tabla 4.8 Características generales de la población de estudio

Variable	Normoglucemia <100 mg/dL 57% (n=63)	Glucosa preprandial alterada ≥100 mg/dL 43% (n=48)
Género	Femenino 45%(n=50) Masculino 12% (n=13)	Femenino 34%(n=38) Masculino 9%(n=10)
Edad (años)	56 (40 - 70)	56 (41-70)
IMC (kg/m ²)	30,6 (19,9 - 43,2)	29,5 (20,7 - 44,4)
FINDRISC	16 (7- 23)	17 (10 - 22)
Perímetro de cintura (cm)	99,1 (76,0 – 124,0)	98,6 (75,0 – 144,0)
Grasa visceral (%)	11 (4 - 24)	11 (4 - 30)
Grasa total (%)	42 (20 - 60)	40 (19 - 54)
Músculo (%)	25 (17 - 38)	25 (20 - 39)
Glucosa preprandial (mg/dL)	86 (67 - 97)	110 (100 - 142)
% Riesgo genético a DM2	64 (11 - 99)	64 (17 - 99)
Clasificación del riesgo	Moderado	Moderado

Los datos se exportaron a una hoja de cálculo en Excel y se determinó la frecuencia alélica para los 16 SNPs en cada uno de los voluntarios. Se encontró que siete variantes génicas presentaron frecuencia alélica mayor al 50%; los genes que representan esos SNPs son WFS1 (90%), PPARG (90%), ADCY5 (56%), CDKAL1 (52%), JAZF1 (69%), KCNQ1 (76%), CDKN2A/B1 (85%).

El alelo de riesgo homocigoto y heterocigoto fue detectado en todos los siete SNPs de frecuencia alélica mayor al 50%, descritos anteriormente. Otra característica común es que los SNPs fueron detectados en la población normoglucémica (N Glu) y también en aquellos con la glucemia preprandial alterada (Glu Prep A). Entre estos SNPs se destaca el asociado con el gen WFS1 con frecuencia alélica del 90%; esa variante génica se ha relacionado con deficiencia de insulina a causa de pérdida de células beta pancreáticas, debido a alteraciones en la función de la wolframina [154] [155][156].

El procedimiento para comparar la probabilidad de riesgo para glucosa preprandial alterada desde normoglucemia, se realizó mediante el cálculo de probabilidad OR mencionado en el ítem 4.4.2 y la figura 4.5. Se encontraron 9 SNPs con $OR \geq 1$ (figura 4.16), y las variantes génicas con mayor valor de relación de probabilidad (OR) son las asociadas a los genes PPAR γ y WFS1, con OR de 3,3 y 2,0 respectivamente.

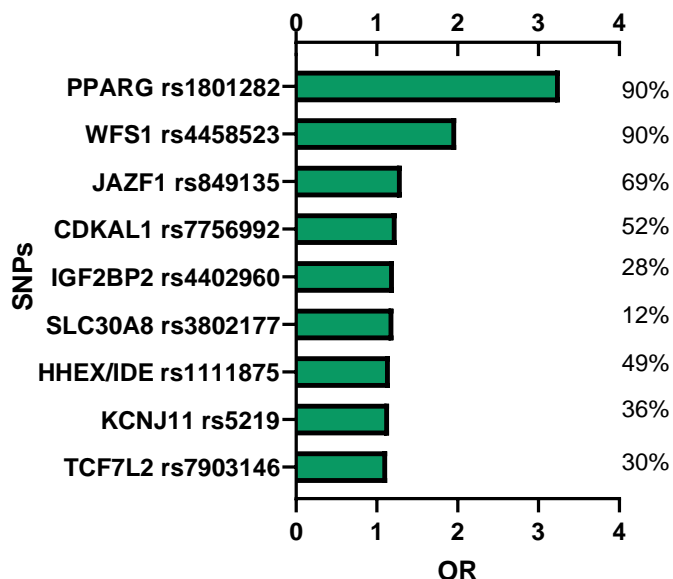


Figura 4.16 SNPs asociados a DM2 con ($OR \geq 1$). Comparación entre voluntarios normoglucémicos y glucemia preprandial alterada. El porcentaje indica la frecuencia alélica que corresponde a cada SNP.

La literatura reporta que variantes del gen PPAR γ se han asociado significativamente a DM2 [157], éste regula la transcripción de genes encargados de la diferenciación de adipocitos y el metabolismo de la glucosa y de los lípidos, está también relacionado con sensibilidad a la insulina [158]. Desempeña un papel importante en la arquitectura genética de predisposición a la enfermedad y ha sido ampliamente descrito en diversos estudios [159][160][161], en un metaanálisis se informó que el alelo C (de riesgo) aumenta la susceptibilidad a DM2 [162].

Se analizó la relación de probabilidad de los diferentes SNPs con OR \geq 1 de riesgo a DM2 en función del IMC (figura 4.17A). Cuando se comparó normopeso (NP) con la condición de obesidad (OB), se encontraron siete SNPs asociadas con riesgo genético a DM2; de esos, tres variantes genéticas exclusivas del análisis con el IMC, provenientes de los genes FTO, ADCY5 y INS-IGF2T. Se encontraron cuatro SNPs previamente reportados en el análisis de comparación según el comportamiento glucémico, y pertenecen a los genes PPAR γ , CDKAL1, HHEX/IDE y JAZF1 (figura 4.17 B)

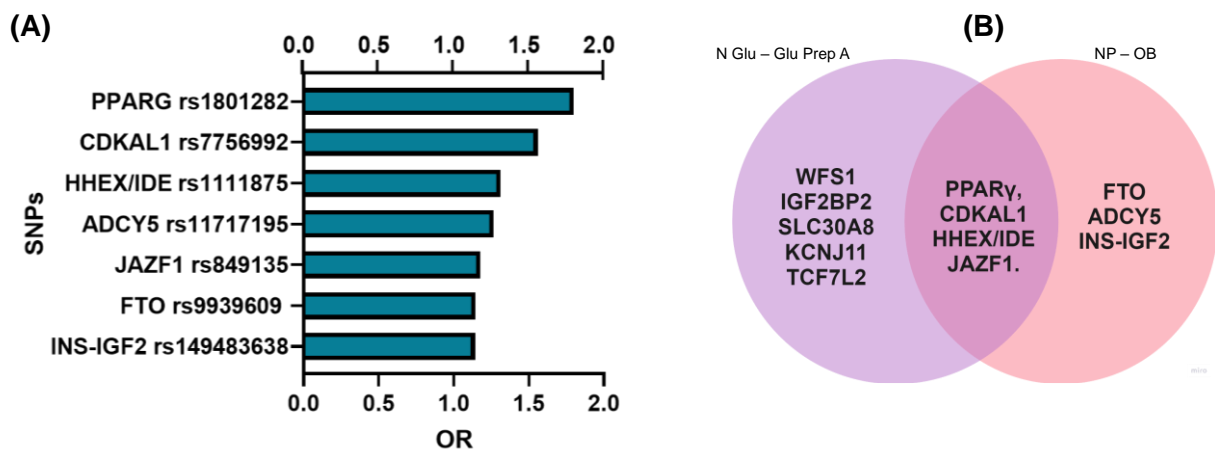


Figura 4.17 SNP asociados a DM2 con OR \geq 1 en función del IMC (en A). En B, discriminación de los genes asociados a DM2, provenientes de la comparación entre normoglucémicos (N Glu) y aquellos voluntarios con glucosa preprandial alterada (Glu Prep A) con el IMC (normopeso – obesidad).

Los resultados del porcentaje de riesgo genético a DM2 indican que en promedio la población analizada presentó 64% de riesgo, categorizado como moderado; con valor mínimo de 11% y máximo de 99%. No se encontraron diferencias significativas, cuando la comparación se evaluó entre el grupo normoglucémico (N Glu) y los voluntarios con

glucemia preprandial alterada (Glu Prep A). Sin embargo, el análisis en función del IMC evidenció que hay relación directa con significancia estadística entre el porcentaje de riesgo y las condiciones de sobrepeso y obesidad (figura 4.18)

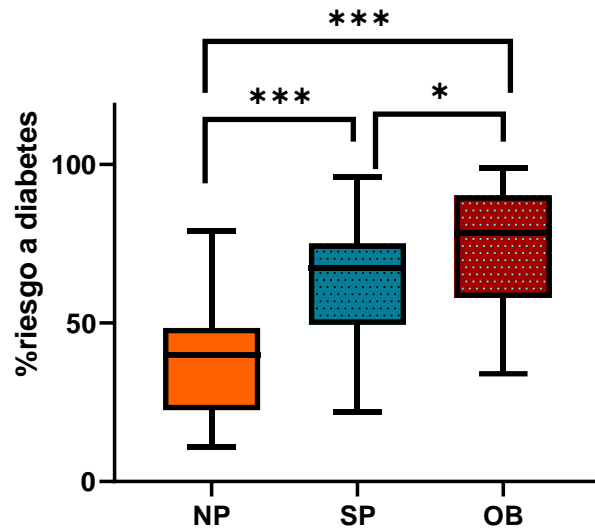


Figura 4.18 Relación del porcentaje de riesgo genético a DM2 con el IMC. NP (normopeso), SP (sobrepeso) y OB (obesidad). *** $p < 0,0001$, ** $p=0,0107$.

5. Conclusiones y recomendaciones

5.1 Conclusiones

Se realizaron jornadas de salud que permitieron reclutar 535 voluntarios colombianos entre 40 y 70 años de edad, a quienes se les analizó los factores de riesgo a obesidad mediante medidas antropométricas, de composición corporal y pruebas bioquímicas; esos análisis, además del FNDRISC también permitieron valorar los factores de riesgo a DM2. Las medidas antropométricas señalaron que el 70% de la población presentó alteración del IMC, el 73% superó el valor de referencia para el perímetro de cintura. La composición corporal, que refleja el estado nutricional del individuo, indicó exceso en el componente de la grasa total en el 78% de la población, y 54% en grasa visceral. Se evidenció que el 38% de los voluntarios presentaron disminución en la masa muscular.

La condición de hiperglucemia se valoró en el 23% de la población, de éstos el 21% padecía prediabetes y el 2% se diagnosticó con DM2. Con relación al perfil lipídico se encontró que el 42% de los voluntarios estaba fuera del rango ideal para triglicéridos; de igual forma los niveles de colesterol total y cLDL en el 73% de la población superaron el límite considerado como “bordeline” alto, en consecuencia y de forma coherente se encontró que el cHDL fue inferior al límite mínimo reportado según el género, en el 61% de la población.

Los índices aterogénicos permiten asociar riesgo metabólico a partir del perfil lipídico y medidas antropométricas, en la población analizada se encontró que el 82% superó el rango referencial ($<0,5$) del índice cintura/altura. Para el índice TG/cHDL el 57% de los voluntarios presentó valores por fuera del límite ($<3,5$), mientras que 60% tuvo alterado el índice CT/cHDL cuyo valor de referencia es 4,5; similar comportamiento se presentó con el índice cLDL/cHDL, en éste el 65% de la población estuvo por fuera del rango ($<2,5$). Se concluye que en promedio el 66% de los voluntarios presentó alteración en los índices aterogénicos, situación directamente relacionada con el factor de riesgo cardiovascular. Se considera de vital importancia valorar los índices aterogénicos en la práctica clínica como medida de seguimiento e intervención para prevenir las complicaciones cardiovasculares.

La valoración del riesgo a DM2 mediante el FINDRISC indicó que 24% de la población presentaba entre 12 a 14 puntos, en categoría de riesgo moderado con el 17% de riesgo a padecer la enfermedad en 10 años. El 30% de los voluntarios estaba en el rango de 15 a 20 puntos, con un riesgo alto o con 33% de riesgo a DM2. La población con FINDRISC > 20 puntos solo fue el 3%, que corresponde a un nivel muy alto, valorado en el 50% de riesgo a DM2. En conclusión, el 57% de los voluntarios deben iniciar control clínico metabólico dado el riesgo según FINDRISC ≥ 12 puntos. Este es un instrumento de utilidad como predictor de riesgo a DM2, no invasivo, de fácil medida, económico, cuya aplicación permanente ayudará a prevenir las complicaciones asociadas a la patología.

Los análisis de las pruebas de algunos voluntarios normopeso con aparente buen “estado de salud”, expresan marcadores de riesgo metabólico; por lo que se concluye que la evaluación del riesgo no debe limitarse a las pruebas bioquímicas y antropométricas de forma aislada. El riesgo metabólico se debe analizar en conjunto, incluyendo la composición corporal, con la implementación de herramientas de fácil acceso y aplicación como el FINDRISC y los índices aterogénicos, ya que el IMC por sí solo no es un buen indicador de salud. El aumento en el perímetro de cintura, la grasa visceral y los índices aterogénicos están fuertemente asociados con el desarrollo de obesidad, DM2 y riesgo cardiovascular.

El análisis de riesgo genético se realizó sobre 111 voluntarios, mediante qPCR de alto rendimiento. Se calculó la probabilidad de desarrollar obesidad en 42 individuos, comparando el estado de normopeso con obesidad. Se analizaron 58 variantes génicas asociadas a obesidad, por reporte del GWAS; de éstas BDNF(rs10767664) fue la única que no estaba en equilibrio Hardy Weinberg (PHW) en la población estudiada. Se encontraron 27 SNPs con relación de probabilidad entre 1 y 4, con frecuencias alélicas entre 13% y 92%; éstos se correlacionaron con el IMC. Las variantes génicas asociadas a obesidad provienen de los genes LINGO2, BDNF, NFE2L3, C2orf16, SEC16B, TNEM18, TBX15. Se cuantificó la puntuación de riesgo genético en 50, que es dependiente del IMC; con esa puntuación se midió la sensibilidad y especificidad de la prueba, mediante el área bajo la curva ROC (AUC). Se calculó un valor predictivo AUC de 0,88 que permitió discriminar entre SNPs, el estado de normopeso de la condición de obesidad. El porcentaje de riesgo genético a obesidad en los voluntarios analizados fue del 62%.

El análisis de riesgo para DM2 señaló 8 SNPs con OR ≥ 1 y frecuencia alélica mayor al 50%. Las variantes asociadas a DM2 provienen de los genes WFS1 (90%), PPARG (90%), ADCY5 (56%), CDKAL1 (52%), JAZF1 (69%), KCNQ1 (76%), CDKN2A/B1 (85%), en el paréntesis se indica la frecuencia alélica. La población estudiada presentó 64% de riesgo genético a DM2, catalogado como riesgo moderado.

Existe una relación directa entre la valoración clínica y los hallazgos de riesgo genético a obesidad y DM2 en la población analizada. Ampliar los estudios genéticos desde la infancia, permitirá que desde esa edad hasta la población adulta se propicien estilos de vida saludable, para prevenir o retardar el desarrollo de estas patologías y sus complicaciones.

5.2 Recomendaciones

Continuar el análisis de frecuencias alélicas y puntaje de riesgo genético con las 69 muestras de voluntarios que fueron amplificadas por qPCR de alto rendimiento, para enriquecer los estudios estadísticos. Se debe entregar el resultado de posible riesgo genético de obesidad y diabetes a cada uno de los voluntarios.

Hacer el análisis de la encuesta de frecuencia de alimentos (no mencionada en el escrito) y asociar la calidad de la dieta con los factores de riesgo a DM2 y obesidad.

Se recomienda en futuros estudios determinar hemoglobina glicosilada, ya que es un acercamiento histórico del comportamiento glucémico del individuo, además de las medidas de hormonas como insulina, leptina y adiponectina que permitan caracterizar el estado metabólico.

Se recomienda ampliar la investigación incluyendo jóvenes a partir de los 18 años, y diferentes etnias, para caracterizar la población colombiana a nivel genético. Esto aumentará la confianza del puntaje y porcentaje de riesgo a obesidad y DM2, debido a que son escasos los estudios que ha relacionado los SNPs para estas patologías metabólicas en el país.

Bibliografía

- [1] “Enfermedades no transmisibles,” 2021. [Online]. Available: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>.
- [2] *Guía ALAD sobre el diagnóstico, Control y Tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2 con Medicina basada en evidencia.*, pp. 118–118, 2019, doi: 10.1007/978-3-642-16483-5_167.
- [3] “International Diabetes Federation - What is diabetes.” [Online]. Available: <https://idf.org/aboutdiabetes/what-is-diabetes.html>. [Accessed: 23-Mar-2020].
- [4] “Obesidad y Sobrepeso,” *datos y cifras*, 2021. [Online]. Available: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
- [5] “Encuesta Nacional de la Situación Nutricional-ENSIN 2015,” Bogotá, 2015.
- [6] S. Webber, *International Diabetes Federation*, vol. 102, no. 2. 2013.
- [7] “Diabetes around the world in 2021,” *IDF diabetes atlas*, 2021. [Online]. Available: <https://diabetesatlas.org/>.
- [8] “Día mundial de la diabetes 2021,” *Cuenta de Alto Costo, Fondo Colombiano de Enfermedades de Alto Costo*, 2021. [Online]. Available: <https://cuentadealtocosto.org/site/general/dia-mundial-de-la-diabetes-2021/>.
- [9] Federación Internacional de Diabetes (IDF), *Diabetes Atlas*. 2015.
- [10] Guías Alad De Diagnóstico, Control Y Tratamiento De La Diabetes Mellitus Tipo 2, vol. 1. 2009.
- [11] R. Gabriel *et al.*, “Validation of the Finnish Type 2 Diabetes Risk Score (FINDRISC) with the OGTT in Health Care Practices in Europe,” *Diabetes Res. Clin. Pract.*, vol. 178, p. 108976, 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.108976>.
- [12] D. Fernández-Bergés *et al.*, “Metabolic and Inflammatory Profiles of Biomarkers in Obesity, Metabolic Syndrome, and Diabetes in a Mediterranean Population. DARIOS Inflammatory Study,” *Rev. Española Cardiol. (English Ed.)*, vol. 67, no. 8, pp. 624–631, 2014, doi: <https://doi.org/10.1016/j.rec.2013.10.019>.
- [13] E. S. Tobias, “The human genome, Gene regulation and genomic variation.,” *Handb. pharmacogenomics Stratif. Med.*, pp. 41–56, 2014.
- [14] J. B. Cole and J. C. Florez, “Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications,” *Nat. Rev. Nephrol.*, vol. 16, no. 7, pp. 377–390, 2020, doi: 10.1038/s41581-020-0278-5.
- [15] C. J. Castro-Juárez, S. A. Ramírez-García, N. Villa-Ruano, and D. García-Cruz, “Genetic epidemiology on casual theories and pathogenesis of type 2 diabetes mellitus,” *Gac. Mexico*, vol. 153, no. 7, pp. 784–793, 2019, doi: 10.24875/gmm.m18000086.

- [16] A. T. Chande, L. Rishishwar, A. B. Conley, A. Valderrama-Aguirre, M. A. Medina-Rivas, and I. K. Jordan, "Ancestry effects on type 2 diabetes genetic risk inference in Hispanic/Latino populations," *BMC Med. Genet.*, vol. 21, no. 2, p. 132, 2020, doi: 10.1186/s12881-020-01068-0.
- [17] B. Costa, "Prevention of type 2 diabetes. What can be done from Primary Care? the experience of DE-PLAN-CAT," *Av. en Diabetol.*, vol. 28, no. 3, pp. 59–63, 2012, doi: 10.1016/j.avdiab.2012.04.004.
- [18] A. Mottalib, M. Kasetty, J. Y. Mar, T. Elseaidy, S. Ashrafzadeh, and O. Hamdy, "Weight Management in Patients with Type 1 Diabetes and Obesity," *Curr. Diab. Rep.*, vol. 17, no. 10, p. 92, 2017, doi: 10.1007/s11892-017-0918-8.
- [19] J. M. Pappachan, C. J. Fernandez, and E. C. Chacko, "Diabesity and antidiabetic drugs," *Mol. Aspects Med.*, vol. 66, pp. 3–12, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.mam.2018.10.004>.
- [20] P. Malakar *et al.*, "Insulin receptor alternative splicing is regulated by insulin signaling and modulates beta cell survival," *Sci. Rep.*, vol. 6, p. 31222, Aug. 2016, doi: 10.1038/srep31222.
- [21] A. M. Angelidi, A. Filippaios, and C. S. Mantzoros, "Severe insulin resistance syndromes," *J. Clin. Invest.*, vol. 131, no. 4, Feb. 2021, doi: 10.1172/JCI142245.
- [22] A. Melvin, S. O'Rahilly, and D. B. Savage, "Genetic syndromes of severe insulin resistance," *Curr. Opin. Genet. Dev.*, vol. 50, pp. 60–67, 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.gde.2018.02.002>.
- [23] A. M. Gómez Medina, *Guía de Práctica Clínica (GPC) para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de la diabetes mellitus tipo 1 en la población mayor de 15 años*, vol. 3, no. 2. 2017.
- [24] M. Viigimaa, A. Sachinidis, M. Toumpourleka, K. Koutsampasopoulos, S. Alliksoo, and T. Titma, "Macrovascular Complications of Type 2 Diabetes Mellitus," *Curr. Vasc. Pharmacol.*, vol. 18, no. 2, pp. 110–116, 2020, doi: 10.2174/1570161117666190405165151.
- [25] T. R. Einarson, A. Acs, C. Ludwig, and U. H. Panton, "Prevalence of cardiovascular disease in type 2 diabetes: a systematic literature review of scientific evidence from across the world in 2007-2017," *Cardiovasc. Diabetol.*, vol. 17, no. 1, p. 83, Jun. 2018, doi: 10.1186/s12933-018-0728-6.
- [26] S. Abedian *et al.*, "Effect of metabolic genetic variants on long-term disease comorbidity in patients with type 2 diabetes," *Sci. Rep.*, vol. 11, no. 1, pp. 1–10, 2021, doi: 10.1038/s41598-021-82276-3.
- [27] Y. Wu, Y. Ding, Y. Tanaka, and W. Zhang, "Risk factors contributing to type 2 diabetes and recent advances in the treatment and prevention," *Int. J. Med. Sci.*, vol. 11, no. 11, pp. 1185–1200, Sep. 2014, doi: 10.7150/ijms.10001.

- [28] R. A. Vigersky, “An overview of management issues in adult patients with type 2 diabetes mellitus,” *J. Diabetes Sci. Technol.*, vol. 5, no. 2, pp. 245–250, Mar. 2011, doi: 10.1177/193229681100500207.
- [29] J. Franch Nadal, M. Mata Cases, and D. Mauricio Puente, “Epidemiología y control clínico de la diabetes mellitus tipo 2 y sus comorbilidades en España (estudio e-Control),” *Med. Clin. (Barc.)*, vol. 147, pp. 1–7, 2016, doi: [https://doi.org/10.1016/S0025-7753\(17\)30618-8](https://doi.org/10.1016/S0025-7753(17)30618-8).
- [30] *American Diabetes Association*. “Diabetes y su diagnóstico,” [Online]. Available: [https://www.diabetes.org/diagnostico#:~:text=graves de diabetes.,La diabetes se diagnostica cuando el nivel de glucosa \(azúcar,igual a 200 mg%2Fdl](https://www.diabetes.org/diagnostico#:~:text=graves de diabetes.,La diabetes se diagnostica cuando el nivel de glucosa (azúcar,igual a 200 mg%2Fdl).
- [31] A. M. Gómez Medina, “Guía de Práctica Clínica (GPC) para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de la diabetes mellitus tipo 1 en la población mayor de 15 años,” 2017.
- [32] American Diabetes Association, “La prueba de A1C y la diabetes,” *Stand. Med. Care Diabetes—2018*, pp. 1–10, 2018.
- [33] S. Ye, P. Ruan, J. Yong, H. Shen, Z. Liao, and X. Dong, “The impact of the HbA1c level of type 2 diabetics on the structure of haemoglobin,” *Sci. Rep.*, vol. 6, pp. 1–8, 2016, doi: 10.1038/srep33352.
- [34] M. J. Picón and F. J. Tinahones, “Factores genéticos frente a factores ambientales en el desarrollo de la diabetes tipo 2: Genetic vs ambient factors in the development of type 2 diabetes,” *Av. en Diabetol.*, vol. 26, no. 4, pp. 268–269, 2010, doi: [https://doi.org/10.1016/S1134-3230\(10\)64013-6](https://doi.org/10.1016/S1134-3230(10)64013-6).
- [35] X. Wang, G. Strizich, Y. Hu, T. Wang, R. C. Kaplan, and Q. Qi, “Genetic markers of type 2 diabetes: Progress in genome-wide association studies and clinical application for risk prediction.,” *J. Diabetes*, vol. 8, no. 1, pp. 24–35, Jan. 2016, doi: 10.1111/1753-0407.12323.
- [36] K. Yu, L. Li, L. Zhang, L. Guo, and C. Wang, “Association between MC4R rs17782313 genotype and obesity: A meta-analysis.,” *Gene*, vol. 733, p. 144372, Apr. 2020, doi: 10.1016/j.gene.2020.144372.
- [37] H. Toplak *et al.*, “„Diabesity“ – Adipositas und Typ-2-Diabetes (Update 2019),” *Wien. Klin. Wochenschr.*, vol. 131, no. 1, pp. 71–76, 2019, doi: 10.1007/s00508-018-1418-9.
- [38] A. C. T. Ng, V. Delgado, B. A. Borlaug, and J. J. Bax, “Diabesity: the combined burden of obesity and diabetes on heart disease and the role of imaging,” *Nat. Rev. Cardiol.*, vol. 18, no. 4, pp. 291–304, 2021, doi: 10.1038/s41569-020-00465-5.
- [39] M. F. Barcones-Molero *et al.*, “The influence of obesity and weight gain on quality of life according to the SF-36 for individuals of the dynamic follow-up cohort of the University of Navarra.,” *Rev. Clin. Esp.*, vol. 218, no. 8, pp. 408–416, Nov. 2018, doi: 10.1016/j.rce.2018.05.005.
- [40] M. A. Ortega *et al.*, “Type 2 Diabetes Mellitus Associated with Obesity (Diabesity). The Central Role of Gut Microbiota and Its Translational Applications,” *Nutrients*, vol.

12, no. 9, p. 2749, Sep. 2020, doi: 10.3390/nu12092749.

- [41] A. Bergmann, J. Li, L. Wang, J. Schulze, S. R. Bornstein, and P. E. H. Schwarz, "A simplified Finnish diabetes risk score to predict type 2 diabetes risk and disease evolution in a German population.," *Horm. Metab. Res. = Horm. und Stoffwechselforsch. = Horm. Metab.*, vol. 39, no. 9, pp. 677–682, Sep. 2007, doi: 10.1055/s-2007-985353.
- [42] J. R. Jiménez-morales, "Implicaciones funcionales de los SNPs en ...espaÑ±ol," *Gac. Med. Mex.*, vol. 153, pp. 238–50, 2017.
- [43] J. Ramírez-Bello, G. Vargas-Alarcón, C. Tovilla-Zárate, and J. M. Fragoso, "Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP): Implicaciones funcionales de los SNP reguladores (rSNP) y de los SNP-ARN estructurales (srSNP) en enfermedades complejas," *Gac. Med. Mex.*, vol. 149, no. 2, pp. 220–228, 2013.
- [44] J. Obsteter, P. Dovc, and T. Kunej, "Genetic variability of microRNA regulome in human," *Mol. Genet. genomic Med.*, vol. 3, no. 1, pp. 30–39, Jan. 2015, doi: 10.1002/mgg3.110.
- [45] V. Ramensky, P. Bork, and S. Sunyaev, "Human non-synonymous SNPs: server and survey," *Nucleic Acids Res.*, vol. 30, no. 17, pp. 3894–3900, Sep. 2002, doi: 10.1093/nar/gkf493.
- [46] M. J. Picón and F. J. Tinahones, "Genetic vs ambient factors in the development of type 2 diabetes," *Av. en Diabetol.*, vol. 26, no. 4, pp. 268–269, 2010, doi: 10.1016/S1134-3230(10)64013-6.
- [47] D. Esparza-castro, F. J. Andrade-ancira, C. A. Merelo-arias, and M. Cruz, "Paper De Diabetes 8," vol. 53, no. 5, 2015.
- [48] S. Faherty, "No Title," *National Human Genome Research Institute*. [Online]. Available: <https://www.genome.gov/news/media-availability/type-2-diabetes-genetics-revealed-in-unprecedented-detail>.
- [49] C. Fuchsberger *et al.*, "The genetic architecture of type 2 diabetes," *Nature*, vol. 536, no. 7614, pp. 41–47, 2016, doi: 10.1038/nature18642.
- [50] S. T. Consortium *et al.*, "Sequence variants in SLC16A11 are a common risk factor for type 2 diabetes in Mexico," *Nature*, vol. 506, no. 7486, pp. 97–101, Feb. 2014, doi: 10.1038/nature12828.
- [51] Y. Kimura *et al.*, "The association between SLC16A11 haplotype and lipid metabolism in Japanese patients with type 2 diabetes," *Drug Metab. Pharmacokinet.*, vol. 37, p. 100376, 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.dmpk.2020.100376>.
- [52] J. M. Mercader and J. C. Florez, "The Genetic Basis of Type 2 Diabetes in Hispanics and Latin Americans: Challenges and Opportunities," *Front. Public Heal.*, vol. 5, 2017, doi: 10.3389/fpubh.2017.00329.

- [53] J. Berumen *et al.*, "Influence of obesity, parental history of diabetes, and genes in type 2 diabetes: A case-control study," *Sci. Rep.*, vol. 9, no. 1, p. 2748, 2019, doi: 10.1038/s41598-019-39145-x.
- [54] L. Bjorkhaug, J. V Sagen, P. Thorsby, O. Sovik, A. Molven, and P. R. Njolstad, "Hepatocyte Nuclear Factor-1 α Gene Mutations and Diabetes in Norway," *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 88, no. 2, pp. 920–931, Feb. 2003, doi: 10.1210/jc.2002-020945.
- [55] S. T. Consortium *et al.*, "Association of a low-frequency variant in HNF1A with type 2 diabetes in a Latino population," *JAMA*, vol. 311, no. 22, pp. 2305–2314, Jun. 2014, doi: 10.1001/jama.2014.6511.
- [56] A. Mahajan *et al.*, "Genome-wide trans-ancestry meta-analysis provides insight into the genetic architecture of type 2 diabetes susceptibility.," *Nat. Genet.*, vol. 46, no. 3, pp. 234–244, Mar. 2014, doi: 10.1038/ng.2897.
- [57] T. Das Aka *et al.*, "Risk of type 2 diabetes mellitus and cardiovascular complications in KCNJ11, HHEX and SLC30A8 genetic polymorphisms carriers: A case-control study," *Heliyon*, vol. 7, no. 11, p. e08376, 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08376>.
- [58] O. S. Ahmad *et al.*, "A Mendelian randomization study of the effect of type-2 diabetes on coronary heart disease," *Nat. Commun.*, vol. 6, no. 1, p. 7060, 2015, doi: 10.1038/ncomms8060.
- [59] H. Jia, L. Yu, Z. Jiang, and Q. Ji, "Association Between IGF2BP2 rs4402960 Polymorphism and Risk of Type 2 Diabetes Mellitus: A Meta-analysis," *Arch. Med. Res.*, vol. 42, no. 5, pp. 361–367, 2011, doi: <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2011.08.001>.
- [60] F. H. Naser *et al.*, "Association of CDKAL1 gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus in a sample of Iraqi population," *Gene Reports*, vol. 25, p. 101371, 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2021.101371>.
- [61] J. Dupuis *et al.*, "New genetic loci implicated in fasting glucose homeostasis and their impact on type 2 diabetes risk," *Nat. Genet.*, vol. 42, no. 2, pp. 105–116, 2010, doi: 10.1038/ng.520.
- [62] K. Yuasa, N. Aoki, and T. Hijikata, "JAZF1 promotes proliferation of C2C12 cells, but retards their myogenic differentiation through transcriptional repression of MEF2C and MRF4—Implications for the role of Jazf1 variants in oncogenesis and type 2 diabetes," *Exp. Cell Res.*, vol. 336, no. 2, pp. 287–297, 2015, doi: <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2015.06.009>.
- [63] J. V van Vliet-Ostaptchouk *et al.*, "HHEX gene polymorphisms are associated with type 2 diabetes in the Dutch Breda cohort," *Eur. J. Hum. Genet.*, vol. 16, no. 5, pp. 652–656, 2008, doi: 10.1038/sj.ejhg.5202008.
- [64] B. Bankura, A. K. Pattanayak, S. Ghosh, S. Guria, A. Sinha, and M. Das, "Implication of KCNJ11 and TCF7L2 gene variants for the predisposition of type 2 diabetes mellitus in West Bengal, India," *Diabetes Epidemiol. Manag.*, vol. 6, p. 100066, 2022,

doi: <https://doi.org/10.1016/j.deman.2022.100066>.

- [65] Y. Ren, W. Zhu, J. Shi, A. Shao, Y. Cheng, and Y. Liu, "Association between KCNJ11 E23K polymorphism and the risk of type 2 diabetes mellitus: A global meta-analysis," *J. Diabetes Complications*, p. 108170, 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2022.108170>.
- [66] S. Afshardoost, N. Sarhangi, M. Afshari, H. R. Aghaei Meybodi, and M. Hasanzad, "The influence of a genetic variant in the KCNQ1 gene on type 2 diabetes mellitus development," *Gene Reports*, vol. 17, p. 100529, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2019.100529>.
- [67] S. U. Shahid, and S. Hasnain, "Use of a gene score of multiple low-modest effect size variants can predict the risk of obesity better than the individual SNPs," *Lipids Health Dis.*, vol. 17, no. 1, p. 155, Jul. 2018, doi: [10.1186/s12944-018-0806-5](https://doi.org/10.1186/s12944-018-0806-5).
- [68] X. Y. Bao, C. Xie, and M. S. Yang, "Association between Type 2 Diabetes and CDKN2A/B: a meta-analysis study," *Mol. Biol. Rep.*, vol. 39, no. 2, pp. 1609–1616, 2012, doi: [10.1007/s11033-011-0900-5](https://doi.org/10.1007/s11033-011-0900-5).
- [69] S. Ali, S. Nafis, P. Kalaiarasan, E. Rai, S. Sharma, and R. N. Bamezai, "Understanding Genetic Heterogeneity in Type 2 Diabetes by Delineating Physiological Phenotypes: SIRT1 and its Gene Network in Impaired Insulin Secretion," *Rev. Diabet. Stud.*, vol. 13, no. 1, pp. 17–34, 2016, doi: [10.1900/RDS.2016.13.17](https://doi.org/10.1900/RDS.2016.13.17).
- [70] V. Lyssenko *et al.*, "Clinical Risk Factors, DNA Variants, and the Development of Type 2 Diabetes," *N. Engl. J. Med.*, vol. 359, no. 21, pp. 2220–2232, 2008, doi: [10.1056/nejmoa0801869](https://doi.org/10.1056/nejmoa0801869).
- [71] L. Richards, "Genetic risk factors in type 2 diabetes mellitus," *Nat. Rev. Endocrinol.*, vol. 5, no. 8, p. 414, 2009, doi: [10.1038/nrendo.2009.117](https://doi.org/10.1038/nrendo.2009.117).
- [72] L. J. Scott *et al.*, "The genetic regulatory signature of type 2 diabetes in human skeletal muscle," *Nat. Commun.*, vol. 7, 2016, doi: [10.1038/ncomms11764](https://doi.org/10.1038/ncomms11764).
- [73] P. D. Sorlie *et al.*, "Design and implementation of the Hispanic Community Health Study/Study of Latinos.," *Ann. Epidemiol.*, vol. 20, no. 8, pp. 629–641, Aug. 2010, doi: [10.1016/j.annepidem.2010.03.015](https://doi.org/10.1016/j.annepidem.2010.03.015).
- [74] A. T. Chande *et al.*, "Influence of genetic ancestry and socioeconomic status on type 2 diabetes in the diverse Colombian populations of Chocó and Antioquia," *Sci. Rep.*, vol. 7, no. 1, p. 17127, Dec. 2017, doi: [10.1038/s41598-017-17380-4](https://doi.org/10.1038/s41598-017-17380-4).
- [75] J. C. Florez *et al.*, "Strong association of socioeconomic status with genetic ancestry in Latinos: implications for admixture studies of type 2 diabetes.," *Diabetologia*, vol. 52, no. 8, pp. 1528–1536, Aug. 2009, doi: [10.1007/s00125-009-1412-x](https://doi.org/10.1007/s00125-009-1412-x).
- [76] B. A. Hidalgo *et al.*, "Associations between SLC16A11 variants and diabetes in the Hispanic Community Health Study/Study of Latinos (HCHS/SOL)," *Sci. Rep.*, vol. 9,

- no. 1, p. 843, Jan. 2019, doi: 10.1038/s41598-018-35707-7.
- [77] Y. Zhao *et al.*, “Gain-of-Function Mutations of SLC16A11 Contribute to the Pathogenesis of Type 2 Diabetes,” *Cell Rep.*, vol. 26, no. 4, pp. 884-892.e4, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.12.100>.
- [78] J. E. Larrahondo Aguilar, J. A. Mora Vargas, and E. M. Rodríguez Puertas, *Azúcares: conceptos básicos de la química de los carbohidratos / Jesús Eliecer Larrahondo A., Jorge Andrés Mora Vargas, Elkin Mauricio Rodríguez Puertas*. 2017.
- [79] L. Franco-Hincapié *et al.*, “Asociación de variantes en genes de las proteínas desacoplantes con diabetes mellitus tipo 2 en una población del nordeste colombiano,” *Biomédica*, vol. 29, no. 1, p. 108, 2009, doi: 10.7705/biomedica.v29i1.46.
- [80] W. Wen *et al.*, “Meta-analysis identifies common variants associated with body mass index in east Asians,” *Nat. Genet.*, vol. 44, no. 3, pp. 307–311, Feb. 2012, doi: 10.1038/ng.1087.
- [81] I. M. Heid *et al.*, “Meta-analysis identifies 13 new loci associated with waist-hip ratio and reveals sexual dimorphism in the genetic basis of fat distribution,” *Nat. Genet.*, vol. 42, no. 11, pp. 949–960, Nov. 2010, doi: 10.1038/ng.685.
- [82] Ali samadikuchaksaraei, Ed., *Polymerase chain reaction for biomedical applications*. Rijeka, 2016.
- [83] J. manuel M. Lopez and A. Cepeda, Eds., *Fats and associated compounds*, Royal soci. United Kingdom, 2022.
- [84] A. T. Kraja *et al.*, “A bivariate genome-wide approach to metabolic syndrome: STAMPEED consortium,” *Diabetes*, vol. 60, no. 4, pp. 1329–1339, Apr. 2011, doi: 10.2337/db10-1011.
- [85] J. C. Randall *et al.*, “Sex-stratified genome-wide association studies including 270,000 individuals show sexual dimorphism in genetic loci for anthropometric traits,” *PLoS Genet.*, vol. 9, no. 6, pp. e1003500–e1003500, Jun. 2013, doi: 10.1371/journal.pgen.1003500.
- [86] E. K. Speliotes *et al.*, “Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index,” *Nat. Genet.*, vol. 42, no. 11, pp. 937–948, Nov. 2010, doi: 10.1038/ng.686.
- [87] K. Wang *et al.*, “A genome-wide association study on obesity and obesity-related traits,” *PLoS One*, vol. 6, no. 4, pp. e18939–e18939, Apr. 2011, doi: 10.1371/journal.pone.0018939.
- [88] R. J. F. Loos and C. Bouchard, “FTO: the first gene contributing to common forms of human obesity.,” *Obes. Rev. an Off. J. Int. Assoc. Study Obes.*, vol. 9, no. 3, pp. 246–250, May 2008, doi: 10.1111/j.1467-789X.2008.00481.x.
- [89] T. O. Kilpeläinen *et al.*, “Physical activity attenuates the influence of FTO variants on obesity risk: a meta-analysis of 218,166 adults and 19,268 children,” *PLoS Med.*, vol. 8, no. 11, pp. e1001116–e1001116, Nov. 2011, doi: 10.1371/journal.pmed.1001116.

- [90] W. T. Friedewald, R. I. Levy, and D. S. Fredrickson, "Estimation of the Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, Without Use of the Preparative Ultracentrifuge," *Clin. Chem.*, vol. 18, no. 6, pp. 499–502, Jun. 1972, doi: 10.1093/clinchem/18.6.499.
- [91] "Patia diabetes." [Online]. Available: <https://www.patiadiabetes.com/>.
- [92] D. Peña, *Daniel Peña Fundamentos de Estadística Alianza Editorial*. 2014.
- [93] Ministerio de Salud y Protección Social-Colciencias, *Guía de práctica clínica: Hipertensión arterial primaria (HTA)*, vol. 18, no. 18. 2013.
- [94] "Organización Mundial de la Salud." [Online]. Available: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
- [95] Y. Lu *et al.*, "Metabolic mediators of the effects of body-mass index, overweight, and obesity on coronary heart disease and stroke: A pooled analysis of 97 prospective cohorts with 1·8 million participants," *Lancet*, vol. 383, no. 9921, pp. 970–983, 2014, doi: 10.1016/S0140-6736(13)61836-X.
- [96] C. M. Lakhani, B. T. Tierney, A. K. Jian, M. Pate *et al.*, HHS Public Access, " *Physiol. Behav.*, vol. 176, no. 3, pp. 139–148, 2019, doi: 10.1038/s41588-017-0011-x.Users.
- [97] Y. Gil-Rojas *et al.*, "Burden of Disease Attributable to Obesity and Overweight in Colombia," *Value Heal. Reg. Issues*, vol. 20, no. 40, pp. 66–72, 2019, doi: 10.1016/j.vhri.2019.02.001.
- [98] C. M. López De Fez, M. T. Gaztelu, T. Rubio, and A. Castaño, "Mecanismos de hipertensión en obesidad," *An. Sist. Sanit. Navar.*, vol. 27, no. 2, pp. 211–219, 2004, doi: 10.4321/s1137-66272004000300006.
- [99] G. Seravalle and G. Grassi, "Obesity and hypertension," *Pharmacol. Res.*, vol. 122, pp. 1–7, 2017, doi: 10.1016/j.phrs.2017.05.013.
- [100] R. Buendía, M. Zambrano, Á. Díaz, A. Reino, J. Ramírez, and E. Espinosa, "Puntos de corte de perímetro de cintura para el diagnóstico de obesidad abdominal en población colombiana usando bioimpedanciometría como estándar de referencia," *Rev. Colomb. Cardiol.*, vol. 23, no. 1, pp. 19–25, 2016, doi: <https://doi.org/10.1016/j.rccar.2015.07.011>.
- [101] J. A. Gallo Villegas, J. E. Ochoa Múnera, J. K. Balparda Arias, and D. Aristizábal Ocampo, "Puntos de corte del perímetro de la cintura para identificar sujetos con resistencia a la insulina en una población colombiana," *Acta Médica Colomb.*, vol. 38, no. 3, pp. 118–126, 2013, doi: 10.36104/amc.2013.73.
- [102] M. Stepień *et al.*, "Waist circumference, ghrelin and selected adipose tissue-derived adipokines as predictors of insulin resistance in obese patients: Preliminary results," *Med. Sci. Monit.*, vol. 17, no. 11, pp. 13–18, 2011, doi: 10.12659/msm.882030.
- [103] S. H. Kim and F. Abbasi, "Myths about insulin resistance: Tribute to Gerald Reaven,"

- Endocrinol. Metab.*, vol. 34, no. 1, pp. 47–52, 2019, doi: 10.3803/EnM.2019.34.1.47.
- [104] A. M. Nevill, M. J. Duncan, and T. Myers, “BMI is dead; long live waist-circumference indices: But which index should we choose to predict cardio-metabolic risk?,” *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, 2022, doi: 10.1016/j.numecd.2022.04.003.
- [105] J. C. Aristizábal and A. Giraldo, “Comparación de la composición corporal de mujeres jóvenes obtenida por hidrodensitometría y tres técnicas de bioimpedancia,” *Iatreia*, vol. 30, no. 3, pp. 255–264, 2017, doi: 10.17533/udea.iatreia.v30n3a01.
- [106] H. OMRON, “Manual de instrucciones Balanza de control corporal Antes de usar la balanza Cuidado y mantenimiento,” 2014.
- [107] K. Duda, J. Majerczak, Z. Nieckarz, S. B. Heymsfield, and J. A. Zoladz, “Chapter 1 - Human Body Composition and Muscle Mass,” Ed. Academic Press, 2019, pp. 3–26.
- [108] N. Sukkriang, W. Chanprasertpinyo, A. Wattanapisit, C. Punsawad, N. Thamrongrat, and S. Sangpoom, “Correlation of body visceral fat rating with serum lipid profile and fasting blood sugar in obese adults using a noninvasive machine,” *Heliyon*, vol. 7, no. 2, p. e06264, 2021, doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e06264.
- [109] A. I. García, L. Niño-Silva, K. González-Ruiz, and R. Ramírez-Vélez, “Volumen de grasa visceral como indicador de obesidad en hombres adultos,” *Rev. Colomb. Cardiol.*, vol. 23, no. 4, pp. 313–320, 2016, doi: <https://doi.org/10.1016/j.rccar.2015.12.009>.
- [110] M. del P. Barrera, A. E. Pinilla, L. M. Caicedo, Y. M. Castillo, Y. M. Lozano, and K. M. Rodríguez, “Factores de riesgos alimentarios y nutricionales en adultos con diabetes mellitus.,” *Rev. la Fac. Med. Vol. 60, num. 1 Supl. S28-40 2357-3848 0120-0011*, 2012.
- [111] F. Masanés Torán, M. Navarro López, E. Sacanella Meseguer, and A. López Soto, “¿Qué es la sarcopenia?,” *Semin. la Fund. Esp. Reumatol.*, vol. 11, no. 1, pp. 14–23, 2010, doi: 10.1016/j.semreu.2009.10.003.
- [112] Ministerio de salud y proteccion social, “Guía de práctica clínica en la población mayor de 18 años,” *Inst. evaluaciones Tecnol. en salud*, no. 27, 2014.
- [113] V. Ormazabal, S. Nair, O. Elfeky, C. Aguayo, C. Salomon, and F. A. Zuñiga, “Association between insulin resistance and the development of cardiovascular disease,” *Cardiovasc. Diabetol.*, vol. 17, no. 1, p. 122, Aug. 2018, doi: 10.1186/s12933-018-0762-4.
- [114] C. Sisniegas-Vergara and C. Ríos-Vásquez, “Limitación de la movilidad articular de la mano y ateromatosis carotídea en diabéticos tipo 2,” *Rev. del Cuerpo Médico del HNAAA*, vol. 12, no. 4, pp. 283–290, 2020, doi: 10.35434/rcmhnaaa.2019.124.561.
- [115] D. Ibarretxe and L. Masana, “Metabolismo de los triglicéridos y clasificación de las hipertrigliceridemias,” *Clínica e Investig. en Arterioscler.*, vol. 33, pp. 1–6, 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.arteri.2021.02.004>.
- [116] A. E. Pinilla-Roa, M. D. P. Barrera-Perdomo, and M. del P. Barrera-Perdomo, “Prevención en diabetes mellitus y riesgo cardiovascular: enfoque médico y

- nutricional,” *Rev. la Fac. Med.*, vol. 66, no. 3, pp. 459–468, Jul. 2018, doi: 10.15446/revfacmed.v66n3.60060.
- [117] M. E. Campos Aldrete, “Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas: Editorial,” *Rev. Mex. Ciencias Farm.*, vol. 41, no. 3, p. 5, 2010.
- [118] P. A. Camacho *et al.*, “The spectrum of the dyslipidemia in Colombia: The PURE study,” *Int. J. Cardiol.*, vol. 284, pp. 111–117, 2019, doi: 10.1016/j.ijcard.2018.10.090.
- [119] M. Blasco and J. F. Ascaso, “Control del perfil lipídico global,” *Clínica e Investig. en Arterioscler.*, vol. 31, pp. 34–41, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.arteri.2019.10.002>.
- [120] D. S. Kunstmann F. and D. D. Gainza K., “enfermedad cardiovascular en la mujer: fisiopatología, presentación clínica, factores de riesgo, terapia hormonal y pruebas diagnósticas,” *Rev. Médica Clínica Las Condes*, vol. 26, no. 2, pp. 127–132, 2015, doi: <https://doi.org/10.1016/j.rmclc.2015.04.001>.
- [121] J. C. Fernández-Macías, A. C. Ochoa-Martínez, J. A. Varela-Silva, and I. N. Pérez-Maldonado, “Atherogenic Index of Plasma: Novel Predictive Biomarker for Cardiovascular Illnesses,” *Arch. Med. Res.*, vol. 50, no. 5, pp. 285–294, Jul. 2019, doi: 10.1016/j.arcmed.2019.08.009.
- [122] J. Millán *et al.*, “Cocientes lipoproteicos: significado fisiológico y utilidad clínica de los índices aterogénicos en prevención cardiovascular,” *Clínica e Investig. en Arterioscler.*, vol. 22, no. 1, pp. 25–32, 2010, doi: [https://doi.org/10.1016/S0214-9168\(10\)70005-X](https://doi.org/10.1016/S0214-9168(10)70005-X).
- [123] A. Y. Baioumi, “Chapter 3 - Comparing Measures of Obesity: Waist Circumference, Waist-Hip, and Waist-Height Ratios,” (Second E. Watson, Ed. Academic Press, 2019, pp. 29–40.
- [124] S. Anoop *et al.*, “The waist-height ratio is a potential anthropometric index of insulin resistance: Observations based on oral glucose tolerance test in lean, normoglycaemic, Asian Indian males from Southern India,” *Clin. Epidemiol. Glob. Heal.*, vol. 11, no. October 2020, p. 100762, 2021, doi: 10.1016/j.cegh.2021.100762.
- [125] F. Valle, “Ciencias de la salud,” *Historia Santiago.*, vol. 5, p. 7, 2012.
- [126] J. Carranza-Madrigal, “Triglicéridos y riesgo cardiovascular,” *Med. Interna Mex.*, vol. 33, no. 4, pp. 511–514, 2017.
- [127] F. Soriguer *et al.*, “Validación del FINDRISC (FINnish Diabetes Risk SCORE) para la predicción del riesgo de diabetes tipo 2 en una población del sur de España. Estudio Pizarra,” *Med. Clin. (Barc.)*, vol. 138, no. 9, pp. 371–376, 2012, doi: 10.1016/j.medcli.2011.05.025.
- [128] M. Guardiola *et al.*, “APOA5 variants predispose hyperlipidemic patients to atherogenic dyslipidemia and subclinical atherosclerosis,” *Atherosclerosis*, vol.

- 240, no. 1, pp. 98–104, May 2015, doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.03.008.
- [129] M. Sotos-Prieto, F. Francés, and D. Corella, “[Impact of apolipoprotein A5 on cardiovascular risk. Genetic and environmental modulation].,” *Rev. Med. Chil.*, vol. 138, no. 7, pp. 868–880, Jul. 2010, doi: 10.4067/s0034-98872010000700013.
- [130] S. Rana and A. Sultana, “Association of the Variant rs7561317 Downstream of the TMEM18 Gene with Overweight/Obesity and Related Anthropometric Traits in a Sample of Pakistani Population,” *Biochem. Genet.*, vol. 58, no. 2, pp. 257–278, 2020, doi: 10.1007/s10528-019-09940-2.
- [131] J. R. Speakman, “Functional analysis of seven genes linked to body mass index and adiposity by genome-wide association studies: a review.,” *Hum. Hered.*, vol. 75, no. 2–4, pp. 57–79, 2013, doi: 10.1159/000353585.
- [132] C. J. Willer *et al.*, “Six new loci associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation,” *Nat. Genet.*, vol. 41, no. 1, pp. 25–34, Jan. 2009, doi: 10.1038/ng.287.
- [133] R. Gutierrez-Aguilar *et al.*, “The obesity-associated transcription factor ETV5 modulates circulating glucocorticoids,” *Physiol. Behav.*, vol. 150, pp. 38–42, Oct. 2015, doi: 10.1016/j.physbeh.2015.03.027.
- [134] B. F. Palmer and R. J. Alpern, “CHAPTER 12 - Metabolic Acidosis,” J. Floege, R. J. Johnson, and J. B. T.-C. C. N. (Fourth E. Feehally, Eds. Philadelphia: Mosby, 2010, pp. 155–166.
- [135] K. S. Burgdorf *et al.*, “Association studies of novel obesity-related gene variants with quantitative metabolic phenotypes in a population-based sample of 6,039 Danish individuals,” *Diabetologia*, vol. 55, no. 1, pp. 105–113, 2012, doi: 10.1007/s00125-011-2320-4.
- [136] D. Albuquerque *et al.*, “Association study of six single nucleotide polymorphisms with obesity in two independent Iberian samples,” *Meta Gene*, vol. 17, pp. 17–22, 2018, doi: <https://doi.org/10.1016/j.mgene.2018.04.006>.
- [137] S. Farooq, S. Rana, A. J. Siddiqui, A. Iqbal, and S. G. Musharraf, “Association of metabolites with obesity based on two gene variants, MC4R rs17782313 and BDNF rs6265,” *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis.*, vol. 1867, no. 7, p. 166144, 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2021.166144>.
- [138] C. Ricci *et al.*, “The impact of CPT1B rs470117, LEPR rs1137101 and BDNF rs6265 polymorphisms on the risk of developing obesity in an Italian population,” *Obes. Res. Clin. Pract.*, vol. 15, no. 4, pp. 327–333, 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.orcp.2021.06.008>.
- [139] S.-W. Oh *et al.*, “Genome-wide association study of metabolic syndrome in Korean populations,” *PloS one*, vol. 15, no. 1. Department of Family Medicine, Healthcare System Gangnam Center, Seoul National University Hospital, Seoul, South Korea., p. e0227357, 2020, doi: 10.1371/journal.pone.0227357.
- [140] J. F. Felix *et al.*, “Genome-wide association analysis identifies three new susceptibility loci for childhood body mass index,” *Hum. Mol. Genet.*, vol. 25, no. 2,

- pp. 389–403, Jan. 2016, doi: 10.1093/hmg/ddv472.
- [141] A. Ribas-Latre and K. Eckel-Mahan, “Interdependence of nutrient metabolism and the circadian clock system: Importance for metabolic health.,” *Mol. Metab.*, vol. 5, no. 3, pp. 133–152, Mar. 2016, doi: 10.1016/j.molmet.2015.12.006.
- [142] P. Riestra *et al.*, “Circadian CLOCK gene polymorphisms in relation to sleep patterns and obesity in African Americans: findings from the Jackson heart study.,” *BMC Genet.*, vol. 18, no. 1, p. 58, Jun. 2017, doi: 10.1186/s12863-017-0522-6.
- [143] P. G. de Azevedo *et al.*, “Genetic association of the PERIOD3 (PER3) Clock gene with extreme obesity,” *Obes. Res. Clin. Pract.*, vol. 15, no. 4, pp. 334–338, 2021, doi: <https://doi.org/10.1016/j.orcp.2021.06.006>.
- [144] C. Andrade, “Understanding relative risk, odds ratio, and related terms: as simple as it can get.,” *J. Clin. Psychiatry*, vol. 76, no. 7, pp. e857-61, Jul. 2015, doi: 10.4088/JCP.15f10150.
- [145] M. Majid, A. Masood, S. A. Kadla, I. Hameed, and B. A. Ganai, “Association of Pro12Ala Polymorphism of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma 2 (PPARγ2) Gene with Type 2 Diabetes Mellitus in Ethnic Kashmiri Population,” *Biochem. Genet.*, vol. 55, no. 1, pp. 10–21, 2017, doi: 10.1007/s10528-016-9765-6.
- [146] I. M. Heid *et al.*, “Meta-analysis identifies 13 new loci associated with waist-hip ratio and reveals sexual dimorphism in the genetic basis of fat distribution,” *Nat. Genet.*, vol. 42, no. 11, pp. 949–960, 2010, doi: 10.1038/ng.685.
- [147] Z. H. Hoo, J. Candlish, and D. Teare, “What is an ROC curve?,” *Emergency medicine journal: EMJ*, vol. 34, no. 6. England, pp. 357–359, Jun-2017, doi: 10.1136/emered-2017-206735.
- [148] P. A. English, J. A. Williams, J.-F. Martini, R. J. Motzer, O. Valota, and R. E. Buller, “A case for the use of receiver operating characteristic analysis of potential clinical efficacy biomarkers in advanced renal cell carcinoma,” *Future Oncol.*, vol. 12, no. 2, pp. 175–182, Jan. 2016, doi: 10.2217/fon.15.290.
- [149] D. W. Belsky *et al.*, “Development and evaluation of a genetic risk score for obesity,” *Biodemography Soc. Biol.*, vol. 59, no. 1, pp. 85–100, 2013, doi: 10.1080/19485565.2013.774628.
- [150] A. N. Kamarudin, T. Cox, and R. Kolamunnage-Dona, “Time-dependent ROC curve analysis in medical research: current methods and applications,” *BMC Med. Res. Methodol.*, vol. 17, no. 1, p. 53, Apr. 2017, doi: 10.1186/s12874-017-0332-6.
- [151] C. H. Sandholt *et al.*, “Combined analyses of 20 common obesity susceptibility variants,” *Diabetes*, vol. 59, no. 7, pp. 1667–1673, Jul. 2010, doi: 10.2337/db09-1042.
- [152] F. Renström *et al.*, “Replication and extension of genome-wide association study results for obesity in 4923 adults from northern Sweden,” *Hum. Mol. Genet.*, vol. 18,

- no. 8, pp. 1489–1496, Apr. 2009, doi: 10.1093/hmg/ddp041.
- [153] M. Seral-Cortes *et al.*, “Development of a Genetic Risk Score to predict the risk of overweight and obesity in European adolescents from the HELENA study,” *Sci. Rep.*, vol. 11, no. 1, p. 3067, Feb. 2021, doi: 10.1038/s41598-021-82712-4.
- [154] M. Alfaifi, “Interaction between rs6446482 polymorphisms in the WFS1 gene in type 2 diabetes patients,” *J. King Saud Univ. - Sci.*, vol. 34, no. 1, p. 101721, 2022, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101721>.
- [155] M. G. Domínguez-Cruz *et al.*, “Maya gene variants related to the risk of type 2 diabetes in a family-based association study,” *Gene*, vol. 730, no. May 2019, p. 144259, 2020, doi: 10.1016/j.gene.2019.144259.
- [156] Z. Elek *et al.*, “Micro-RNA binding site polymorphisms in the WFS1 gene are risk factors of diabetes mellitus,” *PLoS One*, vol. 10, no. 10, p. 139519, 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0139519.
- [157] J. Li, X. Niu, J. Li, and Q. Wang, “Association of PPARG Gene Polymorphisms Pro12Ala with Type 2 Diabetes Mellitus: A Meta-analysis.,” *Curr. Diabetes Rev.*, vol. 15, no. 4, pp. 277–283, 2019, doi: 10.2174/1573399814666180912130401.
- [158] S. Cataldi, V. Costa, A. Ciccodicola, and M. Aprile, “PPAR γ and Diabetes: Beyond the Genome and Towards Personalized Medicine,” *Curr. Diab. Rep.*, vol. 21, no. 6, p. 18, 2021, doi: 10.1007/s11892-021-01385-5.
- [159] L. Hashemian, N. Sarhangi, M. Afshari, H. R. Aghaei Meybodi, and M. Hasanzad, “The role of the PPARG (Pro12Ala) common genetic variant on type 2 diabetes mellitus risk.,” *J. Diabetes Metab. Disord.*, vol. 20, no. 2, pp. 1385–1390, Dec. 2021, doi: 10.1007/s40200-021-00872-6.
- [160] D. A. Chistiakov, V. A. Potapov, D. S. Khodirev, M. S. Shamkhalova, M. V. Shestakova, and V. V. Nosikov, “The PPAR γ Pro12Ala variant is associated with insulin sensitivity in Russian normoglycaemic and type 2 diabetic subjects,” *Diabetes Vasc. Dis. Res.*, vol. 7, no. 1, pp. 56–62, Oct. 2009, doi: 10.1177/1479164109347689.
- [161] D. S. Avzaletdinova, L. F. Sharipova, O. V. Kochetova, T. V. Morugova, V. V. Erdman, and O. E. Mustafina, “Association of variable rs1801282 locus of PPARG2 gene with diabetic nephropathy,” *Russ. J. Genet.*, vol. 52, no. 8, pp. 877–881, 2016, doi: 10.1134/S1022795416080032.
- [162] S. Bakhshab *et al.*, “The Effect Sizes of PPAR γ rs1801282, FTO rs9939609, and MC4R rs2229616 Variants on Type 2 Diabetes Mellitus Risk among the Western Saudi Population: A Cross-Sectional Prospective Study,” *Genes (Basel)*, vol. 11, no. 1, p. 98, Jan. 2020, doi: 10.3390/genes11010098.

Anexo I a. Aprobación Comité de ética



Secretaría Técnica
Comité Autonómico de Ética da Investigación de Galicia
Secretaría Xeral, Consellería de Sanidade
Edificio Administrativo San Lázaro
15703 SANTIAGO DE COMPOSTELA
Tel: 881546425. Correo-e: ceic@sergas.es



DICTAMEN DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN DE SANTIAGO-LUGO

Cristina Márquez Riveras, Secretaria del Comité de Ética de la Investigación de Santiago-Lugo,

CERTIFICA:

Que este Comité evaluó en su reunión del día 20/09/18 el estudio:


Título: Obesidad y diabetes en Iberoamérica: factores de riesgo y nuevos biomarcadores patógenos y predictivos
Versión: Versión 2 de 31 de julio de 2018 y HIP al participante versión 1 de 22 de junio de 2018 y consentimiento informado versión 1 de 22 de junio de 2018 y consentimiento informado ANTE TESTIGOS versión 0 de 22 de junio de 2018 (castellano y gallego)
Promotor/a: Alberto Cepeda Sáez
Investigador/a: Alberto Cepeda Sáez
Código de Registro: 2018/270

Y que este Comité, tomando en consideración la pertinencia del estudio, el conocimiento disponible, los requisitos legales aplicables y los Procedimientos Normalizados de Trabajo del Comité, emite un dictamen **FAVORABLE** para la realización del citado estudio.



Documento firmado digitalmente por:
Márquez Riveras, Cristina: 25/09/2018 15:11
J4C4-BOAH-OFC3-4215-3788-1091-674

Anexo I b Aval del comité de ética Universidad Nacional



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA
SEDE BOGOTÁ

COMITÉ DE ÉTICA **FACULTAD DE
CIENCIAS**

Bogotá, marzo 04 de 2019

Profesora
Martha Nancy Calderón Ozuna
Departamento de Química

Respetada Profesora:

Atentamente le comunico que el Comité de Ética de la Facultad de Ciencias, en reunión realizada el día 04 de marzo de 2019 (Acta 02-2019), evaluó aspectos éticos del proyecto presentado por usted. Como resultado de esta revisión, el Comité considera que el proyecto **cumple** con los aspectos éticos básicos. Para los fines pertinentes, se transcriben las observaciones y el concepto final.

P1: Proyecto / Investigadores – Grupos – Dependencias / Observaciones.
Proyecto: Obesidad y diabetes en Iberoamérica: Factores de riesgo y nuevos biomarcadores patogénicos y predictivos.
Red IBEROBDIAN (España, Méjico, Colombia, Chile y Argentina).


Responsables. Investigadores en la Universidad Nacional de Colombia: **Martha Nancy Calderón Ozuna** (Grupo de Investigación Bioquímica y Biología Molecular de las Micobacterias, Facultad de Ciencias). Facultad de Medicina: Luz Helena Aranzález (Grupo de Investigación Nutrición y Hormonas) y los Estudiantes Julieth Daniela Buell Acosta, Haiver Antonio Rodríguez Navarro y Lida Marcela Calcedo Torres.

Observaciones:
Tipo de estudio. Identificación de nuevos marcadores biológicos para predicción y diagnóstico de diabetes mellitus tipo II (DM2), mediante tratamiento masivo de datos, en países iberoamericanos. Se aplicarán encuestas a población adulta (40 a 70 años de edad) para tomar datos socioeconómicos, demográficos, de antecedentes familiares, nutricionales. Se harán medidas antropométricas y valoraciones clínicas de rutina. Se obtendrán para análisis muestras de sangre, saliva heces y orina.

Los principales **aspectos éticos, legales y ambientales** a tener en cuenta por los investigadores están relacionados con:

1. **Protocolos de bioseguridad.** BPL y sistema institucional de gestión ambiental.
2. **Guías y pautas normativas.** Protocolos de Consentimiento Informado: autorización para la toma y análisis de muestras biológicas (sangre, saliva, orina heces).
3. Protección de los desarrollos y cumplimiento de normativas sobre **propiedad intelectual.** Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional de Colombia.
4. El proyecto macro cuenta con aval del Comité Territorial de Ética de la Investigación de Santiago-Lugo (Galicia, España): Acta del 20 de septiembre de 2018.

Concepto: Proyecto Avalado.



LUIS FERNANDO OSPINA GIRALDO
Coordinador Comité de Ética

2

Carretera 30 No. 45-03, FACULTAD DE CIENCIAS, Edificio 450, 4º piso, Oficina 400
Commutador: (57-1) 318 5000 Ext. 14666
Correo electrónico: fospinag@unal.edu.co / Bogotá, Colombia, Sur América

Anexo II Consentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO

OBESIDAD Y DIABETES EN IBEROAMÉRICA: FACTORES DE RIESGO Y NUEVOS BIOMARCADORES PATOGENICOS Y PREDICTIVOS

Proyecto desarrollado por los países integrantes de la RED IBEROBDIAN (España, México, Argentina, Chile y Colombia)

INVESTIGADORES EN COLOMBIA: Martha Nancy Calderón Ozuna (Grupo de investigación Bioquímica y Biología Molecular de las Micobacterias) y Luz Helena Aranzález Ramírez (Grupo de Investigación Nutrición y Hormonas de la División de Lípidos y Diabetes).

ENTIDAD: Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá, Departamento de Química – Facultad de Ciencias y Departamento de Fisiología – Facultad de Medicina.

OBJETIVO: La intención de este proyecto es identificar nuevos marcadores biológicos para la predicción y diagnóstico de la diabetes tipo 2 (DM2), mediante herramientas de tratamiento masivo de datos, en países Iberoamericanos.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA: Para llevar a cabo este estudio, se necesita obtener datos y muestras de la población Iberoamericana en general: Se considera que el voluntario debe cumplir con los siguientes requisitos:

- (1) Nacionalidad Colombiana y ser mayor de edad.

- (2) Edad entre 40 – 70 años
- (3) No estar en embarazo
- (4) Firmar este documento de Consentimiento Informado.

INFORMACIÓN DE INTERÉS PARA LOS PARTICIPANTES

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y la obesidad son enfermedades metabólicas de alta prevalencia en el mundo. Las complicaciones vasculares son las manifestaciones más graves de la DM2; la aterosclerosis tiene una directa relación con las enfermedades cardiovasculares; la nefropatía, la retinopatía y neuropatía diabética son complicaciones que se desarrollan a mayor plazo. En los adultos mayores además de las complicaciones microvasculares (que incluyen amputaciones de las extremidades inferiores) y las cardiovasculares, se ha documentado como causa de mortalidad incidentes hiperglucémicos e hipoglicémicos fulminantes, que demandan intensificar los esfuerzos en investigación científica. Existe una población que puede desarrollar DM2 sin síntomas, de éstos el 20% son diagnosticados cuando se manifiestan las complicaciones, como la retinopatía, o falla cardíaca sin previo aviso. Investigaciones recientes han relacionado alteraciones de la microbiota intestinal con estas patologías. En el actual estudio se pretende ampliar el conocimiento de la DM2 y la obesidad desde las relaciones genéticas, metabólicas, hormonales y su asociación con las alteraciones de la microbiota intestinal.

Procedimientos que se van a usar:

- (1) Se realizará una encuesta nutricional y se interrogará al participante por datos socioeconómicos, demográficos y de antecedentes familiares.
- (2) Se obtendrán medidas antropométricas tales como peso, talla y perímetro de cintura.
- (3) Se medirá la tensión arterial.
- (4) Se tomarán muestras de sangre en ayunas, saliva, orina y heces.

Con esas muestras se harán los análisis metabólicos, estudios de biomarcadores genéticos y de microbiota.

El proceso de toma de muestras será realizado por personal cualificado. Las muestras obtenidas serán analizadas de manera confidencial en el Laboratorio de la División de Lípidos y Diabetes del Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina.

Las molestias o los riesgos esperados:

Esta investigación se clasifica en el Grupo de “Investigación con riesgo mínimo”. La única molestia que podría derivar es dolor, hinchazón y/o enrojecimiento en el sitio de punción venosa. En caso de cualquier molestia en los días siguientes a la punción, el participante será valorado por el grupo de investigadores que realiza el estudio siguiendo las recomendaciones indicadas.

Los beneficios y garantías que puedan obtenerse:

Cada voluntario recibirá el resultado de su perfil nutricional, de acuerdo con los análisis bioquímicos realizados.

Además, se le garantiza a cada participante que recibirá respuesta a cualquier pregunta y aclaración acerca de los procedimientos.

Se le informarán de los riesgos, beneficios y otros asuntos relacionados con la investigación y el tratamiento de los datos de los voluntarios.

Las investigadoras darán respuesta a cualquier inquietud al inicio, durante y al final del trabajo.

La libertad de retirar su consentimiento:

Lo podrá hacer en cualquier momento, puede abandonar y dejar de participar en el estudio sin que por ello se creen perjuicios. Cada voluntario puede retirarse del estudio cuando lo desee.

La seguridad que no se identificará a los voluntarios:

1. Se mantendrá la confidencialidad de la información relacionada con su privacidad.
2. En todos los casos las muestras estarán codificadas de forma que en ningún momento se pueda conocer la identidad del voluntario.
3. Respecto a las muestras biológicas: las muestras biológicas percederas serán destruidas al finalizar este estudio, siguiendo la normativa vigente.
4. Se solicita consentimiento del participante para la conservación futura en congelación de las siguientes muestras: Extractos conteniendo ADN-bacteriano procedente de heces y extractos de ADN procedente de la saliva, para posibles futuros estudios.

La normativa que regula el tratamiento de datos/muestras de personas, le otorga al participante el derecho a acceder a éstos, oponerse, corregirlos, cancelarlos, limitar su tratamiento, restringir o solicitar la supresión de los mismos. Para ejercer estos derechos puede el participante dirigirse al Investigador Principal de este estudio en el correo electrónico: mncalderono@unal.edu.co

La disponibilidad de tratamiento médico y la indemnización:

La presente investigación no acarrea riesgos para la salud de los participantes, ni da lugar a daños que puedan causar demandas civiles o penales.

Gastos:

En ningún momento se solicitará dinero a los voluntarios.

Todos los gastos serán cubiertos por el presupuesto de la investigación.

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

TÍTULO: Obesidad y Diabetes en Iberoamérica: factores de riesgo y nuevos biomarcadores patogénicos y predictivos.

Yo, _____, he leído la información suministrada para los participantes del estudio, pude conversar con el equipo investigador y realizar todas las preguntas necesarias para comprender las condiciones en este estudio y considero que recibí suficiente información.

Comprendo que mi participación es voluntaria y que puedo retirarme del estudio en cualquier momento, sin tener que dar explicaciones y sin que esto afecte a mi integridad.

De forma **VOLUNTARIA** participo en el estudio y acepto el uso de mis datos/muestras en las condiciones indicadas

Respecto a la conservación y utilización futura de los datos y/o muestras, accedo a que mis datos y/o muestras sean conservados una vez finalizado el presente estudio.

Tomo la decisión de que mis datos y/o muestras sean Si____ o No___ conservados para usos posteriores en líneas de investigación relacionadas con la presente bajo las condiciones de codificación mencionadas.

PARTICIPANTE

Firma: _____

Nombre: _____

Identificación: _____

Correo Electrónico: _____

Número de contacto: _____

Fecha de nacimiento: _____

TESTIGO

Firma: _____

Nombre: _____

Identificación: _____

Correo Electrónico: _____

Número de contacto: _____

Muchas gracias por su colaboración.

Departamento de Química
Facultad de Ciencias
Sede Bogotá



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Anexo III Cuestionario FINDRISC

ESCALA FINDRISC

La prevención: el mejor tratamiento

La escala FINDRISC es un instrumento de cribaje inicialmente diseñado para valorar el riesgo individual de desarrollar DM2 en el plazo de 10 años. Las principales variables que se relacionan con el riesgo de desarrollar DM en esta escala son: edad, IMC, el perímetro de la cintura, hipertensión arterial con tratamiento farmacológico y los antecedentes personales de glucemia elevada.

Se trata de un test con ocho preguntas, en el cual cada respuesta tiene asignada una puntuación, variando la puntuación final entre 0 y 26¹.

Edad	
Menos de 45 años	0 puntos
Entre 45-54 años	2 puntos
Entre 55-64 años	3 puntos
Más de 64 años	4 puntos

IMC (kg/m ²)	
Menos de 25 kg/m ²	0 puntos
Entre 25-30 kg/m ²	1 punto
Más de 30 kg/m ²	3 puntos

Perímetro abdominal (medido a nivel del ombligo)

Hombres	Mujeres	Puntuación
Menos de 94 cm	Menos de 80 cm	0 puntos
Entre 94-102 cm	Entre 80-88 cm	3 puntos
Más de 102 cm	Más de 88 cm	4 puntos

¿Realiza normalmente al menos 30 minutos diarios de actividad física?

Sí	0 puntos
No	2 puntos

¿Con qué frecuencia come frutas, verduras y hortalizas?

A diario	0 puntos
No a diario	1 punto

¿Le han recetado alguna vez medicamentos contra la HTA?

Sí	2 puntos
No	0 puntos

¿Le han detectado alguna vez niveles altos de glucosa en sangre?

Sí	5 puntos
No	0 puntos

¿Ha habido algún diagnóstico de DM en su familia?

No	0 puntos
Se abuelos, tíos o primos hermanos (pero no padres, hermanos o hijos)	3 puntos
Se padres, hermanos o hijos	5 puntos

PUNTUACIÓN TOTAL

Puntuación total	Riesgo de desarrollar diabetes en los próximos 10 años	Interpretación
Menos de 7 puntos	1 %	Nivel de riesgo bajo
De 7 a 11 puntos	4 %	Nivel de riesgo ligeramente elevado
De 12 a 14 puntos	17 %	Nivel de riesgo moderado
De 15 a 20 puntos	33 %	Nivel de riesgo alto
Más de 20 puntos	50 %	Nivel de riesgo muy alto

¹Lindström J, Tuomi T. The diabetes risk score: a practical tool to predict type 2 diabetes risk. *Diabetes Care* 2003;26(3):25-31.

ISSN 001335 Junio 2015

Anexo IV Base de datos inicial con cada uno de los datos por voluntario (Ejemplo)

CODIC	FINDRI	ANTECEDENTES	GENE	PE	LLA EN MET	talla en cm	EDAI	TALL	%GRA	VISCE	MUSCU	PRIMETRO CINTURA	indice cintura/alt	IMC	RACTERIZA	GLUCO	PTOC
N0001	15	mama y hermana	F	59,9	1,57	157	66	157	36,1	8	26,7	84	0,5	24,3	normopeso	91	112
N0399	10	Mama diabetica	F	49,7	1,52	152	60	152	32	6	26,2	76	0,5	21,5	Normopeso	87	...
N0193	16	Si tiene primer grado	M	68,5	1,815	181,5	65	181,5	18,9	4	39,4	84,5	0,5	20,8	Normopeso	106	64
N0229	14	Padre diabetico	F	65,3	1,65	165	52	165	37,3	6	25,5	75	0,5	24	normopeso	114	76
N0352	15	primer grado	F	55,0	1,52	152	67	152	37,1	8	24,8	83	0,5	23,8	Normopeso	125	...
N0354	17	Padre diabetes	M	58,5	1,598	159,8	68	159,8	20,1	8	34,4	88	0,6	22,9	Normopeso	108	141
N0375	15	no tiene antecedentes	F	53,3	1,59	159	64	159	28,1	6	29,5	80	0,5	21,1	Normopeso	117	108
N0380	18	Tiene primer grado	F	62,2	1,61	161	63	161	37,4	8	25,2	88	0,5	24	normopeso	105	102
N0387	19	papa diabetes	F	57,7	1,525	152,5	63	152,5	37	8	26,1	90,5	0,6	24,8	Normopeso	122	137,2
N0562	15	Madre diabetica	F	58,0	1,585	158,5	41	158,5	38,8	6	25	82	0,5	23,1	Normopeso	92	136
N0582	13	Mama diabetica	F	60,5	1,595	159,5	56	159,5	30,7	6	30	83	0,5	23,8	normopeso	74	87
N0583	10	hermano prediabetes y abuelo diabetes	F	49,6	1,575	157,5	48	157,5	26,2	4	29,8	80,5	0,5	20	normopeso	92	...
N0594	7	Padre diabetico	M	71,0	1,72	172	42	172	20,8	8	37,7	90	0,5	24	Normopeso	75	...
N0595	8	abuelo diabetico	M	58,8	1,65	165	45	165	19,5	6	36,6	85	0,5	21,6	Normopeso	84	...
N0168	15	madre diabetica	F	60,5	1,55	155	58	155	38,9	8	25	93	0,6	25,2	sobrepeso	72	93
N0309	20	primer grado , padre diabetes	F	61,3	1,53	153	57	153	37,2	8	27	89	0,6	26,2	Sobrepeso	86	95
N0195	15	padres diabeticos	F	65,2	1,58	158	65	158	40,1	9	24,8	92	0,6	26,1	sobrepeso	111	107
N0215	14	Madre diabetes	F	65,7	1,59	159	58	159	35,1	8	28,3	84	0,5	26	sobrepeso	117	100
N0555	16	primer grado diabetes	F	68,7	1,55	155	64	155	46	11	21,7	103	0,7	28,6	Sobrepeso	94	...
N0572	15	primer grado diabetes	F	66,8	1,55	155	61	155	43	10	23,7	97	0,6	27,8	Sobrepeso	89	189
N0586	18	tios y abuela	F	61,2	1,5	150	52	150	41,5	9	24,5	93	0,6	27,2	Sobrepeso	87	...
N0587	13	Segundo grado antecedentes	F	79,4	1,66	166	59	166	39,9	10	26,5	88	0,5	28,8	sobrepeso	82	...
N0588	20	Mama diabetica	F	63,3	1,525	152,5	60	152,5	41,5	9	24,4	96	0,6	27,2	sobrepeso	87	...
N0590	15	Hermano diabetico	M	78,9	1,73	173	56	173	29,7	12	30,8	99	0,6	25,7	sobrepes	84	...
N0565	19	tia diabetes	F	77,3	1,665	166,5	66	166,5	43,3	10	23,8	92	0,6	27,9	sobrepeso	103	147
N0591	18	madre diabetica	F	52,4	1,428	142,8	59	142,8	41,8	9	22,2	97	0,7	26,2	Sobrepeso	103	...
N0561	19	papa diabetico	M	79,5	1,7	170	46	170	29,3	12	32,7	103	0,6	27,5	sobrepeso	133	...
N0601	19	mama diabetica	M	75,2	1,61	161	60	161	29,8	15	31,5	100	0,8	29,9	Sobrepeso	111	130

Anexo VI Cálculos OR, Índice de confianza al 95%

Gen	NCBI	Odds ratio obesidad-normopeso		Odds ratio sobrepeso-obesidad	
		O.R	95% C.I	O.R	95%C.I
PRKD1	rs11847697	0,0	0,000 - 1,329	0,667	0,107-3,722
CLOCK	rs1801260	0,0	0,000	0,000	0,000
MC4R	rs12970134	0,3	0,061-1,877	0,774	0,189-2,824
MC4R	rs6567160	0,3	0,024 - 2,552	0,667	0,107-3,722
ETV5	rs9816226	0,4	0,026 - 2,756	0,539	0,035-5,156
PLIN1	rs2289487	0,4	0,104-1,366	0,500	0,152-1,835
FAIM2	rs7138803	0,4	0,094-1,827	0,764	0,174-2,971
NCAM2	rs11088859	0,4	0,074-2,285	0,500	0,084-2,725
ITPR2	rs718314	0,4	0,131-1,558	0,778	0,211-2,619
ADAMTS9	rs6795735	0,5	0,148-1,621	1,008	0,336-3,040
HOXC13	rs1443512	0,5	0,133-1,891	0,725	0,210-2,870
GCKR	rs780093	0,5	0,136-1,593	0,764	0,256-2,678
ZNF259	rs2075290	0,5	0,120-2,222	1,333	0,308-6,018
RSPO3	rs9491696	0,5	0,150-1,896	1,300	0,355-4,901
MTIF3	rs4771122	0,5	0,120-2,384	1,313	0,239-5,609
MC4R	rs17782313	0,5	0,092-2,831	0,500	0,086-2,602
ZNRF3	rs4823006	0,5	0,092-2,831	0,239	0,047-1,400
COBLL1	rs13389219	0,5	0,147-2,003	0,625	0,158-2,631
MAP3k1	rs11743303	0,6	0,161- 2,256	0,714	0,185-3,079
LRP1B	rs2890652	0,6	0,138-3,268	0,371	0,067-2,459
TNNI3K	rs1514175	0,7	0,206-2,132	1,074	0,359-3,184
GRB14	rs6717858	0,7	0,221-2,760	0,701	0,185-2,588
SH2B1	rs7359397	0,8	0,242-2,372	0,846	0,276-2,550
NEGR1	rs2815752	0,8	0,233-3,356	0,857	0,256-3,575
MAP2K5	rs2241423	0,8	0,237-2,729	0,629	0,193-1,960
IRS1	rs2943650	0,9	0,224-4,236	0,722	0,194-2,960
LY86	rs1294421	0,9	0,255-2,993	0,815	0,228-2,797
MC4R	rs571312	0,9	0,131-6,607	0,929	0,131-6,607
GNPDA2	rs10938397	1	0,288-4,027	0,800	0,240-3,148
ADRB3	rs4994	1,0	0,226-4,415	1,200	0,324-4,984
HSD17B4	rs10478424	1,0	0,252-3,963	1,000	0,252-3,963
FTO	rs9939609	1,0	0,287-3,483	0,833	0,201-3,085
VEGFA	rs6905288	1,0	0,299-3,438	0,682	0,206-2,132
FTO	rs8050136	1,1	0,314-3,702	0,897	0,219-3,280
FTO	rs1121980	1,1	0,314-3,702	0,897	0,219-3,280
FTO	rs17817449	1,1	0,314-3,702	0,897	0,219-3,280

Anexo VI (continuación) Resultados de Cálculos OR con Índice de confianza al 95%

Gen	NCBI	Odds ratio obesidad-normopeso		Odds ratio sobrepeso-obesidad	
		O.R	95% C.I	O.R	95% C.I
LIPC	rs10468017	1,2	0,333-4,850	0,933	0,242-4,502
DNM3	rs1011731	1,2	0,355-3,657	0,513	0,136-1,976
CETP	rs173539	1,3	0,267-4,740	0,491	0,125-2,020
TFAP2B	rs987237	1,3	0,395-4,580	1,102	0,324-4,051
GPRC5B	rs12444979	1,3	0,308- 6,018	1,333	0,308-6,018
FTO	rs12149832	1,3	0,284-5,124	1,346	0,284-5,124
FTO	rs1558902	1,3	0,284-5,124	1,250	0,267-4,740
LYPLAL1	rs4846567	1,3	0,284-5,124	0,470	0,122-1,847
QPCTL	rs2287019	1,5	0,269-9,344	1,500	0,269-9,344
GRB14	rs10195252	1,5	0,390-5,876	1,385	0,335-5,419
SEC16B	rs543874	1,6	0,380-6,317	1,000	0,219-4,559
SPRY2	rs534870	1,8	0,556-6,766	1,667	0,452-5,433
APOA5	rs2266788	2,0	0,450 -8,293	2,000	0,450-8,293
TBX15	rs984222	2,0	0,552-6,935	0,833	0,284-2,859
TNEM18	rs2867125	2,0	0,209-30,800	0,500	0,086-2,602
SEC16B	rs571312	2,2	0,480 -7,653	1,500	0,372-5,541
C2orf16	rs1919128	2,4	0,672-8,141	1,833	0,450-6,496
NFE2L3	rs1055144	3,7	0,783-19,280	2,321	0,350-12,960
BDNF	rs10767664	4,0	0,494-55,600	1,667	0,280-10,830
LINGO2	rs10968576	4,3	0,587-54,120	4,364	0,519-57,170

Anexo VI (continuación) Resultados de Cálculos OR con Índice de confianza al 95%

Odds ratio sobrepeso-NORMOPESO							
GEN	NCBI	OR	95% C.I	GEN	NCBI	OR	95% C.I
ZNrf3	rs4823006	0,7	0,1825 to 2,614	FTO	rs17817449	0,9	0,2192 to 3,280
NEGR1	rs2815752	0,9	0,2557 to 3,575	CETP	rs173539	0,5	0,1253 to 2,020
HSD17B4	rs10478424	1,0	0,2523 to 3,963	TNNI3K	rs1514175	1,1	0,3592 to 3,184
APOA5	rs2266788	2,0	0,4500 to 8,293	SPRY2	rs534870	1,7	0,4516 to 5,433
SH2B1	rs7359397	0,8	0,2765 to 2,550	TFAP2B	rs987237	1,1	0,3245 to 4,051
FTO	rs9939609	1,3	0,2842 to 5,124	MC4R	rs6567160	0,9	0,1311 to 6,607
MC4R	rs571312	0,5	0,08614 to 2,602	SEC16B	rs571312	1,5	0,3723 to 5,541
GRB14	rs10195252	0,7	0,1853 to 2,588	FTO	rs1558902	1,3	0,2674 to 4,740
GCKR	rs780093	0,8	0,2560 to 2,678	QPCTL	rs2287019	1,5	0,2687 to 9,344
LY86	rs1294421	0,8	0,2277 to 2,797	BDNF	rs10767664	1,7	0,2802 to 10,83
HOXC13	rs1443512	0,7	0,2100 to 2,870	MTIF3	rs4771122	1,3	0,2388 to 5,609
MC4R	rs6567160	0,8	0,1887 to 2,824	MAP2K5	rs2241423	0,6	0,1935 to 1,960
PLIN1	rs2289487	0,5	0,1521 to 1,835	PRKD1	rs11847697	0,7	0,1070 to 3,722
NCAM2	rs11088859	0,5	0,08477 to 2,725	ADAMTS9	rs6795735	1,0	0,3359 to 3,040
ADRB3	rs4994	1,2	0,3241 to 4,984	VEGFA	rs6905288	0,7	0,2062 to 2,132
FAIM2	rs7138803	0,8	0,1745 to 2,971	FTO	rs12149832	0,9	0,2192 to 3,280
MAP3k1	rs11743303	0,7	0,1851 to 3,079	ITPR2	rs718314	0,8	0,2111 to 2,619
C2orf16	rs1919128	1,8	0,4508 to 6,496	LYPLAL1	rs4846567	0,5	0,1219 to 1,847
NFE2L3	rs1055144	2,3	0,3502 to 12,96	FTO	rs1558902	0,9	0,2192 to 3,280
DNM3	rs1011731	0,5	0,1358 to 1,976	COBLL1	rs13389219	0,6	0,1583 to 2,631
RSPO3	rs9491696	1,3	0,3549 to 4,901	LRP1B	rs2890652	0,4	0,06686 to 2,459
IRS1	rs2943650	0,7	0,1938 to 2,960	LIPC	rs10468017	0,9	0,2423 to 4,502
GNPDA2	rs10938397	0,8	0,2396 to 3,148	GPRC5B	rs12444979	1,3	0,3077 to 6,018
TNEM18	rs2867125	0,5	0,08614 to 2,602	SEC16B	rs543874	1,0	0,2194 to 4,559
FTO	rs9939609	0,8	0,2006 to 3,085	LINGO2	rs10968576	4,4	0,5190 to 57,17
GRB14	rs6717858	1,4	0,3348 to 5,419	ETV5	rs9816226	0,5	0,03480 to 5,156
MC4R	rs12970134	0,7	0,1070 to 3,722	TBX15	rs984222	0,8	0,2845 to 2,859

Anexo VII Frecuencia alélica y de genotipos de los SNPs que se evaluaron

GEN	NCBI	ALELO DE RIESGO	Alelo de riesgo			Alelo de no riesgo			Homocigoto riesgo			heterocigoto			Homocigoto no riesgo		
			NP	SP	OB	NP	SP	OB	NP	SP	OB	NP	SP	OB	NP	SP	OB
ZNF259	rs2075290	C	0,21	0,14	0,11	0,79	0,86	0,89	0,00	0,00	0,00	0,14	0,10	0,07	0,19	0,24	0,26
NEGR1	rs2815752	A	0,77	0,71	0,68	0,23	0,29	0,32	0,17	0,17	0,17	0,15	0,15	0,12	0,00	0,02	0,05
HSD17B4	rs10478424	A	0,71	0,71	0,71	0,29	0,29	0,29	0,17	0,17	0,17	0,14	0,14	0,14	0,02	0,02	0,02
APOA5	rs2266788	A	0,79	0,89	0,89	0,21	0,11	0,11	0,19	0,26	0,26	0,14	0,07	0,07	0,00	0,00	0,00
SH2B1	rs7359397	T	0,61	0,54	0,50	0,39	0,46	0,50	0,10	0,10	0,10	0,21	0,17	0,14	0,02	0,07	0,10
FTO	rs12149832	A	0,14	0,19	0,21	0,86	0,81	0,79	0,00	0,00	0,02	0,10	0,12	0,10	0,24	0,20	0,22
MC4R	rs17782313	C	0,14	0,07	0,11	0,86	0,93	0,89	0,00	0,00	0,02	0,10	0,05	0,02	0,24	0,29	0,29
GRB14	rs6717858	T	0,71	0,60	0,62	0,29	0,40	0,38	0,17	0,09	0,11	0,14	0,17	0,23	0,03	0,03	0,03
GCKR	rs780093	T	0,54	0,43	0,29	0,46	0,57	0,71	0,07	0,05	0,02	0,21	0,19	0,14	0,05	0,10	0,17
LY86	rs1294421	G	0,55	0,46	0,50	0,45	0,54	0,50	0,08	0,05	0,05	0,15	0,23	0,26	0,05	0,08	0,05
HOXC13	rs1443512	A	0,36	0,23	0,15	0,64	0,77	0,85	0,08	0,00	0,00	0,10	0,15	0,10	0,18	0,18	0,23
MC4R	rs12970134	A	0,23	0,18	0,11	0,77	0,82	0,89	0,00	0,00	0,02	0,15	0,12	0,02	0,17	0,22	0,29
PLIN1	rs2289487	T	0,71	0,50	0,39	0,29	0,50	0,61	0,19	0,10	0,07	0,10	0,14	0,12	0,05	0,10	0,14
NCAM2	rs11088859	G	0,17	0,08	0,07	0,83	0,92	0,93	0,00	0,00	0,00	0,11	0,05	0,05	0,21	0,26	0,32
ADRB3	rs4994	A	0,21	0,23	0,21	0,79	0,77	0,79	0,02	0,00	0,02	0,10	0,15	0,10	0,22	0,17	0,22
FAIM2	rs7138803	A	0,29	0,23	0,11	0,71	0,77	0,89	0,03	0,03	0,00	0,13	0,10	0,08	0,15	0,21	0,28
APOA1	rs670	G	0,25	0,18	0,46	0,75	0,82	0,54	0,02	0,02	0,10	0,12	0,07	0,12	0,19	0,24	0,12

Anexo VII Frecuencia alélica y de genotipos de los SNPs que se evaluaron

GEN	NCBI	ALELO DE RIESGO	Alelo de riesgo			Alelo de no riesgo			Homocigoto riesgo			heterocigoto			Homocigoto no riesgo		
			NP	SP	OB	NP	SP	OB	NP	SP	OB	NP	SP	OB	NP	SP	OB
MAP3k1	rs11743303	A	0,25	0,18	0,14	0,75	0,82	0,86	0,00	0,00	0,00	0,17	0,12	0,10	0,17	0,21	0,24
C2orf16	rs1919128	T	0,31	0,50	0,62	0,69	0,50	0,38	0,05	0,08	0,11	0,11	0,16	0,21	0,18	0,08	0,03
NFE2L3	rs1055144	G	0,11	0,18	0,29	0,89	0,82	0,71	0,02	0,00	0,00	0,02	0,12	0,19	0,29	0,21	0,14
DNM3	rs1011731	G	0,39	0,21	0,46	0,61	0,79	0,54	0,05	0,02	0,02	0,17	0,10	0,26	0,12	0,21	0,05
RSPO3	rs9491696	T	0,58	0,68	0,36	0,42	0,32	0,64	0,12	0,15	0,05	0,12	0,17	0,15	0,07	0,02	0,15
IRS1	rs2943650	T	0,83	0,77	0,81	0,17	0,23	0,19	0,21	0,18	0,21	0,11	0,16	0,13	0,00	0,00	0,00
GNPDA2	rs10938397	G	0,67	0,62	0,68	0,33	0,38	0,32	0,15	0,10	0,15	0,10	0,21	0,18	0,05	0,03	0,03
TNEM18	rs2867125	C	0,93	0,86	0,96	0,07	0,14	0,04	0,29	0,24	0,31	0,05	0,10	0,02	0,00	0,00	0,00
FTO	rs9939609	A	0,23	0,21	0,25	0,77	0,79	0,75	0,00	0,02	0,02	0,15	0,10	0,12	0,17	0,22	0,20
GRB14	rs10195252	T	0,27	0,36	0,39	0,73	0,64	0,61	0,03	0,03	0,03	0,10	0,21	0,23	0,15	0,13	0,10
MC4R	rs6567160	C	0,11	0,07	0,04	0,89	0,93	0,96	0,00	0,00	0,00	0,07	0,05	0,02	0,26	0,29	0,31
LRP1B	rs2890652	C	0,21	0,07	0,14	0,79	0,93	0,86	0,02	0,00	0,02	0,10	0,05	0,05	0,21	0,29	0,26
TNEM18	rs2867125	C	0,93	0,86	0,96	0,07	0,14	0,04	0,29	0,24	0,31	0,05	0,10	0,02	0,00	0,00	0,00
LIPC	rs10468017	T	0,18	0,21	0,21	0,82	0,79	0,79	0,00	0,05	0,00	0,12	0,05	0,14	0,21	0,24	0,19
GPRC5B	rs12444979	C	0,86	0,89	0,89	0,14	0,11	0,11	0,24	0,26	0,26	0,10	0,07	0,07	0,00	0,00	0,00
SEC16B	rs543874	G	0,23	0,23	0,36	0,77	0,77	0,64	0,03	0,03	0,05	0,10	0,10	0,15	0,20	0,20	0,15
LINGO2	rs10968576	G	0,04	0,18	0,18	0,96	0,82	0,82	0,00	0,00	0,00	0,03	0,11	0,14	0,30	0,19	0,24
ETV5	rs9816226	T	0,93	0,93	0,89	0,07	0,07	0,11	0,31	0,29	0,26	0,00	0,05	0,07	0,02	0,00	0,00
TBX15	rs984222	G	0,50	0,43	0,75	0,50	0,57	0,25	0,05	0,05	0,17	0,24	0,19	0,17	0,05	0,10	0,00

Anexo VII Frecuencia alélica y de genotipos de los SNPs que se evaluaron

GEN	NCBI	ALELO DE RIESGO	Alelo de riesgo			Alelo no riesgo			Homocigoto riesgo			heterocigoto			Homocigoto no riesgo		
			NP	SP	OB	NP	SP	OB	NP	SP	OB	NP	SP	OB	NP	SP	OB
FTO	rs8050136	A	0,21	0,21	0,25	0,79	0,79	0,75	0,00	0,02	0,02	0,14	0,10	0,12	0,19	0,21	0,19
CETP	rs173539	C	0,82	0,63	0,86	0,18	0,38	0,14	0,23	0,10	0,25	0,13	0,18	0,10	0,00	0,03	0,00
TNNI3K	rs1514175	A	0,54	0,57	0,38	0,46	0,43	0,62	0,10	0,07	0,02	0,17	0,24	0,20	0,07	0,02	0,10
SPRY2	rs534870	A	0,54	0,71	0,75	0,46	0,29	0,25	0,08	0,15	0,18	0,21	0,13	0,18	0,05	0,03	0,00
TFAP2B	rs987237	G	0,68	0,68	0,75	0,32	0,32	0,25	0,12	0,17	0,17	0,21	0,12	0,17	0,00	0,05	0,00
MC4R	rs571312	A	0,08	0,07	0,07	0,92	0,93	0,93	0,00	0,00	0,00	0,05	0,05	0,05	0,27	0,29	0,29
SEC16B	rs571312	T	0,18	0,25	0,36	0,82	0,75	0,64	0,02	0,02	0,05	0,07	0,12	0,14	0,24	0,19	0,14
CLOCK	rs1801260	G	0,00	0,00	0,00	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,35	0,30	0,35
ZNRF3	rs4823006	A	0,92	0,68	0,86	0,08	0,32	0,14	0,27	0,12	0,24	0,05	0,22	0,10	0,00	0,00	0,00
FTO	rs1558902	A	0,14	0,18	0,21	0,86	0,82	0,79	0,00	0,00	0,02	0,10	0,12	0,10	0,24	0,21	0,21
QPCTL	rs2287019	C	0,89	0,93	0,93	0,11	0,07	0,07	0,26	0,29	0,29	0,07	0,05	0,05	0,00	0,00	0,00
BDNF	rs10767664	A	0,80	0,86	0,92	0,20	0,14	0,08	0,21	0,26	0,35	0,06	0,03	0,00	0,03	0,03	0,03
MTIF3	rs4771122	G	0,31	0,39	0,15	0,69	0,61	0,85	0,03	0,03	0,00	0,10	0,17	0,13	0,13	0,10	0,30
MAP2K5	rs2241423	G	0,54	0,36	0,46	0,46	0,64	0,54	0,10	0,02	0,10	0,17	0,19	0,12	0,07	0,12	0,12
PRKD1	rs11847697	T	0,11	0,07	0,00	0,89	0,93	1,00	0,00	0,00	0,00	0,07	0,05	0,00	0,26	0,29	0,33
ADAMTS9	rs6795735	C	0,46	0,46	0,21	0,54	0,54	0,79	0,07	0,05	0,00	0,17	0,21	0,14	0,10	0,07	0,19
VEGFA	rs6905288	A	0,54	0,39	0,54	0,46	0,61	0,46	0,07	0,05	0,12	0,20	0,17	0,12	0,05	0,12	0,10
FTO	rs1121980	A	0,21	0,21	0,25	0,79	0,79	0,75	0,00	0,02	0,02	0,14	0,10	0,12	0,19	0,21	0,19
ITPR2	rs718314	G	0,71	0,64	0,43	0,29	0,36	0,57	0,17	0,12	0,10	0,14	0,19	0,10	0,02	0,02	0,14
LYPLAL1	rs4846567	G	0,79	0,57	0,86	0,21	0,43	0,14	0,21	0,12	0,24	0,10	0,14	0,10	0,02	0,07	0,00
FTO	rs17817449	G	0,21	0,21	0,25	0,79	0,79	0,75	0,00	0,02	0,02	0,14	0,10	0,12	0,19	0,21	0,19
COBLL1	rs13389219	C	0,77	0,65	0,61	0,23	0,35	0,39	0,20	0,13	0,10	0,10	0,18	0,23	0,03	0,03	0,03

Anexo VIII Ejemplo cálculo equilibrio Hardy Weinberg

GEN	RS	ALELO DE	DISTRIBUCIÓN ALELICA										OBSERVADAS					VALOR TABULAR CHI2 3,84							
			homocigoto riesg			heterocigoto			homocigoto no ries				homo riesgo	hetero	no riesgo	Esperadas									
			NP	SP	OB	NP	SP	OB	NP	SP	OB	NP	OB	SUMA	p	q	p2	2pq	q2	poblacion	homo riesgo	hetero	no riesgo	CHI2	
ZNF259	rs2075290	C	0	0	0	6	4	3	8	10	11	84	0	13	29	0,155	0,845	0,024	0,262	0,714	42	1	30	1	
NEGR1	rs2815752	A	7	7	7	6	6	5	0	1	2	82	21	17	3	0,720	0,280	0,518	0,404	0,079	41	21	17	3	0,030
HSD17B4	rs10478424	A	7	7	7	6	6	6	1	1	1	84	21	18	3	0,714	0,286	0,510	0,408	0,082	42	21	17	3	0,105
AP0A5	rs2266788	A	8	11	11	6	3	3	0	0	0	84	30	12	0	0,857	0,143	0,735	0,245	0,020	42	31	10	1	1
SH2B1	rs7359397	T	4	4	4	9	7	6	1	3	4	84	12	22	8	0,548	0,452	0,300	0,495	0,205	42	13	21	9	0,137
FTO	rs12149632	A	0	0	1	4	5	4	10	8	9	82	1	13	27	0,163	0,817	0,033	0,299	0,668	41	1	12	27	0,151
MC4R	rs17782313	C	0	0	1	4	2	1	10	12	12	84	1	7	34	0,107	0,893	0,011	0,191	0,797	42	0	8	33	0,698
GRB14	rs6717858	T	6	3	4	5	6	8	1	1	1	70	13	19	3	0,643	0,357	0,413	0,459	0,128	35	14	16	4	1,162
GCKR	rs780093	T	3	2	1	9	8	6	2	4	7	84	6	23	13	0,417	0,583	0,174	0,486	0,340	42	7	20	14	0,672
LY86	rs1294421	G	3	2	2	6	9	10	2	3	2	78	7	25	7	0,500	0,500	0,250	0,500	0,250	39	10	20	10	3,103
HOXC13	rs1443512	A	3	0	0	4	6	4	7	7	9	80	3	14	23	0,250	0,750	0,063	0,375	0,563	40	3	15	23	0,178
MC4R	rs12970134	A	0	0	1	6	5	1	7	9	12	82	1	12	28	0,171	0,829	0,029	0,283	0,688	41	1	12	28	0,046
PLIN1	rs2289487	T	8	4	3	4	6	5	2	4	6	84	15	15	12	0,536	0,464	0,287	0,497	0,216	42	12	21	9	3,341
NCAM2	rs11088653	G	0	0	0	4	2	2	8	10	12	76	0	8	30	0,105	0,895	0,011	0,188	0,801	38	0	7	30	0,526
ADRB3	rs4994	A	1	0	1	4	6	4	9	7	9	82	2	14	25	0,220	0,780	0,048	0,343	0,609	41	2	14	25	0,000
FAIM2	rs7138803	A	1	1	0	5	4	3	6	8	11	78	2	12	25	0,205	0,795	0,042	0,326	0,632	39	2	13	25	0,124
AP0A1	rs570	G	1	1	4	5	3	5	8	10	5	84	6	13	23	0,298	0,702	0,089	0,418	0,493	42	4	18	21	2,832
MAP3k1	rs11743303	A	0	0	0	7	5	4	7	9	10	84	0	16	26	0,190	0,810	0,036	0,308	0,655	42	2	13	28	2,325
C2orf16	rs1919128	T	2	3	4	4	6	8	7	3	1	76	9	18	11	0,474	0,526	0,224	0,499	0,277	38	9	19	11	0,095
NFE2L3	rs1055144	G	1	0	0	1	5	8	12	9	6	84	1	14	27	0,190	0,810	0,036	0,308	0,655	42	2	13	28	0,275
DNM3	rs1011731	G	2	1	1	7	4	11	5	9	2	84	4	22	16	0,357	0,643	0,128	0,459	0,413	42	5	19	17	0,832
RSP03	rs9491636	T	5	6	2	5	7	6	3	1	6	82	13	18	10	0,537	0,463	0,288	0,497	0,215	41	12	20	9	0,563
IRS1	rs2943650	T	8	7	8	4	6	5	0	0	0	76	23	15	0	0,803	0,197	0,644	0,317	0,039	38	24	12	1	2,298
GMPDA2	rs10938397	G	6	4	6	4	8	7	2	1	1	78	16	19	4	0,654	0,346	0,428	0,453	0,120	39	17	18	5	0,227
TNEM16	rs2867125	C	12	10	13	2	4	1	0	0	0	84	35	7	0	0,917	0,083	0,840	0,153	0,007	42	35	6	0	0,347
FTO	rs9939609	A	0	1	1	6	4	5	7	9	8	82	2	15	24	0,232	0,768	0,054	0,356	0,590	41	2	15	24	0,031
GRB14	rs10195252	T	1	1	1	4	8	9	6	5	4	78	3	21	15	0,346	0,654	0,120	0,453	0,428	39	5	18	17	1,401
MC4R	rs6567160	C	0	0	0	3	2	1	11	12	13	84	0	6	36	0,071	0,929	0,005	0,133	0,862	42	0	6	36	0,249
LRP1B	rs2890652	C	1	0	1	4	2	2	9	12	11	84	2	8	32	0,143	0,857	0,020	0,245	0,735	42	1	10	31	2,074
TNEM16	rs2867125	C	12	10	13	2	4	1	0	0	0	84	35	7	0	0,917	0,083	0,840	0,153	0,007	42	35	6	0	0,347
GPRC5B	rs12444979	C	10	11	11	4	3	3	0	0	0	84	32	10	0	0,881	0,119	0,776	0,210	0,014	42	33	9	1	
SEC16B	rs543874	G	1	1	2	4	4	6	8	8	6	80	4	14	22	0,275	0,725	0,076	0,399	0,526	40	3	16	21	
LINGO2	rs10968576	G	0	0	0	1	4	5	11	7	9	74	0	10	27	0,135	0,865	0,018	0,234	0,748	37	1	9	28	
ETV5	rs9816226	T	13	12	11	0	2	3	1	0	0	84	36	5	1	0,917	0,083	0,840	0,153	0,007	42	35	6	0	
TBX15	rs984222	G	2	2	7	10	8	7	2	4	0	84	11	25	6	0,560	0,440	0,313	0,493	0,194	42	13	21	8	
FTO	rs8050136	A	0	1	1	6	4	5	8	9	8	84	2	15	25	0,226	0,774	0,051	0,350	0,599	42	2	15	25	
CETP	rs173539	C	9	4	10	5	7	4	0	1	0	80	23	16	1	0,775	0,225	0,601	0,349	0,051	40	24	14	2	
TNN3K	rs1514175	A	4	3	1	7	10	8	3	1	4	82	8	25	8	0,500	0,500	0,250	0,500	0,250	41	10	21	10	
SPRY2	rs534870	A	3	6	7	8	5	7	2	1	0	78	16	20	3	0,667	0,333	0,444	0,444	0,111	39	17	17	4	
TFAP2B	rs987237	G	5	7	7	9	5	7	0	2	0	84	19	21	2	0,702	0,298	0,493	0,418	0,089	42	21	18	4	
MC4R	rs571312	A	0	0	0	2	2	2	11	12	12	82	0	6	35	0,073	0,927	0,005	0,136	0,859	41	0	6	35	
SEC16B	rs571312	T	1	1	2	3	5	6	10	8	6	84	4	14	24	0,262	0,738	0,069	0,387	0,545	42	3	16	23	
ZNF3	rs4823006	A	11	5	10	2	3	4	0	0	0	82	26	15	0	0,817	0,183	0,668	0,299	0,033	41	27	12	1	
FTO	rs1558902	A	0	0	1	4	5	4	10	9	9	84	1	13	28	0,179	0,821	0,032	0,293	0,675	42	1	12	28	
QPCTL	rs2287019	C	11	12	12	3	2	2	0	0	0	84	35	7	0	0,917	0,083	0,840	0,153	0,007	42	35	6	0	