

ESTUDIO DE BIOMARCADORES DE SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA, DAÑO AL ADN
Y MUERTE CELULAR, COMO HERRAMIENTA DE EVALUACIÓN TEMPRANA DE
RIESGO EN LA PREVENCIÓN Y MANEJO DE PACIENTES CON SÍNDROME
METABÓLICO



ALDAIR BERYERY ROSERO CALDON

Tesis para optar a título de Magister en Biología

Directora
NOHELIA CAJAS SALAZAR
Ph. D

Asesora
ROSA ELVIRA ALVAREZ
M. Sc

UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN TOXICOLOGÍA Y CITOGENÉTICA
POPAYÁN, NOVIEMBRE 2019

ESTUDIO DE BIOMARCADORES DE SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA, DAÑO AL ADN
Y MUERTE CELULAR, COMO HERRAMIENTA DE EVALUACIÓN TEMPRANA DE
RIESGO EN LA PREVENCIÓN Y MANEJO DE PACIENTES CON SÍNDROME
METABÓLICO

ALDAIR BERYERY ROSERO CALDON

UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN TOXICOLOGÍA Y CITOGENÉTICA
POPAYÁN, 2019

Nota de aceptación

Patricia Acosta, Ph.D

Jurado 1

José Guillermo Ortega, Ph.D

Jurado 2

Nohelia Cajas Salazar

Directora

Popayán, 13 de noviembre de 2019

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero darle la gloria y la honra a Dios por haberme acompañado, capacitado y darme de su gracia en todo este tiempo para poder culminar esta etapa de mi vida. También quiero agradecerle a mi directora Nohelia Cajas, por todo su tiempo y esfuerzo dedicado a mi formación como profesional, a la profesora Luz Stella Hoyos por su consejos y apoyo, a Elsa Velasco por su dedicación, colaboración y siempre atención a cada detalle que necesite dentro del laboratorio de investigación. Al Grupo de Investigación en Genética Humana de la Universidad del Cauca, por el espacio, tiempo y apoyo que me brindaron y a cada uno de los profesionales, técnicos y colaboradores que hicieron parte de este proceso. Por su puesto a mis papás por su colaboración, esfuerzo y apoyo y finalmente a mi novia Johana Uribe, que fue quien con sus oraciones y consejos permitió que me enfocara en alcanzar este logro.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	5
Planteamiento del problema	5
Impacto	9
OBJETIVO GENERAL	12
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
MARCO TEÓRICO.....	13
ANTECEDENTES	18
METODOLOGÍA	23
Población de estudio.	23
Mediciones antropométricas y paraclínicas	24
Selección de SNPs y genotipificación.....	24
Pruebas citogenéticas	25
Puntuación de severidad de SM.....	26
Análisis estadístico.	26
RESULTADOS.....	28
DISCUSIÓN	42
CONCLUSIONES.....	51
RECOMENDACIONES	53
REFERENCIAS.....	54
ANEXOS	61

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Características sociodemográficas y del estilo de vida de la población.....	28
Tabla 2. Características antropométricas y clínicas de la población.....	29
Tabla 3. Distribución de la frecuencia genotípica y alélica de LIPA (rs1412444) y BUD13 (rs623908) en pacientes con Síndrome Metabólico y grupo control.	30
Tabla 4. Características de los individuos según los genotipos LIPA en la población de estudio.....	36
Tabla 5. Frecuencia general de los biomarcadores del ensayo citoma de micronúcleos en células del epitelio bucal	37
Tabla 6. Variación de la frecuencia de los micronúcleos y número de factores de riesgo del SM	38
Tabla 7. Variación de la frecuencia de los biomarcadores del ensayo citómico de micronúcleos y la frecuencia de los genotipos de LIPA en la población de estudio.	40
Tabla 8. Variación de la frecuencia de los biomarcadores del ensayo citómico de micronúcleos y la frecuencia de los genotipos de BUD13 en la población de estudio. .	41

RESUMEN

Introducción. El Síndrome Metabólico (SM) es un conjunto de factores de riesgo metabólicos causados principalmente por un estilo de vida sedentario y dieta hipercalórica que incrementa el riesgo a desarrollar diabetes mellitus tipo II y enfermedades cardiovasculares. Se ha demostrado que su progresión está determinada por la interacción entre múltiples factores genéticos y ambientales que varían de manera específica en distintas poblaciones humanas. Es importante identificar biomarcadores relacionados con los componentes del SM que permitan conocer la etiología de la enfermedad en distintos grupos humanos con miras a establecer el riesgo de desarrollar las enfermedades relacionadas. **Objetivo.** El objetivo del presente estudio fue determinar la relación entre los distintos componentes del SM con polimorfismos en los genes LIPA y BUD13 y biomarcadores de daño al material genético y muerte celular. **Metodología.** El estudio caso-control incluyó 220 individuos habitantes de la ciudad de Popayán. Se midieron parámetros clínicos, antropométricos y se genotipificaron los polimorfismos rs1412444 del gen LIPA y rs623908 del gen BUD13. Se determinó la frecuencia de los biomarcadores del ensayo citomicro en células epiteliales de la mucosa bucal. **Resultados.** No se observó asociaciones significativas entre los SNPs y el riesgo de SM ($p > 0,05$). Sin embargo, se observó una asociación del SNP rs1412444 del gen LIPA con una menor medida de IMC ($p = 0,017$) y presión arterial diastólica ($p = 0,05$) en individuos con SM. Todos los biomarcadores del ensayo citomicro de micronúcleos, excepto micronúcleos y células picnóticas, fueron significativamente más altas en casos en comparación con controles ($p < 0,05$). Se observó una frecuencia significativamente más alta de micronúcleos en personas con

SM con un genotipo mutante (TT) de LIPA independientemente de la edad y del género ($p=0,006$). La presencia del genotipo mutante (GG) del gen BUD13 se relacionó con la alta frecuencia de células con cromatina condensada ($p=0,033$) en individuos con SM.

Conclusión. Nuestros resultados muestran la utilidad del ensayo citómico de micronúcleos para evidenciar la magnitud del daño fisiológico causado por los componentes del SM y dan claridad de su relación con los SNPs rs1412444 del gen LIPA y el rs623908 del gen BUD13. Se necesitan mas estudios para confirmar nuestros hallazgos.

Palabras claves: Síndrome Metabólico, LIPA, BUD13, micronúcleos

ABSTRACT

Introduction. Metabolic Syndrome (MS) is a cluster of metabolic risk factors mainly caused by a sedentary lifestyle and hypercaloric diet that increases the risk of developing type II diabetes mellitus and cardiovascular diseases. It has been shown that its progression is determined by the interaction between multiple genetic and environmental factors that vary specifically in different human populations. It is important to identify biomarkers related to the components of MS that allow to know the etiology of the disease in different human groups with a view to establishing the risk of developing related diseases. **Objective.** The objective of the present study was to determine the relationship between the different components of the MS with polymorphisms in the LIPA and BUD13 genes and biomarkers of DNA damage and cell death. **Methodology.** The case-control study included 220 individuals living in the city of Popayán. Clinical, anthropometric parameters were measured and the polymorphisms rs1412444 of the LIPA gene and rs623908 of the BUD13 gene were genotyped. The frequency of Buccal micronucleus cytome assay in was determined. **Results.** No significant associations were observed between the SNPs and the risk of MS ($p > 0.05$). However, an association of the SNP rs1412444 of the LIPA gene was observed with a lower measurement of BMI ($p = 0.017$) and diastolic blood pressure ($p = 0.05$) in individuals with MS. All the biomarkers of the Buccal micronucleus cytome assay, except micronuclei and picnotic cells, were significantly higher in cases compared to controls ($p < 0.05$). A significantly higher frequency of micronuclei was observed in people with MS with a mutant genotype (TT) of LIPA regardless of age and gender ($p = 0.006$). The presence of the mutant genotype (GG) of the BUD13 gene was

related to the high frequency of cells with condensed chromatin ($p = 0.033$) in individuals with MS. **Conclusion.** Our results show the usefulness of the micronucleus cytomatic assay to demonstrate the magnitude of the physiological damage caused by the SM components and give clarity of their relationship with the SNPs rs1412444 of the LIPA gene and the rs623908 of the BUD13 gene. More studies are needed to confirm our findings.

Keywords: Metabolic Syndrome, LIPA, BUD13, micronuclei

INTRODUCCIÓN

Planteamiento del problema

El síndrome metabólico (SM) es una patología que incluye un grupo de factores de riesgo de Enfermedad Cardiovascular (ECV) y Diabetes Mellitus tipo 2 (DMT2), como obesidad abdominal, dislipidemia, hipertensión arterial e intolerancia a la glucosa. Estudios epidemiológicos muestran que los Individuos diagnosticados con SM presentan un riesgo cinco veces mayor de desarrollar DMT2, dos veces mayor de desarrollar una ECV y hasta 1,6 veces de padecer cáncer colorrectal, pancreático, hígado, vejiga, mama recto, entre otros (Esposito, Chiodini, Colao, Lenzi, & Giugliano, 2012; Grundy, Adams-Huet, & Vega, 2008). Adicionalmente, se ha observado asociación con otras complicaciones sistémicas como hígado graso, enfermedad respiratoria y enfermedad osteoarticular (Montes de Oca, Loria, & Chavarría, 2008; Sánchez, Chacón, & Cortés, 2011; Shaw, 2006).

Debido al actual contexto social, económico, político y de estilo de vida de las poblaciones humanas, se ha incrementado la prevalencia de los factores de riesgo asociados al SM, y como consecuencia se estima que esta patología llegará a convertirse en una de las principales causas de morbilidad en el siglo XXI. Debido a esto la Organización Mundial de la Salud (OMS) advirtió la necesidad urgente de llevar a cabo estrategias de prevención enfocadas a detener esta potencial pandemia (Montes de Oca et al., 2008). La Federación Internacional de Diabetes (FID) ha reportado que entre el 20 y 25% de la población mundial padece de SM y que su prevalencia aumenta con la edad (Alberti, Zimmet, & Shaw, 2006; Asociación

Latinoamericana de Diabetes, 2010; Trejo-Gutiérrez, 2004). Registros epidemiológicos estiman que, 35 millones de personas padecerán SM en los próximos 10 años en Latinoamérica, es decir un incremento del 14% con respecto a la prevalencia actual (Guénard, Tchernof, Deshaies, Pérusse, Biron et al., 2014; López-Jaramillo, Rueda-Clausen, & Silva, 2007; Pineda, 2013). Los países con las mayores prevalencias de esta patología metabólica son México, Chile, Perú y Colombia (Atalah, 2012; Cárdenas Quintana, Sánchez Abanto, Roldán Arbieto, & Mendoza Tasayco, 2009). Los registros epidemiológicos del SM en Colombia, son alarmantes con una prevalencia que oscila entre un 25% y 45% (Aschner, 2010; Whiting, Guariguata, Weil, & Shaw, 2011). La Encuesta Nacional de Situación Nutricional mostró que la obesidad abdominal, principal componente del SM, aumentó de 33,8% a 39,1% en hombres y de 51,4% a 62% en mujeres entre los años 2005 y el 2010, y se estima que dichas cifras no disminuirán en los próximos años (Fonseca, Heredia, Ocampo, Forero, Samiento et al., 2011; ICBF, 2006). Actualmente en el departamento del Cauca se desconoce la prevalencia y el comportamiento de esta patología, además de las condiciones sociodemográficas y los factores del estilo de vida asociadas a ella, a pesar de ser uno de los departamentos con altos índices de sobrepeso y obesidad (21,7%) (Fonseca et al., 2011).

Según la FID, una persona es diagnosticada con SM cuando presenta obesidad abdominal y simultáneamente dos o más de los siguientes factores: niveles elevados de triglicéridos, bajos niveles de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL), alta presión arterial y elevados niveles de glucosa en sangre (Zimmet, Alberti, George, & Serrano Ríos, 2005). Por otro lado, se ha observado que la gran variabilidad en la

distribución de los patrones sociodemográficos y de estilo de vida afecta la importancia de cada factor de riesgo propuesto en las distintas poblaciones humanas (Eckel, Grundy, & Zimmet, 2005; Zimmet et al., 2005). Por estas razones, la patogénesis del SM, la caracterización de pacientes que la padecen y sus componentes aún no son claros y hasta la fecha no existe una definición unificada para evaluar el riesgo y el diagnóstico de esta patología, aunque la obesidad abdominal y resistencia a la insulina han sido reconocidos como factores causales (Srikanthan, Feyh, Visweshwar, Shapiro, & Sodhi, 2015).

Una de las características de las personas con SM es un elevado nivel de estrés oxidativo, el cual se ha asociado con hiperglucemia, niveles elevados de lípidos en tejidos, aumento de la actividad muscular debido a la ganancia de peso, el tipo de dieta, entre otros factores. Principalmente, los pacientes con SM presentan una acumulación de tejido adiposo visceral que induce un aumento en la peroxidación lipídica sistémica y producción de citoquinas, que luego desencadena daño oxidativo sistémico. El estrés oxidativo producido localmente, induce daño a las estructuras celulares, incluidas las membranas, las proteínas y el ADN, por lo cual el estrés oxidativo parece estar involucrado en la patogénesis del SM (Demirbag, Yilmaz, Gur, Celik, Guzel et al., 2006; Galván-Meléndez, Calderón-Salinas, Intriago-Ortega, Torres-Castorena, Zamarripa-Escobedo et al., 2014; Manna & Jain, 2015; Marseglia, Manti, D'Angelo, Nicotera, Parisi et al., 2015). Estudios epidemiológicos moleculares evidencian que tanto la obesidad como el sobrepeso, en poblaciones adultas y en niños, incrementan la frecuencia de biomarcadores de daño celular (células necróticas

y apoptóticas) y del ADN (Micronúcleos, Puentes Nucleoplasmicos, Brotes Nucleares) en linfocitos de sangre periférica y por lo tanto pueden aumentar la susceptibilidad al desarrollo de cáncer y envejecimiento precoz (Donmez-Altuntas, Sahin, Bayram, Bitgen, Mert et al., 2014; Gandhi & Kaur, 2012; Scarpato, Verola, Fabiani, Bianchi, Saggese et al., 2011).

Por otro lado, observaciones como la agregación familiar del SM, diferencias en su prevalencia de acuerdo al origen étnico y su asociación con ciertas variaciones genéticas identificadas en estudios de Asociación del Genoma Completo (GWAS), han permitido postular la existencia de un componente genético en la etiología del SM (Povel, Boer, Reiling, & Feskens, 2011; Suazo, Smalley, Hodgson, Weisstaub, González et al., 2014). Un estudio de interacción génica encontró que ciertos genes que codifican para la proteína homóloga BUD13 y la proteína lipasa ácida lisosómica (LIPA), podrían de manera independiente o a través de una interacción génica o gen-ambiente, contribuir al riesgo de desarrollo de SM, de tal manera que los polimorfismos en estos genes pueden afectar incluso, la expresión de otros genes funcionales implicados en el metabolismo de lípidos (Lin, Kuo, Liu, Yang, Kao et al., 2016). Adicionalmente, se ha establecido que existe una sobreexpresión del gen LIPA en el tejido adiposo visceral de personas con SM y una expresión diferencial del mismo, entre personas con y sin SM, lo que revela una posible implicación de este gen en la variabilidad interindividual asociada a complicaciones metabólicas relacionadas con la obesidad (Guénard, Houde, Bouchard, Tchernof, Deshaies et al., 2012). En los últimos años ha aumentado las investigaciones del gen BUD13 por su relación con el

metabolismo de lípidos, lo cual puede sugerir un papel esencial en la patogénesis del SM y con algunos de sus componentes, metabólicos (Zhang, You, Wu, Zhang, Wang et al., 2017).

Impacto

Aunque la patogénesis del SM sigue siendo objeto de debate y estudio, se tiene claro que su desarrollo está asociado en cierto grado a la interacción entre predisposición genética en múltiples genes sumado a un estilo de vida sedentario y una dieta desbalanceada (Rask-Madsen & Kahn, 2012). El excesivo crecimiento del tejido adiposo característico de la obesidad, causa alteraciones en el proceso de almacenamiento de los triglicéridos y los lípidos ectópicos con sus metabolitos que conlleva al desarrollo de la resistencia a la insulina. Estos mecanismos en sí, se sabe que conllevan a un desarrollo del síndrome y aumentan el riesgo de enfermedades más crónicas. En el campo de la biología de las enfermedades cardiometabólicas aún se necesitan de muchos estudios experimentales que permitan aclarar el conocimiento en la etiología de la enfermedad, como una estrategia para reducir el riesgo a desarrollar las enfermedades crónicas relacionadas y el nivel de exposición a los factores de riesgo comunes modificables. Por eso surge el interés a nivel mundial de fomentar la investigación para el control de las enfermedades metabólicas a través de inversiones en investigación epidemiológica, operacional y sanitaria a partir de planes de acción (Cauca, 2012; de Salud Pública, 2013; OMS, 2000).

A pesar de que algunos estudios reportan que los factores determinantes del SM son sobrepeso, factores genéticos, edad, estilo de vida, ingesta calórica excesiva; la

importancia de estos podrían variar según las condiciones sociales, económicas, culturales y genéticas de las poblaciones; por lo que aún existe controversia en cuanto al establecimiento unificado de criterios diagnósticos o componentes del SM. La presente investigación tuvo gran relevancia al aportar nuevo conocimiento científico acerca de la prevalencia de dos polimorfismos en genes asociados al SM en una población del suroccidente colombiano, así como también, la identificación del efecto de la toxicidad generada por los componentes individuales o en conjunto del SM sobre los biomarcadores citogenéticos indicadores de daño al ADN y la evaluación de los factores culturales y de estilo de vida tales como, estados civil, nivel educativo, actividad física y consumo de alcohol, como características particulares de poblaciones el suroccidente del país. Del mismo modo, dicha información aportada por este estudio es de especial interés en las comunidades científicas, médicas e instituciones al cuidado de la salud, ya que la identificación de la presencia de la variante rs1412444 del gen LIPA puede servir como un biomarcador predictivo temprano de obesidad abdominal, en individuos con antecedentes familiares de este factor de riesgo. De esta manera, este conocimiento fortalecerá en el futuro cercano las medidas de promoción y prevención en las enfermedades crónicas asociadas al SM y ratificará la participación de otras disciplinas durante una intervención.

Por otro lado, nuestro estudio también intentó identificar la relación de variantes genéticas y biomarcadores de efecto al daño al ADN con los componentes del SM usando modelos estadísticos validados para predecir el riesgo de aparición de enfermedades crónicas asociadas al SM en nuestra población teniendo en cuenta

factores genéticos, clínicos, sociales y del estilo de vida. Sin embargo, estos modelos pueden variar ampliamente en su precisión predictiva y utilidad clínica, por lo tanto, aún se requieren esfuerzos sustanciales para mejorar la comunicación de riesgos, motivar a médicos e individuos a ejecutar estrategias preventivas y desarrollar algoritmos de toma de decisiones clínicas.

Es de gran interés mencionar que como parte de los objetivos del Componente Sistema Regional de Ciencia, Tecnología e Innovación del Plan de Desarrollo Departamental Cauca (Cauca, 2012), la ejecución de esta investigación impulsó la apropiación y la divulgación de los nuevos conocimientos, promoción de la investigación e innovación, puesto que la implementación del conocimiento generado a partir del uso de herramientas citogenéticas y moleculares para los análisis de biomarcadores tempranos de las enfermedades crónicas fueron transferidos a profesionales interesados, así como a futuros investigadores para abordar el estudio de las diferentes patologías malignas y cardiometabólicas en poblaciones en riesgo, con lo cual se generó conocimiento para la formulación de nuevas preguntas de investigación en el estudio de la etiología del SM.

OBJETIVO GENERAL

Establecer la asociación entre los polimorfismos genéticos LIPA y BUD13, biomarcadores de daño al ADN, muerte celular y los factores de riesgo en pacientes con Síndrome Metabólico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar los polimorfismos en los genes LIPA y BUD13, en pacientes con síndrome metabólico y personas sanas.
- Establecer la relación entre los polimorfismos genéticos LIPA y BUD13 y los factores de riesgo del síndrome metabólico.
- Determinar la asociación de la frecuencia de micronúcleos y anormalidades nucleares en el epitelio bucal con la presencia de los polimorfismos genéticos LIPA y BUD13.
- Correlacionar variables demográficas, del estilo de vida, polimorfismos genéticos LIPA y BUD13 con la frecuencia de los biomarcadores citogenéticos analizados en la población.

MARCO TEÓRICO

El síndrome metabólico es un conjunto de factores de riesgo cardiovascular que incluyen obesidad abdominal, dislipidemia, hipertensión arterial y aumento de la glucosa que en conjunto incrementan el riesgo de desarrollar Diabetes Mellitus Tipo 2 y enfermedad cardiovascular (Mottillo, Filion, Genest, Joseph, Pilote et al., 2010). Las causas del SM no se conocen con exactitud, pero ha sido determinante conocer que factores como la obesidad abdominal favorece la acumulación de grasa a nivel del tejido adiposo. El tejido adiposo se distribuye por todo el cuerpo y es capaz de expandirse para acomodar el exceso de energía en forma de lípidos acumulados, características que lo distinguen de otros órganos y tejidos. En los seres humanos, hay dos tipos principales de tejidos adiposo, el tejido adiposo blanco (*siglas en inglés* WAT) y el tejido adiposo marrón (*siglas en inglés* BAT). Anatómicamente, el tejido adiposo blanco comprende dos depósitos principales, el subcutáneo (SAT) y visceral (VAT) alrededor de los órganos internos, este último se concentra en la cavidad abdominal. En el SM la expansión del VAT está estrechamente relacionado con las complicaciones metabólicas (Choe, Huh, Hwang, Kim, & Kim, 2016), entre ellas las células de este tejido (adipocitos) son en su mayoría disfuncionales y aumentan la cantidad de ácidos grasos libres (AGL) circulantes trayendo consigo la secreción de apolipoproteína B, principal componente de las lipoproteínas en sangre (Pereira-Rodríguez, Melo-Ascanio, Caballero-Chavarro, Rincón-Gonzales, Jaimes-Martin et al., 2016). Existe una relación directa entre altos niveles de lipoproteínas de baja densidad (LDL), triglicéridos (TG), Colesterol Total (CT), glicemia y disminuidos niveles de colesterol HDL con la obesidad (Misra & Shrivastava, 2013) y con excepciones en algunos individuos con obesidad

(Karelis, Brochu, & Rabasa-Lhoret, 2004). La desregulación en los niveles basales de estos parámetros se conoce como dislipidemia y los incrementos de concentraciones de glucosa como hiperglucemia. La mayoría de estas alteraciones están relacionadas con la dieta (80%) y el estilo de vida. Según la FID los niveles basales normales de lipoproteínas y glucosa en sangre son: triglicéridos ≤ 150 mg/dL; HDL ≥ 40 mg/dL (hombres) y ≥ 50 mg/dL (mujeres); LDL ≤ 100 mg/dL y glucosa en ayunas ≤ 100 mg/dL (Zimmet et al., 2005).

Por otra parte, los tejidos adiposos subcutáneos y visceral difieren en la secreción de algunas proteínas. El tejido adiposo blanco subcutáneo expresa más adiponectina y citoquinas anti-inflamatorias las cuales tienen efectos benéficos en el metabolismo (Kwok, Lam, & Xu, 2016), mientras que la acumulación de lípidos, principalmente triglicéridos, en los adipocitos del tejido adiposo visceral, también se acompaña de aumentos en los macrófagos y otras células inmunitarias, en parte debido a la remodelación del tejido y en respuesta a la apoptosis de los adipocitos (Heymsfield & Wadden, 2017). Estas células inmunitarias secretan citoquinas pro-inflamatorias de manera sistémica y la consecuente aparición de la resistencia a la insulina que a menudo se presenta en pacientes con obesidad (Wellen & Hotamisligil, 2005). La resistencia a la insulina se produce cuando el organismo deja de reaccionar a la acción de la insulina, la hormona segregada por el páncreas para distribuir la glucosa en las células y para mantener controlados los niveles de azúcar en la sangre (Pereira-Rodríguez et al., 2016).

Genes involucrados en procesos de metabolismo de lípidos e inflamación

Gen LIPA

El gen está ubicado en el cromosoma 10q23.2 y codifica para la enzima Lipasa ácida lisosómica (LIPA), cuya función en los lisosomas es hidrolizar los ésteres de colesterol y triglicéridos para generar colesterol y ácidos grasos libres. LIPA desempeña un papel clave en el suministro de colesterol para el crecimiento celular y la función de la membrana, así como en la regulación de los procesos celulares mediados por el colesterol intracelular (Lin et al., 2016). La alteración en la actividad de LIPA se ha asociado con dos trastornos hereditarios del metabolismo del colesterol, la enfermedad de Wolman (WD) y la enfermedad de almacenamiento esteres de colesterol (CESD) (Guénard et al., 2012). Además, diferentes estudios de asociación del genoma completo (GWAS) indicaron que especialmente el SNP *rs1412444* en la región intrónica del gen LIPA se asoció con Enfermedad Arterial Coronaria (EAC) en poblaciones caucásicas y asiáticas (Consortium, 2011; Schunkert, König, Kathiresan, Reilly, Assimes et al., 2011). Asimismo, se ha encontrado relación con SM (Vargas-Alarcón, Posadas-Romero, Villarreal-Molina, Alvarez-León, Angeles et al., 2013), y con infarto de miocardio (Wang, Wang, Liu, Zhang, Yu et al., 2014) en estudios de replicación independientes.

Gen BUD13

BUD13 es una de las subunidades de un componente celular denominado complejo proteico RES (*retention and splicing complex*), que se identificó previamente en la levadura como un factor de empalme específico e importante para controlar la retención de pre-ARNm de varios genes en el núcleo (Brooks, Dziembowski, Quevillon-Cheruel, Henriot, Faux et al., 2008). Se sabe que el gen BUD13 está ubicado en una región cromosómica donde se también se encuentran los genes para las apolipoproteínas APOA1, APOC3, APOA4, and APOA5 que se expresan predominantemente en el hígado y el intestino y son cruciales para regular el metabolismo de las lipoproteínas y la homeostasis del colesterol (Pranavchand, Kumar, & Reddy, 2017). Recientes GWAS han identificado un gran número de loci relacionados con el metabolismo y almacenamiento de triglicéridos, entre ellos SNPs en el gen BUD13. Los polimorfismos genéticos en BUD13 y ZNF259 se han asociado con los niveles séricos de lípidos, especialmente con triglicéridos en poblaciones occidentales (Kathiresan, Willer, Peloso, Demissie, Musunuru et al., 2009; Waterworth, Ricketts, Song, Chen, Zhao et al., 2010). De igual manera, otras variantes de BUD13 se han asociado con niveles de colesterol total e hipercolesterolemia en poblaciones asiáticas (Aung, Yin, Wu, Wang, Liu, Pan et al., 2014).

Ensayo citómico de micronúcleos en el epitelio bucal

El epitelio bucal al ser una barrera natural de protección, se convierte en un tejido sensible y de fácil adquisición por métodos no invasivos para evaluar, monitorear e identificar eventos genotóxicos tempranos producidos en las células basales como resultado de la exposición a agentes inflamatorios y/o causantes de estrés oxidativo

(Bonassi, Coskun, Ceppi, Lando, Bolognesi et al., 2011), ampliamente asociados al desarrollo del SM, DMTII y ECV. El epitelio esta dividido en cuatro estratos: I) Estrato Germinativo II) Estrato Espinoso (capa de células espinosas) III) Estrato Granuloso (capa de células granulares) y IV) Estrato Córneo (capa de células queratinizadas) (Holland, Bolognesi, Kirsch-Volders, Bonassi, Zeiger et al., 2008; Rosin, 1992).

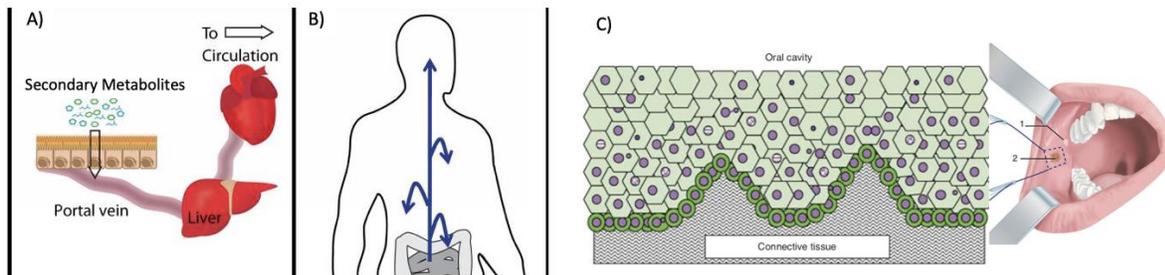


Figura 1. Interacción de agentes tóxicos del SM con el epitelio bucal. A) Los productos metabólicos se absorben a través de las barreras epiteliales, donde atraviesan el epitelio y entran en la circulación a través de la vena porta a través del hígado. B) Una vez en la circulación, los metabolitos viajan a varios sitios objetivo (órganos, tejidos, células, etc.). C) En el epitelio bucal las células basales entran en contacto con la sangre en circulación. Tomado y editado de: "Specialized metabolites from the microbiome in health and disease"

ANTECEDENTES

Durante los últimos años los estudios epidemiológicos han determinado que enfermedades como el Síndrome Metabólico y sus diferentes componentes tales como dislipidemia, obesidad abdominal, hipertensión arterial e intolerancia a la glucosa aumentan significativamente el riesgo a padecer DMT2 y ECV. Se ha establecido ampliamente que la obesidad abdominal y diferentes parámetros bioquímicos como colesterol total, colesterol LDL, triglicéridos, ácidos grasos libres, glicemia, apolipoproteína B representan marcadores sensibles para determinar riesgo a desarrollar enfermedades cardiometabólicas (Bermúdez J, 2014; Querales, Cruces, Mendoza, Malvacia, Mendoza et al.; Simon, Roy, Jayapal, & Vijayakumar, 2010; Valdés Ramos & Bencosme Rodríguez, 2013). Varios estudios han demostrado que la patogénesis en las enfermedades cardiometabólicas en las que se incluye el SM se correlaciona positivamente con el daño oxidativo del ADN e inestabilidad cromosómica, la cual está mediada por daños en el ADN y acortamiento disfuncional de los telómeros (Martinet, Knaapen, De Meyer, Herman, & Kockx, 2002).

Diferentes estudios epidemiológicos moleculares evidencian que tanto el sobrepeso como la obesidad principales factores de riesgo para desarrollar SM en poblaciones adultas y en niños, incrementan el daño al ADN y por tanto aumentan la susceptibilidad al desarrollo de cáncer y envejecimiento precoz. Estudios en personas obesas que utilizaron biomarcadores citogenéticos en linfocitos, muestran incrementos significativos de daño al ADN, roturas de doble cadena, frecuencia de células con daño genómico (micronúcleos, puentes nucleoplásmicos, brotes nucleares), células necróticas y

apoptóticas en comparación con la población control (Donmez-Altuntas et al., 2014; Gandhi & Kaur, 2012; Scarpato et al., 2011). Pacientes con perímetro abdominal aumentado, presión arterial elevada y resistencia a la insulina presentan índices significativamente elevados de radicales libres y de daño al ADN y disminución del sistema antioxidante total en plasma a medida que aumenta el número de los componentes del SM, aunque hasta el momento no se ha reportado cual criterio o conjunto de criterios diagnósticos genera un mayor riesgo en la población afectada (Demirbag et al., 2006; Galván-Meléndez et al., 2014; Satoh, Ishikawa, Takahashi, Itoh, Minami et al., 2008). El grupo de investigación en Toxicología Genética y Citogenética de la Universidad del Cauca realizó un estudio y obtuvo datos importantes de una alta frecuencia del daño al ADN y de muerte celular en pacientes con Síndrome Metabólico comparados con personas sin la patología (Carvajal-Cucuñame, Manquillo-Franco, Rosero-Caldon, Perafán-Collazos, Montero-Carvajal et al., 2017), sin embargo, se sugiere llevar a cabo un estudio más completo e investigar el papel del componente genético que permite identificar a las personas con riesgo a desarrollar la enfermedad y de complicaciones futuras. Hasta ahora, estos estudios son la evidencia de cómo la enfermedad y los factores de riesgo convencionales están asociados a la inestabilidad genómica.

Desde el reconocimiento del SM como problema de salud pública, se han realizado estudios moleculares dirigidos a la detección de polimorfismos en genes relacionados con distintas rutas metabólicas claves en la fisiopatología, tales como el metabolismo de lípidos, glucosa o mecanismos de inflamación que junto con algunos factores

ambientales pueden aumentar la susceptibilidad a desarrollar SM. En general, la búsqueda de determinantes genéticos se ha dirigido a examinar el SM como un todo o como componentes en pares o incluso analizando asociaciones de sus componentes individuales (Brown & Walker, 2016; Shungin, Winkler, Croteau-Chonka, Ferreira, Locke et al., 2015). Recientemente, los GWAS han identificado al menos 56 loci asociados de forma reproducible con obesidad, 157 con lípidos y más de 90 loci asociados con hipertensión (Stančáková & Laakso, 2014).

El papel de la enzima Lipasa ácida lisosómica (LIPA) en las enfermedades metabólicas ha sido de gran relevancia debido a su actividad. Una deficiencia de LIPA en humanos puede llevar a almacenamiento intracelular de esteres de colesterol o alteración en el control de la producción de colesterol (Guénard et al., 2012). Estudios en el SNP rs1412444 del gen LIPA demostraron asociación con hipercolesterolemia y EAC. El estudio de Vargas-Alarcón et al. (2013) encontraron que dos polimorfismos dentro del gen LIPA (rs1412444 and rs2246833) estuvieron asociados con hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, SM y DMT2 en pacientes con EAC. y que además podían estar compartidos entre distintas etnias. Del mismo modo, un metanálisis de cohortes europeas y del sur de Asia de aproximadamente 30.000 individuos, identificaron entre sus nuevos loci, que el rs141244, aumentaba el riesgo de EAC (OR:1,08 IC:1,05 – 1,12) (The Coronary Artery Disease Genetics Consortium, 2011) El estudio Multiétnico de Aterosclerosis (MESA), que investiga la prevalencia, correlación y progresión de la Enfermedad Cardiovascular también confirmó que entre los distintos polimorfismos estudiados el rs1412444 estaba asociado con EAC (Vargas, Manichaikul, Wang, Rich,

Rotter et al., 2016). Un estudio caso-control de una cohorte de cerca de 5.000 individuos llevada a cabo en una población China, reportaron 5 SNPs, entre ellos el rs141244 (OR: 1,26 IC:1,05 – 1,51) que estuvieron asociados significativamente con el infarto del miocardio (Wang et al., 2014). Adicionalmente, una evaluación de varios SNPs en el gen LIPA y el rs141244 reveló una asociación de los niveles de transcripción del gen con la disfunción endotelial (Wild, Zeller, Schillert, Szymczak, Sinning et al., 2011).

El rol de la proteína homóloga BUD13 es regular la retención nuclear de pre-ARNm, y hacer parte de un complejo proteínico implicado en el proceso de splicing durante la expresión génica (Brooks et al., 2008). Su relación con el SM o sus componentes, se ha demostrado a través de análisis por haplotipos, los cuales han demostrado una asociación de los polimorfismos, entre ellos el rs623908, con los niveles de colesterol LDL en individuos con dislipidemia y con Síndrome Coronario Agudo cuando se analizaron los polimorfismo en este gen y otros genes en conjunto (Pranavchand et al., 2017). En poblaciones europeas y del sur de China, también se ha identificado la relación de polimorfismos en este gen con hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia (Aung, Yin, Wu, Wang, Liu, & Pan, 2014) mientras que en poblaciones norteamericanas se ha propuesto que algunas variantes genéticas puede afectar la respuesta de niveles de triglicéridos y colesterol LDL en individuos en terapia con estatinas (O'Brien, Schrodi, Ye, Brilliant, Virani et al., 2015). Cabe resaltar, que la investigación de Lin et al., (2016) en una población de Taiwan, el cual fue un estudio de replicación de los genes mayormente asociados con SM y sus componentes, mostraron que los

polimorfismos en los genes LIPA rs1412444 y BUD13 rs623908, entre otros, se asociaron con SM y que además pueden contribuir al riesgo de SM de manera independiente o a través de interacciones gen-gen y gen-ambiente. Es evidente que en nuestro país hay carencia de estudios respecto a los polimorfismos mencionados previamente en el estudio del SM y es necesario la realización de estudios experimentales adicionales para aclarar cómo estos SNP y que genes realmente afectan los niveles de lípidos en suero.

METODOLOGÍA

Población de estudio.

El estudio caso-control incluyó individuos de los proyectos financiados por Colciencias ID-3727 y por la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad del Cauca ID-4364.

El tamaño de la muestra se estimó según el total de la Población Económicamente Activa para el municipio de Popayán a través de la fórmula estadística $\left(\frac{K^2 Npq}{e^2(N-1)+k^2 pq}\right)$.

Se estableció que una muestra de, al menos, 220 individuos permitiría realizar un estudio coherente de los biomarcadores citogenéticos y de los genotipos, pese a que el número de individuos no fuese representativo de la población. Los individuos se reclutaron de empresas del sector público y privado del municipio de Popayán, Cauca, quienes cumplieron con los criterios de inclusión establecidos: hombres y mujeres sanos, mayores de edad (≥ 18 años), con perímetro abdominal aumentado (en el grupo de los casos), según los criterios establecidos por la FID, con residencia permanente en la zona urbana del municipio de Popayán y que aceptaron participar voluntariamente en el estudio. Se excluyeron a sujetos con presencia de alguna enfermedad, con residencia diferente al municipio de Popayán o que no aceptaran participar en el estudio y especialmente, respecto al grupo control, se excluyeron individuos con obesidad abdominal. Cada individuo firmó un formulario de consentimiento informado. Todos los experimentos se realizaron de acuerdo a las directrices y regulaciones pertinentes. Los pacientes fueron clasificados como casos según criterios establecidos por la FID (Zimmet et al., 2005). Los grupos de casos y controles fueron pareados por edad (± 1 año), género y etnia.

Mediciones antropométricas y paraclínicas

La información sobre la demografía, el estado socioeconómico y los factores de estilo de vida se recopiló mediante cuestionarios estandarizados. Los métodos para medir los parámetros de presión arterial, altura, peso y circunferencia de la cintura se basaron en estudios previos (Carvajal-Cucuñame et al., 2017). Para las mediciones de perfil lipídico y glucosa, se obtuvieron muestras de sangre extraídas después de un ayuno nocturno de al menos 12 horas. Se extrajo el suero mediante diferencias de gradiente y densidad celular sometiendo las muestras a centrifugación a 3500 rpm durante 10 minutos y posteriormente almacenados a -70°C hasta su análisis. Las mediciones fueron llevadas a cabo en el Laboratorio Clínico Especializado de la Universidad del Cauca a partir del suero sanguíneo con un analizador automático A15 (BioSystems), el cual arrojaba directamente los resultados de cada individuo.

Selección de SNPs y genotipificación

Se escogieron los SNPs con un $\text{MAF} > 10\%$ (Frecuencia del alelo menos común) consultado en la base de datos del NCBI dbSNP Short Genetic Variation (Sherry, Ward, & Sirotkin, 1999). La selección de los SNPs se realizó a través de la revisión de literatura y se escogieron de acuerdo a su papel relevante en el SM. Se obtuvieron 5ml de sangre periférica mediante punción intravenosa en tubos vacutainer con EDTA de cada una de los individuos. Las muestras de sangre fueron transportadas en sistemas de refrigeración hasta el Laboratorio de Toxicología Genética y Citogenética de la Universidad del Cauca. El ADN genómico se aisló de los linfocitos de sangre periférica con DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen). La pureza de las muestras de ADN genómico se evaluó a través de un espectrofotómetro previamente calibrado (Nanodrop 2000c).

Las muestras de ADN fueron almacenadas en congelador (-26°C) hasta la determinación de los polimorfismos genéticos. A través del ensayo TaqMan SNP genotyping, (Applied Biosystems, Foster City, California, USA) se realizó la genotipificación de los polimorfismos LIPA (dbSNP rs1412444) y BUD13 (dbSNP rs623908). Los cebadores y las sondas de los SNP fueron proporcionados por *The Dana Farber/Harvard Cancer Center Genotyping & Genetics for Population Sciences Facility* de los Estados Unidos, quienes llevaron a cabo el ensayo a través de un proceso de discriminación alélica, mediante el cual se detectó en una muestra, dos variantes de la secuencia de un único nucleótido, con el uso de las sondas TaqMan marcadas un fluorocromo notificador unido al extremo 5' y un apantallador o «quencher» en el extremo 3', las cuales permitieron medir la producción de amplicones de PCR.

Pruebas citogenéticas

Las muestras del epitelio bucal fueron colectadas con citocepillos estériles, realizando 20 raspados circulares en la cara interna de cada mejilla. Las muestras fueron transportadas inmediatamente al laboratorio de Toxicología Genética y Citogenética de la Universidad del Cauca para su procesamiento. Se inició con tres lavados sucesivos en 5 ml de solución salina estéril al 0.9% y centrifugaciones a 1200 rpm por 10 minutos (SORVALL®T6000B). En cada etapa de lavado se removió completamente el sobrenadante y se resuspendió constantemente para permitir la disociación celular. Las células fueron suspendidas en 0,5 ml de solución salina estéril 0.9% y posteriormente extendidas sobre placas de vidrio, secadas al aire por 15 minutos y fijadas en metanol

frío al 80% por 20 minutos. Después de 24 horas de secado, las células fueron teñidas con el método de tinción específico para ADN Feulgen-Fast Green (Sigma-Aldrich cat. no. 857343), según Thomas et al., (2013) y debidamente codificadas por el método del doble ciego. Los micronúcleos fueron registrados en 2000 células normales diferenciadas, según Tolbert et al., (1992) usando un microscopio óptico en 1000x (Nikon Eclipse E200).

Puntuación de severidad de SM

Se calcularon los valores z de SM (z-SM) utilizando formulas basadas en el género como se han descrito en estudios anteriores (Gurka, Lilly, Oliver, & DeBoer, 2014). Brevemente, z-SM se derivó de los cinco componentes tradicionales de SM (perímetro abdominal, triglicéridos, colesterol HDL, presión arterial sistólica y glucosa en ayunas) utilizando un enfoque de análisis factorial de datos de 1999-2010 nacionalmente representativos de La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (NHANES) para adultos de 20 a 64 años de edad. Se determinaron las cargas de factores de los cinco componentes de SM y se utilizaron para generar ecuaciones para calcular una puntuación de severidad de SM para cada individuo (<http://mets.health-results-policy.ufl.edu/calculator/>). La puntuación resultante tuvo una distribución normal estándar que funciona como una "puntuación z" (DeBoer & Gurka, 2017)

Análisis estadístico.

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el programa SPSS (versión 19.0). Se realizó un análisis de la prueba de hipótesis que compara los grupos con

respecto a las variables cuantitativas, a través de pruebas de normalidad (Kolmogorov-Smirnov). Las comparaciones de los valores de la media entre los grupos de estudio se evaluó utilizando la prueba t de Student o U Mann-Whitney, según correspondió. Se realizó la prueba de chi-cuadrado para comparar la diferencia entre dos datos categóricos. Para cada SNP, el desequilibrio de Hardy-Weinberg se probó mediante una prueba de chi-cuadrado con 1 grado de libertad. Se utilizó el análisis de regresión logística binaria para evaluar la asociación de los SNPs elegidos con SM ajustado por edad, género y otras variables del estilo de vida. Los genotipos se analizaron bajo un modelo de herencia codominante (LIPA:TT vs CT vs CC y BUD13: AA vs AG vs GG). Adicionalmente, identificamos la asociación del SNP estudiado con componentes individuales del SM utilizando el Modelo Lineal General (MLG) ajustado por edad, género, estado civil, actividad física y nivel educativo. Un nivel de significancia $\alpha \leq 0.05$ fue utilizado como criterio para rechazar la hipótesis nula (H_0), con un intervalo del 95% de confianza.

RESULTADOS

En la tabla 1 se presentan las características sociodemográficas y de estilo de vida de la población objeto de estudio. La edad promedio en los casos fue de $47,06 \pm 8,18$ años y en los controles de $45,49 \pm 9,45$ años. En ambos grupos más del 60% de las personas fueron hombres. En los pacientes con SM, el estado civil más frecuente fueron los solteros (70%), al igual que el grupo control (54%). En relación al nivel educativo, solo el 28% de los casos reportaron tener estudios universitarios o de posgrado, una proporción significativamente más alta (66%) fue encontrada en el grupo control. En cuanto al consumo de alcohol, más de la mitad de los participantes del estudio consideraron consumir alcohol de manera ocasional. Todos los individuos del grupo control practicaban actividad física como un estilo de vida.

Tabla 1. Características sociodemográficas y del estilo de vida de la población

	Controles n=111	Casos =109	Valor p
Edad en años (Media \pm D.E)	45,49 \pm 9,45	47,06 \pm 8,18	0,187 ^a
Género (%)			
Masculino	70 (63,1)	70 (63,1)	0,858 ^b
Femenino	41 (36,9)	39 (36,9)	
Etnia (%)			
Afrodescendiente	3 (2,7)	3 (2,8)	0,618 ^b
Indígena	2 (1,8)	4 (3,7)	
Mestizo	106 (95,5)	102 (93,6)	
Estado civil (%)			
Con pareja	51 (45,9)	33 (30,3)	0,027 ^b
Sin pareja	60 (54,1)	76 (69,7)	
Ingresos Mensuales (%)			
Menos de 1 salario mínimo	9 (8,1)	16 (14,5)	
Entre 1 – 3 salarios mínimos	79 (71,2)	68 (61,8)	0,351 ^b
Más de 3 salarios mínimos	23 (20,7)	25 (22,7)	
Nivel Educativo (%)			
Alto (Universitario/posgrado)	74 (66,7)	31 (28,4)	<0,001 ^b
Medio (Técnico)	23 (20,7)	42 (38,5)	
Bajo (Primaria/secundaria)	14 (12,6)	36 (33,0)	
Consumo de alcohol (%)			
Nunca	23 (20,7)	21 (19,3)	
Exbebedor (>5 años atrás)	9 (8,1)	18 (16,5)	0,306 ^b
Bebedor ocasional	79 (71,2)	70 (64,2)	
Actividad física (%)			
Si	111 (100)	60 (55)	
No		49 (45)	<0,00 ^b

n= número de sujetos; D.E = Desviación estándar; %= porcentaje

^a Prueba de T-Student
^b Prueba de Chi-Cuadrado

En la tabla 2 se muestran los resultados de los diferentes parámetros clínicos evaluados en la población. Los pacientes con SM presentaron un IMC de $29,49 \pm 2,87$ Kg/m² significativamente mas alto con respecto al de los controles $23,43 \pm 2,36$ Kg/m² ($p < 0.001$). Los individuos con SM mostraron niveles de riesgo significativamente mayores ($p < 0.001$) para todas las variables del SM (perímetro abdominal, presión arterial sistólica, presión arterial diastólica, triglicéridos, colesterol HDL y glucosa). Adicionalmente, se calculó el valor Z para medir el riesgo potencial de la población de desarrollar enfermedades o para comparar el estado actual de severidad de SM con base en el numero de alteraciones metabólicas asociadas al síndrome; se encontró que los casos presentan un mayor riesgo de enfermedades futuras (0,83; $p < 0,001$)

Tabla 2. Características antropométricas y clínicas de la población

	Controles	Casos	Valor <i>p</i> ^a
	n=111	n=109	
	Media ± D.E	Media ± D.E	
Índice de Masa Corporal (Kg/m ²)	23,53 ± 1,87	29,49 ± 3,41	<0,001
Perímetro abdominal (cm)			
Hombres	83,82 ± 4,41	99,37 ± 7,47	<0,001
Mujeres	76,32 ± 2,59	92,68 ± 7,01	<0,001
Presión arterial sistólica (mmHg)	110,48 ± 9,62	122,77 ± 15,46	<0,001
Presión arterial diastólica (mmHg)	72,07 ± 8,52	80,38 ± 9,60	<0,001
Colesterol Total (mg/dL)	187,01 ± 39,08	191,17 ± 41,91	0,516
Triglicéridos (mg/dL)	138,07 ± 83,93	228,40 ± 90,73	<0,001
Colesterol-HDL (mg/dL)			
Masculino	46,39 ± 12,52	35,61 ± 8,07	<0,001
Femenino	54,04 ± 11,38	38,73 ± 6,63	<0,001
Glucosa (mg/dL)	79,56 ± 7,77	89,38 ± 19,83	<0,001
Valor z – Síndrome Metabólico	-0,38 ± 0,63	0,83 ± 0,47	<0,001

^a Prueba de t-student

La tabla 3, describen las frecuencias genotípicas y alélicas de los SNP LIPA y BUD13.

La distribución de los genotipos de los dos SNP estuvo de acuerdo con el equilibrio de

Hardy-Weinberg ($p > 0.05$ para todos). Las frecuencias genotípicas y alélicas de los SNP LIPA y BUD13 no fueron significativamente diferentes entre los casos y controles ($p > 0.05$). La prevalencia del genotipo TT (homocigoto mutante) del gen LIPA fue de 27,7% en los controles y 23,9% en casos. La frecuencia del genotipo GG (homocigoto mutante) del gen BUD13 fue de 16% en ambos grupos de estudio. El análisis de regresión logística, determinó que los dos alelos de riesgo de los genes LIPA y BUD13 no se asociaron significativamente con el riesgo aumentado del SM en la población estudiada (tabla 3). Incluso cuando se realizó este mismo análisis en cada uno de los componentes del SM de manera individual tampoco se observó una asociación significativa (datos no mostrados)

Tabla 3. Distribución de la frecuencia genotípica y alélica de LIPA (rs1412444) y BUD13 (rs623908) en pacientes con Síndrome Metabólico y grupo control.

Gen	Total (n = 220)	Control (n=111)	Casos (n=109)	Análisis de regresión logística		Valor p
				OR	IC 95%	
LIPA						
CC (%)	48 (21,9)	24 (21,4)	24 (22)	1,00		
CT (%)	114 (52,1)	57 (50,6)	59 (54,1)	1,04	(0,528 – 2,033)	0,919
TT (%)	57 (26)	30 (27,0)	26 (23,9)	0,84	(0,389 – 1,810)	0,654
CT + TT		87 (78,4)	85 (78)	0,97	(0,509 – 1,832)	0,914
MAF		0,53	0,51			
HWE		0,7516	0,3865			
<hr/>						
	Total (n = 218)	Control (n=110)	Casos (n=108)	OR	IC 95%	
BUD13						
AA (%)	69 (31,5)	34 (30,9)	35 (32,1)	1,00		
AG (%)	114 (52,1)	58 (52,7)	55 (50,5)	0,91	(0,498 – 1,647)	0,745
GG (%)	36 (16,4)	18 (16,3)	18 (16,5)	0,97	(0,434 – 2,175)	0,944
AG + GG		76 (69,1)	73 (67,6)	0,92	(0,521 – 1,629)	0,777
MAF		0,43	0,42			
HWE		0,4172	0,6445			

MAF: Frecuencia del alelo menos común; HWE: valor P para el equilibrio de Hardy-Weinberg; OR: Odds Ratio; IC: Intervalo de confianza

A través de un modelo lineal general, exploramos la relación existente entre el SNP del gen LIPA y los componentes del SM en los dos grupos de estudio (Tabla 4). Encontramos que cuando las frecuencias genotípicas del polimorfismo se estratificaron según los componentes de riesgo de SM, los casos presentaron significativamente ($p=0,017$) menores valores del IMC y de la presión arterial diastólica, cuando presentaron los genotipos heterocigoto u homocigoto mutante. En el grupo control, las mujeres con el genotipo mutante TT de LIPA presentaron significativamente los valores mas bajos del perímetro abdominal ($p=0,037$), cuando se compararon con los otros genotipos, todas las asociaciones de las variables con los genotipos del gen LIPA seguían siendo estadísticamente significativas, incluso cuando el modelo se ajustó por variables como edad, estado civil y nivel educativo (tabla 4). En contraste, este mismo análisis se realizó para el SNP rs623908 del gen BUD13 y los resultados no evidenciaron ninguna relación con los componentes del SM ($p>0,05$) (datos no mostrados).

Tabla 4. Características de los individuos según los genotipos LIPA en la población de estudio

Variables	Controles (n = 111)			Valor-p	Casos (n = 109)			Valor-p
	CC (n = 24)	CT (n = 57)	TT (n = 31)		CC (n = 24)	CT (n = 59)	TT (n = 26)	
Perímetro abdominal (cm)								
Masculino	83,32 ± 5,39	83,83 ± 4,37	84,59 ± 3,72	0,386 ^a	101,2 ± 8,91	97,81 ± 6,81	100,9 ± 7,54	0,189 ^a
Femenino	77,18 ± 1,98	77,16 ± 2,04	74,86 ± 2,96	0,037 ^a	94,64 ± 6,42	91,10 ± 6,95	94,18 ± 7,34	0,391 ^a
IMC (Kg/m ²)	23,75 ± 1,36	23,70 ± 2,06	23,10 ± 1,81	0,059 ^b	30,73 ± 3,10	28,73 ± 3,36	30,08 ± 3,51	0,017 ^b
Presión Arterial Sistólica (mmHg)	108,8 ± 11,43	112,6 ± 9,09	107,5 ± 8,56	0,439 ^b	124,1 ± 15,46	122,4 ± 14,66	121,8 ± 18,07	0,067 ^b
Presión Arterial Diastólica (mmHg)	71,6 ± 8,92	73,0 ± 8,39	70,3 ± 8,41	0,580 ^b	83,33 ± 11,89	80,17 ± 9,33	77,08 ± 7,77	0,050 ^b
Glucemia en ayunas (mg/dL)	80,25 ± 8,14	78,98 ± 7,53	79,70 ± 7,88	0,593 ^b	85,20 ± 12,17	89,30 ± 11,67	93,67 ± 34,67	0,387 ^b
Colesterol Total (mg/dL)	178,4 ± 36,07	189,6 ± 38,80	190,8 ± 42,84	0,310 ^b	184,0 ± 33,49	189,4 ± 39,39	200,4 ± 51,18	0,145 ^b
Triglicéridos (mg/dL)	144,2 ± 91,90	141,0 ± 93,84	130,7 ± 55,34	0,741 ^b	202,0 ± 65,82	242,2 ± 101,2	200,8 ± 87,38	0,071 ^b
Colesterol-HDL (mg/dL)								
Masculino	47,68 ± 11,28	43,66 ± 12,60	51,43 ± 12,03	0,183 ^a	37,12 ± 7,47	35,17 ± 9,34	39,5 ± 6,96	0,422 ^a
Femenino	55,62 ± 7,70	55,39 ± 11,83	51,60 ± 12,67	0,515 ^a	36,28 ± 2,81	39,10 ± 6,64	41,64 ± 9,93	0,360 ^b

Valores se presentan como media ± Desviación estándar.

^aValor de P ajustado por edad, estado civil, nivel educativo y actividad física.

^bValor de P ajustado por edad, género, estado civil, nivel educativo y actividad física

Las frecuencias totales de los biomarcadores del ensayo citoma de micronúcleos en células del epitelio bucal se muestran en la tabla 5. Respecto a los biomarcadores de daño al ADN, se observó que solamente los brotes nucleares fueron significativamente mas frecuentes en los casos en comparación con los controles ($p < 0,001$). Del mismo modo, la frecuencia de los biomarcadores de muerte celular, con excepción de las células picnóticas, fueron significativamente mas altas en los pacientes con SM que en el grupo control.

Tabla 5. Frecuencia general de los biomarcadores del ensayo citoma de micronúcleos en células del epitelio bucal

		Controles n=108	Casos n=106	Valor p ^a
Células diferenciadas		Media ± D. E	Media ± D. E	
<i>Daño al ADN</i>	Micronúcleos (‰)	0,23 ± 0,67	0,36 ± 0,80	0,085
	Brotes nucleares (‰)	0,97 ± 1,41	1,75 ± 1,70	0,0001
	Binucleadas (‰)	5,58 ± 4,23	6,48 ± 4,33	0,080
<i>Muerte celular</i>	Picnóticas (‰)	7,37 ± 4,12	7,18 ± 5,76	0,170
	Cromatina condensada (‰)	2,80 ± 6,43	3,83 ± 5,31	0,002
	Cariorrecticas (‰)	1,94 ± 2,54	3,32 ± 4,58	0,045
	Cariolíticas (‰)	2,04 ± 3,05	2,75 ± 2,95	0,026

DE: Desviación Estándar

^aprueba estadística de U Mann – Whitney

Los valores medios de la frecuencia de los micronúcleos se examinaron de acuerdo al número de factores de riesgo o componentes del SM (tabla 6). Se encontró que en individuos sin SM pero que presentaron una alteración en los niveles normales de los triglicéridos en sangre, la frecuencia de MN incrementó significativamente ($p=0,016$) en comparación con el grupo de referencia o individuos sin ninguno de los factores de riesgo del SM. Se halló que los individuos con SM que presentaron la combinación de tres factores de riesgo que incluyen obesidad abdominal, dislipidemia con hiperglucemia o hipertensión arterial

presentaron un aumento significativo de la frecuencia de micronúcleos comparados con los individuos sin factores de riesgo del SM . Además el número de micronúcleos mas alto (6 MN) reportado en nuestra población la presentaron los individuos con SM que presentaron la combinación de los siguientes cuatro factores de riesgo: perímetro abdominal aumentado, altos valores de triglicéridos, presión arterial y bajos niveles de colesterol HDL (tabla 6). Adicionalmente, se caracterizó que el 62% en este subgrupo de individuos presentaron el alelo T de riesgo del gen LIPA (datos no mostrados).

Tabla 6. Variación de la frecuencia de los micronúcleos y número de factores de riesgo del SM

Número de factores de riesgo de SM	n=214 n (%)	MN		Valor-p ^a
		Media ± D.E	Min-Max.	
0 Factores de riesgo	58 (27,1)	0,12 ± 0,38	0-2	Grupo referencia
1 Factor de riesgo	31 (14,5)	0,32 ± 0,70	0-2	0,016
TG	11	0,64 ± 0,92	0-2	
HDL-c	16	0	0	
GLU	1	1	1-1	
P. Ar	3	0,67 ± 1,15	0-2	
2 Factores de riesgo	19 (8,9)	0,16 ± 0,37	0-1	0,455
TG - HDL-c	13	0,23 ± 0,44	0-1	
HDL-c - P.Ar	3	0	0	
TG – P. Ar	2	0	0	
TG – GLU	1	0	0	
3 Factores de riesgo	72 (33,6)	0,30 ± 0,57	0-2	0,087
PA - TG - HDL-c	51	0,25 ± 0,52	0-2	
PA - TG - P.Ar	10	0,50 ± 0,71	0-2	
PA - HDL-c - P.Ar	6	0,17 ± 0,41	0-1	
PA – P.Ar – GLU	2	0	0	
PA – HDL o TG – GLU	4	0,75 ± 0,96	0-2	
4 Factores de riesgo	31 (14,5)	0,48 ± 1,21	0-6	0,017
PA - TG - HDL-c - P.Ar	20	0,55 ± 1,36	0-6	
PA - TG - HDL-c – GLU	7	0,57 ± 1,13	0-3	
PA – P. Ar - GLU – HDL-c o TG	4	0	0	
5 Factores de riesgo	3 (1,4)	0,33 ± 0,58	0-1	0,519

MN: micronúcleos; DE: desviación estándar; PA: perímetro abdominal; TG: Triglicéridos; HDL-c: colesterol HDL; P.Ar: Presión arterial; GLU: Glucemia

^a Prueba estadística de U Mann – Whitney, valor p cuando se compara con el grupo de referencia, sin factores de riesgo.

Examinamos la variación en la frecuencia de los biomarcadores de daño al ADN y muerte celular con los SNPs rs1412444 del gen LIPA y rs623908 del gen BUD13 (Tabla 7 y 8). En los casos, el genotipo mutante TT del gen LIPA aumentó significativamente la frecuencia de micronúcleos cuando se comparó con los otros genotipos (tabla 7). También el efecto del polimorfismo rs623908 del gen BUD13, fue observado en las frecuencias de los biomarcadores de muerte celular. El efecto del polimorfismo rs623908 del gen BUD13, fue observado en las frecuencias de los biomarcadores de muerte celular. La frecuencia media de las células con cromatina condensada fue mas alta significativamente ($p=0,047$) en los casos con el genotipo mutante GG comparado con los demás genotipos en este grupo, variación que también se observó en el grupo control sin embargo, la frecuencia significativamente ($p=0,033$) mas alta la presentaron los individuos con el genotipo homocigoto silvestre, AA de BUD13 (tabla 8)

Tabla 7. Variación de la frecuencia de los biomarcadores del ensayo citómico de micronúcleos y la frecuencia de los genotipos de LIPA en la población de estudio.

Variables	Controles (n = 109)			Valor-p ^a	Casos (n = 106)			Valor-p ^a
	CC (n = 24)	CT (n = 55)	TT (n = 30)		CC (n = 24)	CT (n = 58)	TT (n = 24)	
Micronúcleos (‰)	0,21 ± 0,509	0,19 ± 0,479	0,33 ± 1,028	0,578	0,13 ± 0,338	0,25 ± 0,474	0,75 ± 1,391	0,006
Brotos nucleares (‰)	0,88 ± 1,076	1,07 ± 1,344	0,90 ± 1,768	0,813	1,25 ± 1,391	1,89 ± 1,739	1,75 ± 2,069	0,262
Binucleadas (‰)	5,75 ± 3,429	5,67 ± 4,47	5,30 ± 4,610	0,818	5,50 ± 3,551	6,60 ± 4,701	7,04 ± 4,154	0,282
Picnóticas (‰)	6,21 ± 3,890	7,63 ± 4,048	7,80 ± 4,452	0,161	7,08 ± 4,934	6,58 ± 6,347	8,88 ± 4,934	0,258
Cromatina condensada (‰)	1,88 ± 2,692	3,19 ± 6,34	2,90 ± 8,589	0,422	3,13 ± 3,455	4,70 ± 6,566	2,21 ± 2,284	0,194
Cariorrecticas (‰)	1,79 ± 1,641	2,13 ± 3,059	1,77 ± 2,144	0,678	4,29 ± 7,166	3,37 ± 3,609	2,29 ± 3,303	0,151
Cariolíticas (‰)	1,63 ± 2,356	2,13 ± 3,577	2,17 ± 2,574	0,396	3,21 ± 3,575	2,75 ± 2,911	2,29 ± 2,476	0,225

Valores se presentan como media ± Desviación estándar.

^aValor de P ajustado por edad, género y actividad física

Tabla 8. Variación de la frecuencia de los biomarcadores del ensayo citómico de micronúcleos y la frecuencia de los genotipos de BUD13 en la población de estudio.

Variables	Controles (n = 108)			Valor-p ^a	Casos (n = 105)			Valor-p ^a
	AA (n = 33)	AG (n = 58)	GG (n = 17)		AA (n = 34)	AG (n = 53)	GG (n = 18)	
Micronúcleos (‰)	0,15 ± 0,442	0,26 ± 0,807	0,29 ± 0,588	0,407	0,26 ± 0,567	0,42 ± 0,989	0,22 ± 0,428	0,308
Brotos nucleares (‰)	0,70 ± 0,918	1,10 ± 1,575	1,12 ± 1,616	0,126	1,97 ± 1,547	1,66 ± 1,786	1,39 ± 2,033	0,587
Binucleadas (‰)	4,73 ± 3,851	6,24 ± 4,281	5,00 ± 4,770	0,059	6,85 ± 4,279	6,51 ± 4,614	5,50 ± 3,618	0,354
Picnóticas (‰)	7,42 ± 4,309	7,57 ± 4,061	6,53 ± 4,215	0,669	6,50 ± 3,422	7,09 ± 4,482	8,94 ± 10,746	0,440
Cromatina condensada (‰)	4,91 ± 10,178	1,86 ± 3,818	2,00 ± 2,622	0,033	3,79 ± 5,39	3,09 ± 3,477	5,72 ± 8,560	0,047
Cariorrepticas (‰)	2,06 ± 2,703	1,98 ± 2,659	1,65 ± 1,869	0,854	3,09 ± 5,089	3,34 ± 4,711	3,78 ± 3,388	0,973
Cariolíticas (‰)	2,91 ± 4,179	1,64 ± 2,454	1,65 ± 1,998	0,048	2,65 ± 2,729	2,57 ± 2,811	3,50 ± 3,839	0,278

Valores se presentan como media ± Desviación estándar.

^aValor de P ajustado por edad y género

DISCUSIÓN

Basados en los resultados de la presente investigación, existe una relación entre el SNP del gen BUD13 con los biomarcadores de muerte celular y el SNP del gen LIPA con los biomarcadores de daño al ADN, así como también una relación del SNP del gen LIPA con algunos componentes metabólicos del SM. Este estudio incluyó pacientes diagnosticados con SM de acuerdo a la FID y un grupo de individuos aparentemente sanos sin la patología. A la actualidad y según nuestro conocimiento los polimorfismos de los genes LIPA y BUD13 aún no se han analizado en la población colombiana, por lo que los resultados representan el primer estudio de estos genes en el SM en una población del suroccidente colombiano.

Los resultados del estudio mostraron que la frecuencia del 51% del alelo de riesgo T del SNP rs1412444 del gen LIPA en los casos son los mismos valores de frecuencia reportados por el Consorcio Genético de Enfermedades de las Arterias Coronarias en una población del sur de Asia diagnosticada con EAC (Consortium, 2011). Sin embargo, la frecuencia de este alelo de riesgo puede variar entre diferentes poblaciones étnicas, variando desde 32% en poblaciones chinas y alemanas (Wang et al., 2014; Wild et al., 2011), 32,7% en poblaciones de Taiwan (Lin et al., 2016), 34% en Europeos (Consortium, 2011) y 49,1% en poblaciones mexicanas (Vargas-Alarcón et al., 2013). Respecto a las frecuencias del alelo de riesgo G del SNP rs623908 del gen BUD13 solo el estudio de Lin et al., (2016) han reportado una frecuencia del 28% en una población con SM de Taiwan, contrario a lo reportado en nuestra población que fue del 42%. Los individuos con SM

presentaron una baja frecuencia de los alelos de riesgo tanto del gen LIPA como del gen BUD13 comparados con el grupo control, aunque sin diferencias significativas.

A pesar de que el presente estudio no encontró ninguna asociación de los dos polimorfismo evaluados con el riesgo incrementado de SM, hay evidencia de la relación de estos polimorfismos con el SM, trastornos en el metabolismo del lípidos y enfermedades cardiometabólicas (Lin et al., 2016; The Coronary Artery Disease Genetics Consortium, 2011; Vargas et al., 2016; Wang et al., 2014). Curiosamente, cuando se estratificaron los genotipos del SNP rs1412444 del gen LIPA para observar su relación con los parámetros del SM se encontró que en los individuos con SM, los valores del IMC y la presión arterial sistólica, eran significativamente mayores en las personas con el genotipo CC silvestre del gen LIPA, incluso cuando se ajustó por edad, género y nivel educativo. Hasta ahora, nuestro estudio es el primero en encontrar este tipo de relación entre el polimorfismo del gen LIPA con las variables del SM. Sin embargo, no podemos asumir que los valores mejorados de IMC y presión arterial sistólica en los individuos con SM se deben a la presencia del alelo T de riesgo del gen LIPA, pues al tratarse de un síndrome, son muchos los factores genéticos, ambientales o del estilo de vida que pueden influenciar en dichos parámetros. Incluso en las mujeres del grupo control, donde se encontró que el alelo T del gen LIPA se relaciona con menores valores del perímetro abdominal, este efecto puede deberse no solo a la presencia del polimorfismo sino también a las diferencias que existen en la distribución de grasa corporal entre hombres y mujeres, que a su vez

pueden estar moduladas por esteroides sexuales (Karastergiou, Smith, Greenberg, & Fried, 2012).

Contrario a nuestros resultados, Lin et al., (2016), encontraron una relación del rs1412444 del gen LIPA con el riesgo de desarrollar SM, y hallaron una relación directa del alelo T de riesgo con los bajos niveles HDL y altos niveles de glucosa en ayunas, en una población de Taiwan. Sumado a estos hallazgos, Vargas-Alarcón et al. (2013) reportaron que dos polimorfismos genéticos de LIPA, entre ellos el rs1412444, estaba asociado con hipercolesterolemia y SM en poblaciones mexicanas. Otros estudios a través de GWAS han reportado una asociación del mismo SNP con EAC (Consortium, 2011; Franchini, 2016; Pranavchand & Reddy, 2016) e infarto de miocardio (Wang et al., 2014). Al igual que los resultados del estudio de Wild et al. (2011) que hallaron una fuerte asociación de EAC con el alelo de riesgo (T) de LIPA el cual afectaba el nivel de expresión del gen y estaba relacionada directamente con la disfunción endotelial, un precursor de la EAC.

Respecto al SNP del gen BUD13, también en este estudio observamos que dicho polimorfismo, no estuvo asociado con el riesgo incrementado de desarrollar SM, ni mucho menos cuando se analizó de manera individual con cada uno de los componentes del SM. Estos resultados son el primer reporte para una población del suroccidente de Colombia y a pesar que no se encontró ningún tipo de relación del SNP del BUD13 con SM, se sabe que el gen BUD13 esta ubicado en una región cromosómica donde se también se encuentran los genes para las apolipoproteínas APOA1, APOC3, APOA4, and APOA5 que se expresan predominantemente en el hígado y el intestino y son cruciales para regular el

metabolismo de las lipoproteínas y la homeostasis del colesterol (Pranavchand et al., 2017). Así lo demuestra el único estudio hasta ahora conducido por Lin et al. (2016) en el que reportaron la asociación positiva del SNP rs623908 del gen BUD13 con altos niveles de triglicéridos, bajos niveles de HDL y además un incrementando riesgo de SM en una población de Taiwan. Otros estudios, como el de Chan et al.,(2016), en un intento de comprender de manera integral la naturaleza de las asociaciones de variantes genéticas cerca del algunos genes de apolipoproteínas, incluyó un gran número de SNPs, entre ellos el rs623908 del gen BUD13 encontrando a través de una interacción genética, su relación directa con EAC en poblaciones de la India. En gran número de investigaciones que revelan la relación del gen BUD13 con enfermedades metabólicas, se han estudiado también otros polimorfismos en conjunto. También otro estudio demostró que la interacción génica del SNP rs623908 del gen BUD13 con un SNP del gen ZPR1 estaban asociados positivamente con los niveles de colesterol LDL y por lo tanto aumentaban el riesgo de desarrollar EAC (Pranavchand et al., 2017). Sin embargo, el mecanismo de la asociación con el metabolismo de lípidos aún no se comprende muy bien. Por lo tanto, se sugiere seguir investigando el papel de los polimorfismos en el gen BUD13 a manera de interacción génica y su relación con otros genes asociados al metabolismo de lípidos.

En el presente estudio también se determinó el nivel de daño al ADN y de muerte celular en el epitelio bucal de personas con SM y sin el síndrome. Fue evidente una alta tasa de daño al ADN y aumento de los biomarcadores de muerte celular en individuos con SM en comparación con el grupo control. La obesidad

abdominal característica principal del SM está asociada a un incremento en el estrés oxidativo y posteriormente al daño al ADN (Karaman, Aydın, Geçkinli, Çetinkaya, & Karaman, 2015). Otros estudios muestran que a medida que las reservas de grasa visceral se expanden, los adipocitos generan niveles crecientes de EROS que inducen una mayor expresión y secreción de citocinas inflamatorias (DeMarco, Johnson, Whaley-Connell, & Sowers, 2010). Estas EROs tienen la capacidad de alterar proteínas e incluso causar la fragmentación de moléculas de ADN (Pinchuk, Shoal, Dotan, & Lichtenberg, 2012) y al mismo tiempo que pueden alcanzar la circulación periférica y llegar a afectar a otras células en otros sitios. Todos estos eventos desencadenan en una mayor tasa de apoptosis o muerte celular, que fue evidente en personas con SM. Este estudio se suma a la evidencia de la relación del alto daño al ADN y muerte celular con la obesidad abdominal, metabolismo anormal de lípidos y glucosa y riesgo de enfermedades futuras. Si bien el tejido del epitelio bucal puede no ser un tejido blanco en la ruta directa del efecto negativo de los componentes del SM sobre el cuerpo humano, este hallazgo es algo sorprendente, aun más, si se sabe que las células bucales tienen un recambio bastante rápido y se reemplazan después de 7 a 21 días (Thomas, Holland, Bolognesi, Kirsch-Volders, Bonassi et al., 2009) y no acumulan daño a diferencia de otro tipo de células. Se puede hipotetizar que esta dinámica producida por los componentes del SM en conjunto o de manera individual sobre el tejido epitelio bucal puede estar sucediendo en otros tejidos del cuerpo humano, sin embargo se necesitan más estudios para confirmar estos resultados.

Cuando evaluamos la asociación de los polimorfismos con los biomarcadores encontramos una relación de los micronúcleos, un biomarcador de daño al ADN, en células del epitelio bucal con el polimorfismo del gen LIPA. Los individuos con SM con el genotipo TT mutante del gen de LIPA presentaron significativamente la mayor frecuencia de micronúcleos, comparados con los otros genotipos. Se sabe que los micronúcleos son la formación de fragmentos de cromosomas o cromosomas rezagados que quedan durante la anafase de la división celular y esto es producto de un alto grado de daño a la molécula de ADN y fallas en los procesos de reparación (Fenech, Kirsch-Volders, Natarajan, Surralles, Crott et al., 2011). Como se mencionó anteriormente, el tejido del epitelio bucal puede estar expuesto a la toxicidad producida por el SM a través de la circulación periférica. De acuerdo a los resultados encontrados por Wild et al., (2011) el alelo T de riesgo del rs1412444 de LIPA puede aumentar la generación de colesterol libre en la íntima arterial. Esto conlleva a la generación de células espumosas sobrecargadas de colesterol libre que a su vez liberan citoquinas inflamatorias, en particular la IL-6 (Bhakdi, Lackner, Han, Torzewski, & Husmann, 2004) y como consecuencia promover un proceso inflamatorio. Hipotetizamos que nuestros resultados se pueden explicar principalmente a la generación de un proceso inflamatorio sistémico en estos individuos modulado en parte por el alelo de riesgo del SNP rs1412444 del gen LIPA.

Cuando examinamos la población en general, encontramos que a medida que aumentaron la presencia del número de componentes del SM, también incrementaba la frecuencia de los micronúcleos y adicionalmente, los individuos

con los valores mas altos de este biomarcador presentaron en su mayoría el alelo de riesgo T del SNP rs1412444 del gen LIPA. Estos resultados confirman lo reportado en un estudios previos realizados por nuestro grupo de investigación por Carvajal et al., 2017 donde mencionaron que los diferentes componentes del SM pueden modular la inestabilidad genómica, sin embargo proponemos que en parte la genética de los individuos también influyen en la magnitud del daño oxidativo al ADN. A pesar de que aún no es claro si el daño oxidativo al ADN promueve el SM o si el daño del ADN es el resultado de la toxicidad crónica causada por los factores de riesgo del SM (Madamanchi, Zhou, Vendrov, Niu, & Runge, 2010), los resultados del presente estudio, también pueden ayudar a aclarar en parte este debate acerca de si el SM constituye por sí mismo una patología, o si el conjunto de los factores de riesgos que lo definen provee un valor de predicción clínico más alto que cada uno por separado.

A pesar de que el SNP rs623908 del gen BUD13 está clasificado como una variante en una región intrónica, dicha variante puede presentar distintas funciones que van desde alteración del proceso de splicing alternativo de algunos genes hasta potenciar su expresión genética. Nuestro estudio es el primero en encontrar una relación del polimorfismo genético rs623908 del gen BUD13 con biomarcadores de muerte celular, en células exfoliadas del epitelio bucal. Encontramos que los pacientes diagnosticados con SM y portadores del genotipo mutante GG para el gen BUD13 presentaron significativamente mayores frecuencias de biomarcadores de muerte celular, en especial células con cromatina condensada. En este tipo de células existe una eventual desintegración

del material genético o pérdida de la información genética lo que posiblemente indiquen etapas tempranas de la apoptosis (Thomas et al., 2009). Poco se sabe del papel de BUD13 en humanos, sin embargo, el estudio de Fernández et al., (2018) quisieron determinar el papel del gen BUD13 en vertebrados, encontrando que mutaciones en este gen, pueden aumentar la expresión de un conjunto de genes como *p53*, *casp8* y *puma* que están implicados con los procesos de muerte celular o apoptosis. Además, se ha mencionado que este gen regulador se puede expresar en distintos tipos de células, incluidas las células epiteliales y adipocitos, y que su naturaleza pleotrópica podría explicar muchas de las relaciones encontradas (Aung, Yin, Wu, Wang, Liu, & Pan, 2014). Sin embargo, aún no se sabe con exactitud el papel del gen BUD13 con los biomarcadores de muerte celular por eso el supuesto efecto pleiotrópico de este gen en estos biomarcadores y en general en el SM debe validarse a través de experimentos funcionales in vitro.

Hay ciertas limitaciones pero también fortalezas en nuestro estudio. En primer lugar, el tamaño de la población fue relativamente pequeño en comparación con estudios de otras poblaciones y es posible que esto haya limitado la capacidad de detectar la asociación directa de los polimorfismos genéticos con el SM. En segundo lugar, la etiología del SM puede ser causada no solo por los factores de riesgo metabólicos y antecedentes genéticos, sino también por el estado nutricional y algunos factores ambientales. Por lo tanto, estas características podrían ser factores que pueden influir sobre los resultados de nuestro estudio. Por otro lado, una fortaleza de nuestro estudio fue que solo se restringió a hacer

análisis de los biomarcadores en una población laboralmente activa de la zona urbana del municipio de Popayán y no en otra población, controlando variables como género y etnia. Además, el uso en conjunto de biomarcadores de efecto y de susceptibilidad genética, que brindaron la oportunidad para plantear nuevas estrategias de estudio como la identificación de interacciones entre genes y de genes con el ambiente, para aumentar el conocimiento acerca de los posibles mecanismos moleculares subyacentes a la etiología del SM

CONCLUSIONES

Llevamos a cabo un estudio para esclarecer la relación de dos polimorfismos genéticos asociados al SM y biomarcadores de daño al ADN y de muerte celular con los factores de riesgo del SM.

Se identificó por primera vez en una población del suroccidente colombiano la frecuencia de dos polimorfismos en individuos con SM y sin el síndrome, sin embargo, estas variantes genéticas no estuvieron asociadas directamente con el riesgo de SM.

El estudio no encontró ninguna relación de los alelos de riesgo de los polimorfismos genéticos que modularan significativamente los valores de los parámetros del SM. Contrariamente, los resultados mostraron una disminución del IMC y la presión arterial sistólica en individuos con el genotipo mutante del gen LIPA, sin embargo atribuimos este efecto a otros factores ambientales, metabólicos y del estilo de vida y no a los polimorfismos genéticos.

Se encontró que el polimorfismo genético rs1412444 del gen LIPA se relacionó con la frecuencia de los micronúcleos y el polimorfismo genético rs623908 del gen BUD13 con las células que indican apoptosis, en personas con SM. Por lo tanto, existe una relación positiva entre los SNPs de los polimorfismos evaluados con el aumento en el nivel del daño al ADN y los procesos de muerte celular.

Finalmente, estos hallazgos en conjunto contribuirán a aclarar en parte los efectos de los mecanismos moleculares subyacentes al SM, relacionados con el metabolismo de lípidos en personas con riesgo de SM. Sin embargo, se recomienda que los próximos estudios incluyan este tipo de biomarcadores para

replicar estos resultados e inclusive se tengan en cuenta otros factores que probablemente brindarán mas información sobre la fisiopatología del SM.

RECOMENDACIONES

Recomendamos que nuestros resultados sean validados en una población de mayor tamaño para comprobar si los hallazgos se replican en varios grupos étnicos a nivel regional e internacional.

Realizar futuros experimentos en uno de los genes analizados mediante secuenciaciones para identificar potencialmente otras variaciones que puedan correlacionar el SNP rs623908 del gen BUD13 y poder determinar una función más clara en la etiología del SM.

Debido a la limitación en la identificación y caracterización de las interacciones gen a gen, proponemos en futuros estudios, examinar este tipo relaciones a través de métodos estadísticos robustos, tal como el Método de Reducción de Dimensionalidad Multifactorial (MDR), como herramienta bioinformática que permita identificar grupos de genes relacionados con una ruta biológica coherente con la etiología del SM.

REFERENCIAS

- Alberti, K., Zimmet, P., & Shaw, J. (2006). Metabolic syndrome—a new world-wide definition. A consensus statement from the international diabetes federation. *Diabetic medicine*, 23(5), 469-480.
- Aschner, P. (2010). Epidemiología de la diabetes en Colombia. *Avances en diabetología*, 26(2), 95-100.
- Asociación Latinoamericana de Diabetes. (2010). Epidemiología, Diagnóstico, Control, Prevención y Tratamiento del Síndrome Metabólico en Adultos.
- Atalah, S. E. (2012). Epidemiología de la obesidad en Chile. *Revista médica Clínica Las Condes*, 23(2), 117-123.
- Aung, L. H. H., Yin, R. X., Wu, D. F., Wang, W., Liu, C. W., & Pan, S. L. (2014). Association of the variants in the BUD 13-ZNF 259 genes and the risk of hyperlipidaemia. *Journal of cellular and molecular medicine*, 18(7), 1417-1428.
- Aung, L. H. H., Yin, R. X., Wu, D. F., Wang, W., Liu, C. W., Pan, S. L. J. J. o. c., & medicine, m. (2014). Association of the variants in the BUD 13-ZNF 259 genes and the risk of hyperlipidaemia. 18(7), 1417-1428.
- Bermúdez J, C. V. (2014). Perfil de ácidos grasos libres (AGL) en suero de jóvenes colombianos con obesidad y síndrome metabólico. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 64(4), 248 - 257.
- Bhakdi, S., Lackner, K. J., Han, S.-R., Torzewski, M., & Husmann, M. (2004). Beyond cholesterol: the enigma of atherosclerosis revisited. *Thrombosis and haemostasis*, 91(04), 639-645.
- Bonassi, S., Coskun, E., Ceppi, M., Lando, C., Bolognesi, C., Burgaz, S., . . . Fenech, M. (2011). The HUman MicroNucleus project on eXfoLiated buccal cells (HUMNXL): The role of life-style, host factors, occupational exposures, health status, and assay protocol. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 728(3), 88-97. doi:10.1016/j.mrrev.2011.06.005
- Brooks, M. A., Dziembowski, A., Quevillon-Cheruel, S., Henriot, V., Faux, C., van Tilbeurgh, H., & Seraphin, B. J. N. a. r. (2008). Structure of the yeast Pml1 splicing factor and its integration into the RES complex. 37(1), 129-143.
- Brown, A. E., & Walker, M. (2016). Genetics of insulin resistance and the metabolic syndrome. *Current Cardiology Reports*, 18(8), 1-8.
- Cárdenas Quintana, H., Sánchez Abanto, J., Roldán Arbieta, L., & Mendoza Tasayco, F. (2009). Prevalence of Metabolic Syndrome in People 20 Years Old and More: Peru, 2005. *Revista Española de Salud Pública*, 83(2), 257-265.
- Carvajal-Cucuñame, D., Manquillo-Franco, J. C., Rosero-Caldon, A. B., Perafán-Collazos, J., Montero-Carvajal, J., Alvarez-Rosero, R., & Cajas-Salazar, N. (2017). Evaluación de daño genético en pacientes con síndrome metabólico en una población del Cauca, Colombia. Un estudio caso-control. 3(2).

- Cauca, G. d. (2012). Plan Estratégico Departamental de Ciencia, Tecnología e Innovación Del Cauca.
- Chand, R. P., Kumar, A. S., Anuj, K., Vishnupriya, S., & Reddy, B. M. (2016). Distinct patterns of association of variants at 11q23. 3 chromosomal region with coronary artery disease and dyslipidemia in the population of Andhra Pradesh, India. *11(6)*, e0153720.
- Choe, S. S., Huh, J. Y., Hwang, I. J., Kim, J. I., & Kim, J. B. (2016). Adipose tissue remodeling: its role in energy metabolism and metabolic disorders. *Frontiers in endocrinology*, *7*, 30.
- Consortium, C. A. D. G. (2011). A genome-wide association study in Europeans and South Asians identifies five new loci for coronary artery disease. *43(4)*, 339.
- de Salud Pública, P. D. (2013). Pública 2012–2021: La salud en Colombia la construyes tú. *Ministerio de Salud y Protección Social*, 124.
- DeBoer, M. D., & Gurka, M. J. (2017). Clinical utility of metabolic syndrome severity scores: considerations for practitioners. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*, *10*, 65.
- DeMarco, V. G., Johnson, M. S., Whaley-Connell, A. T., & Sowers, J. R. J. C. h. r. (2010). Cytokine abnormalities in the etiology of the cardiometabolic syndrome. *12(2)*, 93-98.
- Demirbag, R., Yilmaz, R., Gur, M., Celik, H., Guzel, S., Selek, S., & Kocyigit, A. (2006). DNA damage in metabolic syndrome and its association with antioxidative and oxidative measurements. *International journal of clinical practice*, *60(10)*, 1187-1193.
- Donmez-Altuntas, H., Sahin, F., Bayram, F., Bitgen, N., Mert, M., Guclu, K., . . . Diri, H. (2014). Evaluation of chromosomal damage, cytostasis, cytotoxicity, oxidative DNA damage and their association with body-mass index in obese subjects. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, *771*, 30-36.
- Eckel, R. H., Grundy, S. M., & Zimmet, P. Z. (2005). The metabolic syndrome. *The Lancet*, *365(9468)*, 1415-1428.
- Esposito, K., Chiodini, P., Colao, A., Lenzi, A., & Giugliano, D. (2012). Metabolic Syndrome and Risk of Cancer A systematic review and meta-analysis. *Diabetes care*, *35(11)*, 2402-2411.
- Fenech, M., Kirsch-Volders, M., Natarajan, A., Surralles, J., Crott, J., Parry, J., . . . Thomas, P. J. M. (2011). Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *26(1)*, 125-132.
- Fernandez, J. P., Moreno-Mateos, M. A., Gohr, A., Miao, L., Chan, S. H., Irimia, M., & Giraldez, A. J. (2018). RES complex is associated with intron definition and required for zebrafish early embryogenesis. *14(7)*, e1007473.

- Fonseca, Z., Heredia, A., Ocampo, R., Forero, Y., Samiento, O., & Alvarez, M. (2011). Encuesta nacional de la situación nutricional en Colombia 2010 ENSIN. *Bogotá: Davinci Editores.*
- Franchini, M. (2016). Genetics of the acute coronary syndrome. *Annals of translational medicine, 4*(10), 192-192. doi:10.21037/atm.2016.02.12
- Galván-Meléndez, M. F., Calderón-Salinas, J. V., Intriago-Ortega, M. d. P., Torres-Castorena, A., Zamarripa-Escobedo, R., Meléndez-Hurtado, C. D., & Quintanar-Escorza, M. A. (2014). Estrés oxidativo en pacientes con diferente expresividad clínica del síndrome metabólico. *Medicina Interna de Mexico, 30*(6).
- Gandhi, G., & Kaur, G. (2012). Assessment of DNA damage in obese individuals. *Research Journal of Biology, 2*(2), 37-44.
- Grundty, S. M., Adams-Huet, B., & Vega, G. L. (2008). Variable contributions of fat content and distribution to metabolic syndrome risk factors. *Metabolic syndrome and related disorders, 6*(4), 281-288.
- Guénard, F., Houde, A., Bouchard, L., Tchernof, A., Deshaies, Y., Biron, S., . . . Pérusse, L. J. O. (2012). Association of LIPA Gene Polymorphisms With Obesity-Related Metabolic Complications Among Severely Obese Patients. *20*(10), 2075-2082.
- Guénard, F., Tchernof, A., Deshaies, Y., Pérusse, L., Biron, S., Lescelleur, O., . . . Vohl, M.-C. (2014). Differential methylation in visceral adipose tissue of obese men discordant for metabolic disturbances. *Physiological genomics, 46*(6), 216-222.
- Gurka, M. J., Lilly, C. L., Oliver, M. N., & DeBoer, M. D. (2014). An examination of sex and racial/ethnic differences in the metabolic syndrome among adults: a confirmatory factor analysis and a resulting continuous severity score. *Metabolism, 63*(2), 218-225.
- Heymsfield, S. B., & Wadden, T. A. (2017). Mechanisms, pathophysiology, and management of obesity. *New England Journal of Medicine, 376*(3), 254-266.
- Holland, N., Bolognesi, C., Kirsch-Volders, M., Bonassi, S., Zeiger, E., Knasmueller, S., & Fenech, M. (2008). The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: The HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research, 659*(1-2), 93-108. doi:10.1016/j.mrrev.2008.03.007
- ICBF. (2006). *Encuesta nacional de la situación nutricional en Colombia*: Instituto Colombiano de Bienestar Familiar.
- Karaman, A., Aydın, H., Geçkinli, B., Çetinkaya, A., & Karaman, S. (2015). DNA damage is increased in lymphocytes of patients with metabolic syndrome. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 782*, 30-35.
- Karastergiou, K., Smith, S. R., Greenberg, A. S., & Fried, S. K. (2012). Sex differences in human adipose tissues—the biology of pear shape. *Biology of sex differences, 3*(1), 13.

- Karelis, A., Brochu, M., & Rabasa-Lhoret, R. (2004). Can we identify metabolically healthy but obese individuals (MHO)? *Diabetes & metabolism*, 30(6), 569-572.
- Kathiresan, S., Willer, C. J., Peloso, G. M., Demissie, S., Musunuru, K., Schadt, E. E., . . . Tanaka, T. J. N. g. (2009). Common variants at 30 loci contribute to polygenic dyslipidemia. *41*(1), 56.
- Kwok, K. H., Lam, K. S., & Xu, A. (2016). Heterogeneity of white adipose tissue: molecular basis and clinical implications. *Experimental & molecular medicine*, 48(3), e215.
- Lin, E., Kuo, P.-H., Liu, Y.-L., Yang, A. C., Kao, C.-F., & Tsai, S.-J. J. S. r. (2016). Association and interaction of APOA5, BUD13, CETP, LIPA and health-related behavior with metabolic syndrome in a Taiwanese population. *6*, 36830.
- López-Jaramillo, P., Rueda-Clausen, C. F., & Silva, F. A. (2007). The utility of different definitions of metabolic syndrome in Andean population. *International Journal of Cardiology*, 116(3), 421-422. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2006.03.074>
- Madamanchi, N. R., Zhou, R.-H., Vendrov, A. E., Niu, X.-L., & Runge, M. S. (2010). Does oxidative DNA damage cause atherosclerosis and metabolic syndrome?: new insights into which came first: the chicken or the egg. In: Am Heart Assoc.
- Manna, P., & Jain, S. K. (2015). Obesity, oxidative stress, adipose tissue dysfunction, and the associated health risks: causes and therapeutic strategies. *Metabolic syndrome and related disorders*, 13(10), 423-444.
- Marseglia, L., Manti, S., D'Angelo, G., Nicotera, A., Parisi, E., Di Rosa, G., . . . Arrigo, T. (2015). Oxidative stress in obesity: a critical component in human diseases. *International journal of molecular sciences*, 16(1), 378-400.
- Martinet, W., Knaapen, M. W., De Meyer, G. R., Herman, A. G., & Kockx, M. M. (2002). Elevated levels of oxidative DNA damage and DNA repair enzymes in human atherosclerotic plaques. *Circulation*, 106(8), 927-932.
- Misra, A., & Shrivastava, U. (2013). Obesity and dyslipidemia in South Asians. *Nutrients*, 5(7), 2708-2733.
- Montes de Oca, E., Loria, J., & Chavarría, R. (2008). Prevalencia y factores de riesgo para el desarrollo del síndrome metabólico en personal médico de un servicio de urgencias. *Revista Cubana de Medicina Intensiva y Emergencias*, 7(3), 3.
- Mottillo, S., Filion, K. B., Genest, J., Joseph, L., Pilote, L., Poirier, P., . . . Eisenberg, M. J. (2010). The metabolic syndrome and cardiovascular risk: a systematic review and meta-analysis. *Journal of the American College of Cardiology*, 56(14), 1113-1132.
- O'Brien, S. E., Schrodi, S. J., Ye, Z., Brilliant, M. H., Virani, S. S., & Brautbar, A. (2015). Differential lipid response to statins is associated with variants in the BUD13-APOA5 Gene region. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 66(2), 183.
- OMS. (2000). Estrategia mundial para la prevención y el control de las enfermedades no transmisibles. *Organización Mundial de la Salud*.

- Pereira-Rodríguez, J. E., Melo-Ascanio, J., Caballero-Chavarro, M., Rincón-Gonzales, G., Jaimes-Martin, T., & Niño-Serrato, R. (2016). Síndrome metabólico. Apuntes de interés. *Revista cubana de cardiología y cirugía cardiovascular*, 22(2), 109-116.
- Pinchuk, I., Shoval, H., Dotan, Y., & Lichtenberg, D. (2012). Evaluation of antioxidants: scope, limitations and relevance of assays. *165*(6), 638-647.
- Pineda, C. A. (2013). Síndrome metabólico: definición, historia, criterios.
- Povel, C., Boer, J., Reiling, E., & Feskens, E. J. O. r. (2011). Genetic variants and the metabolic syndrome: a systematic review. *12*(11), 952-967.
- Pranavchand, R., Kumar, A. S., & Reddy, B. M. (2017). Genetic determinants of clinical heterogeneity of the coronary artery disease in the population of Hyderabad, India. *11*(1), 3.
- Pranavchand, R., & Reddy, B. (2016). Genomics era and complex disorders: Implications of GWAS with special reference to coronary artery disease, type 2 diabetes mellitus, and cancers. *62*(3), 188.
- Querales, M., Cruces, M. E., Mendoza, C., Malvacia, F., Mendoza, M., & Millán, S. Niveles de apolipoproteína B en un grupo de pacientes con síndrome metabólico.
- Rask-Madsen, C., & Kahn, C. R. (2012). Tissue-specific insulin signaling, metabolic syndrome, and cardiovascular disease. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 32(9), 2052-2059.
- Rosin, M. P. (1992). The use of the micronucleus test on exfoliated cells to identify anti-clastogenic action in humans: a biological marker for the efficacy of chemopreventive agents. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 267(2), 265-276.
- Sánchez, C. J. V., Chacón, J. P. M., & Cortés, H. T. (2011). PREVALENCIA DEL SÍNDROME METABÓLICO EN CONSULTA DE MEDICINA INTERNA. *Repertorio de Medicina y Cirugía*, 20(2), 93.
- Satoh, M., Ishikawa, Y., Takahashi, Y., Itoh, T., Minami, Y., & Nakamura, M. (2008). Association between oxidative DNA damage and telomere shortening in circulating endothelial progenitor cells obtained from metabolic syndrome patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 198(2), 347-353.
- Scarpato, R., Verola, C., Fabiani, B., Bianchi, V., Saggese, G., & Federico, G. (2011). Nuclear damage in peripheral lymphocytes of obese and overweight Italian children as evaluated by the γ -H2AX focus assay and micronucleus test. *The FASEB Journal*, 25(2), 685-693.
- Schunkert, H., König, I. R., Kathiresan, S., Reilly, M. P., Assimes, T. L., Holm, H., . . . Gieger, C. J. N. g. (2011). Large-scale association analysis identifies 13 new susceptibility loci for coronary artery disease. *43*(4), 333.
- Shaw, J. (2006). Diabetes, síndrome metabólico y epidemia cardiovascular. *Diabetes Voice*, 51(Especial).

- Sherry, S. T., Ward, M., & Sirotkin, K. (1999). dbSNP—database for single nucleotide polymorphisms and other classes of minor genetic variation. *Genome research*, 9(8), 677-679.
- Shungin, D., Winkler, T. W., Croteau-Chonka, D. C., Ferreira, T., Locke, A. E., Mägi, R., . . . Justice, A. E. (2015). New genetic loci link adipose and insulin biology to body fat distribution. *Nature*, 518(7538), 187-196.
- Simon, A. S., Roy, D. D., Jayapal, V., & Vijayakumar, T. (2010). Biochemical and genetic studies on cardiometabolic syndrome. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 25(2), 164-168.
- Srikanthan, K., Feyh, A., Visweshwar, H., Shapiro, J. I., & Sodhi, K. (2015). Systematic Review of Metabolic Syndrome Biomarkers: A Panel for Early Detection, Management, and Risk Stratification in the West Virginian Population. *International Journal of Medical Sciences*.
- Stančáková, A., & Laakso, M. (2014). Genetics of metabolic syndrome. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 15(4), 243-252.
- Suazo, J., Smalley, S. V., Hodgson, M. I., Weisstaub, G., González, A., & Santos, J. L. (2014). Polimorfismos genéticos de interleuquina 6 (IL6), IL6R e IL18: asociación con componentes del síndrome metabólico en niños chilenos con obesidad. *Revista médica de Chile*, 142(3), 290-298.
- The Coronary Artery Disease Genetics Consortium. (2011). A genome-wide association study in Europeans and South Asians identifies five new loci for coronary artery disease. *Nature Genetics*, 43, 339. doi:10.1038/ng.782
<https://www.nature.com/articles/ng.782#supplementary-information>
- Thomas, P., Holland, N., Bolognesi, C., Kirsch-Volders, M., Bonassi, S., Zeiger, E., . . . Fenech, M. J. N. p. (2009). Buccal micronucleus cytome assay. 4(6), 825.
- Trejo-Gutiérrez, J. F. (2004). Epidemiología del síndrome metabólico y diabetes mellitus tipo 2: ¿ El diluvio que viene. *Arch Cardiol Mex*, 74(2), 267-270.
- Valdés Ramos, E., & Bencosme Rodríguez, N. (2013). Síndrome metabólico y enfermedad cardiovascular en personas con diabetes mellitus tipo 2. *Revista Cubana de Endocrinología*, 24(2), 125-135.
- Vargas, J. D., Manichaikul, A., Wang, X.-Q., Rich, S. S., Rotter, J. I., Post, W. S., . . . Bluemke, D. A. J. D. i. b. (2016). Detailed analysis of association between common single nucleotide polymorphisms and subclinical atherosclerosis: the multi-ethnic study of atherosclerosis. 7, 229-242.
- Vargas-Alarcón, G., Posadas-Romero, C., Villarreal-Molina, T., Alvarez-León, E., Angeles, J., Vallejo, M., . . . Kimura-Hayama, E. J. P. O. (2013). Single nucleotide polymorphisms within LIPA (Lysosomal Acid Lipase A) gene are associated with susceptibility to premature coronary artery disease. a replication in the genetic of atherosclerotic disease (GEA) Mexican study. 8(9), e74703.

- Wang, Y., Wang, L., Liu, X., Zhang, Y., Yu, L., Zhang, F., . . . Wang, X. J. P. o. (2014). Genetic variants associated with myocardial infarction and the risk factors in Chinese population. *9*(1), e86332.
- Waterworth, D. M., Ricketts, S. L., Song, K., Chen, L., Zhao, J. H., Ripatti, S., . . . biology, v. (2010). Genetic variants influencing circulating lipid levels and risk of coronary artery disease. *30*(11), 2264-2276.
- Wellen, K. E., & Hotamisligil, G. S. J. T. J. o. c. i. (2005). Inflammation, stress, and diabetes. *115*(5), 1111-1119.
- Whiting, D. R., Guariguata, L., Weil, C., & Shaw, J. (2011). IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes research and clinical practice*, *94*(3), 311-321.
- Wild, P. S., Zeller, T., Schillert, A., Szymczak, S., Sinning, C. R., Deiseroth, A., . . . Medicine, P. (2011). A Genome-Wide Association Study Identifies LIPA as a Susceptibility Gene for Coronary Artery DiseaseClinical Perspective. *4*(4), 403-412.
- Zhang, L., You, Y., Wu, Y., Zhang, Y., Wang, M., Song, Y., . . . disease. (2017). Association of BUD13 polymorphisms with metabolic syndrome in Chinese population: a case-control study. *16*(1), 127.
- Zimmet, P., Alberti, M., George, K., & Serrano Ríos, M. (2005). Una nueva definición mundial del síndrome metabólico propuesta por la Federación Internacional de Diabetes: fundamento y resultados. *Revista española de cardiología*, *58*(12), 1371-1376.

ANEXOS

Anexo 1. Consentimiento informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del proyecto: Estudio de biomarcadores de susceptibilidad genética, daño al ADN y muerte celular, como herramienta de evaluación temprana de riesgo en la prevención y manejo de pacientes con Síndrome Metabólico.

Director del proyecto: Nohelia Cajas Salazar

Investigador principal: Nohelia Cajas Salazar

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO:

El Síndrome Metabólico es considerado una patología crónica que abarca diferentes factores de riesgo cardiovascular que incluyen dislipidemia, hipertensión arterial, hiperglicemia y obesidad abdominal. Se ha constituido actualmente en un problema de salud a nivel mundial debido a su prevalencia y a su riesgo a desarrollar enfermedades de gran impacto en la calidad y expectativa de vida de la población humana que incluyen enfermedades cardiovasculares y diabetes mellitus tipo II. Actualmente en el departamento del Cauca se desconoce la prevalencia de la enfermedad y los determinantes más prevalentes asociados al Síndrome metabólico, a pesar de ser uno de los departamentos con altos índices (21,7%) de sobrepeso y obesidad. Existe una necesidad de realizar estudios a nivel molecular para identificar biomarcadores tempranos que permitan la identificación de individuos susceptibles y al tiempo incluirlos como candidatos para el tratamiento de individuos con síndrome metabólico, teniendo en cuenta las particularidades étnicas, ambientales, genéticas, género, rangos de edad, entre otras, propias de Colombia. Con el fin de contribuir al conocimiento de los mecanismos que subyacen el desarrollo del síndrome metabólico y reportar el comportamiento de los criterios diagnóstico del mismo en las distintas poblaciones humanas, el objetivo de este estudio será establecer la asociación entre los polimorfismos genéticos IL-6, HMOX-1 y PPAR γ , los indicadores de daño al ADN, muerte celular, concentraciones de FABP5 y los factores de riesgo en pacientes con Síndrome Metabólico. Por lo tanto, la población de estudio serán un grupo de personas que sean diagnosticadas con Síndrome Metabólico y un grupo de personas sin la enfermedad.

METODOLOGÍA:

Se seleccionarán 220 personas, que incluirán 110 pacientes con síndrome metabólico y 110 personas saludables de la misma región. Las personas seleccionadas y que voluntariamente quieran participar deberán responder un cuestionario de 10 a 20 minutos para suministrar información personal referente a la edad, estado de salud y estilo de vida. Posteriormente, cada participante donará una muestra de sangre obtenida del brazo mediante venopunción (5 ml para extracción de ADN y 5 ml para el perfil lipídico y glucosa). Consecutivamente, una persona capacitada tomará algunas medidas corporales (peso, talla, perímetro abdominal) y presión arterial. Las muestras de sangre obtenidas para la extracción de ADN serán procesadas en el laboratorio de Toxicología Genética y Citogenética de la Universidad del Cauca, a un producto final de 0,5ml de una solución de buffer TE + ADN. Se usarán aproximadamente 30 μ l de ADN para la determinación de polimorfismos genéticos. La solución buffer TE+ADN restante será almacenados en el grupo de investigación y serán utilizados solo con fines de investigaciones en proyectos futuros.

BENEFICIOS DEL ESTUDIO:

BENEFICIOS A LA SOCIEDAD: Aportará información sobre la identificación de los factores de riesgo cardiovascular y biomarcadores de susceptibilidad genética, bioquímicos y citogenéticos presentes en individuos con Síndrome Metabólico en una población del suroccidente colombiano.

RIESGOS ASOCIADOS CON EL ESTUDIO:

RIESGO DE PARTICIPACIÓN. Los riesgos potenciales de participación en el estudio son sangrado o formación de un hematoma en el sitio de la toma de la muestra de sangre. Riesgos que serán

controlados por un profesional experto en la toma de muestras biológicas a través del uso de técnicas médicamente aceptadas y de implementos estériles nuevos. Para garantizar la confiabilidad de la información suministrada, los resultados de las pruebas genéticas, bioquímicas y citogenéticas serán codificadas y se darán a conocer en forma grupal más no individual a través de charlas con el propósito de generar conciencia en la población acerca de los riesgos de salud causados por el sobrepeso y la obesidad.

Investigador encargado de la custodia de resultados: Nohelia Cajas Salazar cc: 25.280.730 Docente titular, Departamento de Biología Tel. 8209800 ext 2643

RESPONSABILIDAD DE LOS PARTICIPANTES EN LAS PRUEBAS U OBSERVACIONES Y REGISTROS

COMPENSACIÓN

Los participantes entienden que no recibirán ninguna retribución económica por la participación voluntaria en el estudio. Los datos obtenidos serán confidenciales y los resultados de los exámenes clínicos serán dados a conocer a los participantes para que inicien un proceso de control con sus respectivas entidades proveedoras de salud.

VOLUNTARIEDAD

Usted está siendo invitado a participar en este estudio de investigación. Antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los siguientes apartados. Este proceso se conoce como consentimiento informado. Siéntase con absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto.

Una vez que haya comprendido el estudio y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme esta forma de consentimiento, de la cual se le entregará una copia firmada y fechada.

- No habrá ninguna consecuencia desfavorable usted, en caso de no aceptar la invitación.

La participación es libre y voluntaria; si decide participar en el estudio, puede retirarse en el momento que lo desee, -aun cuando el investigador responsable no se lo solicite-, informando las razones de su decisión, la cual será respetada en su integridad.

- En el transcurso del estudio usted podrá solicitar información actualizada sobre el mismo, al investigador responsable.

- Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado que se anexa a este documento.

La información obtenida solamente será utilizada para la investigación mencionada en el presente documento y ante cualquier inquietud favor comunicarse con: Nohelia Cajas Salazar CC 25.280.730 docente de la Universidad del Cauca, en el Laboratorio de Toxicología Genética y Citogenética en la carrera 2º No. 1A – 25 Barrio Caldas, Popayán, en los teléfonos 8209800 Ext. 2643.

Anexo 2. Modelo de encuesta

UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA

GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN TOXICOLOGÍA GENÉTICA Y CITOGÉNICA

Proyecto: Estudio de biomarcadores de susceptibilidad genética, daño al ADN y muerte celular, como herramienta de evaluación temprana de riesgo en la prevención y manejo de pacientes con Síndrome Metabólico.

Código _____

Fecha: dd/mm/aaaa [][][][]

SECCIÓN A. INFORMACIÓN PERSONAL

A1. NOMBRE: _____

A2. DOCUMENTO DE IDENTIDAD _____

A3. DIRECCIÓN: _____

A4. TELEFONO CELULAR: _____

A5. FECHA DE NACIMIENTO: dd/mm/aaaa [][][][][][]

A6. EDAD: [][]

A7. GÉNERO:

1. Masculino 2. Femenino

A8. ETNIA:

1. Afrodescendiente

2. Indígena

3. Blanco

4. Mulato

5. Mestizo

A10. ESTADO CIVIL ACTUAL (INDISTINTAMENTE DEL ESTADO LEGAL):

1. Soltero (a)

2. Casado (a)

3. Separado (a)

4. Viudo (a)

A11. EN CUANTO ESTIMARÍA USTED SUS INGRESOS MENSUALES?

1. < 1 SMLV

2. 1-3 SMLV

3. > 3 SMLV

A12. LUGAR DE PROCEDENCIA:

1. Urbano 2. Rural

Barrio: _____

SECCIÓN B. EDUCACIÓN, OFICIO Y EXPOSICIÓN

B1. CUAL ES SU NIVEL EDUCATIVO?

1. Ninguno [][] 4. Técnico [][]

2. Primaria [][] 5. Universitario [][]

3. Secundaria [][] 6. Postgrado [][]

B2. SU OCUPACIÓN ACTUAL ES

B3 EXPOSICIÓN.

B3.1 *Compuestos de su conocimiento a los que usted este expuesto:*

Químicos Hidrocarburos Fibras Otro ¿Cuál? _____

B3.1.1 *Usa Elementos de Protección Personal (diario):*

Siempre (todo el tiempo) Casi siempre (1-2 veces) Nunca

B3.1.2 Años en los cuales ha desempeñado el trabajo: _____

B3.1.3 Horas de permanencia en el trabajo: _____

SECCIÓN C. ESTILO DE VIDA

C1. CONSUMO DE ALCOHOL

1. Nunca [][]

2. Ex bebedor (5 años atrás) [][]

3. Bebedor Ocasional [][]

4. Bebedor habitual [][]

C1.1 Cantidad y Marca comercial

Cerveza: [][][] [][][]

Aguardiente: [][][][] [][][][]

Ron: [][][][] [][][][]

Tequila: [][][][] [][][][]

Whisky: [][][][] [][][][]

Vino Tinto: [][][][] [][][][]

Vino Blanco: [][][][] [][][][]

Vino Rojo: [][][][] [][][][]

Otro: [][][][] [][][][]

Litro: 750ml; Media: 375ml; Copa pequeña: 5ml; Cerveza: 330ml

D2. ACTIVIDAD FÍSICA

D2.1 ¿Su trabajo le exige realizar un tipo de actividad física intensa o moderada*? No Si

D2.1.1 ¿Su trabajo le exige realizar un tipo de actividad física intensa? No Si Cuantas horas al día: ____ Días a la semana: ____

D2.1.2 ¿Su trabajo le exige realizar un tipo de actividad física Moderada*? No Si Cuantas horas al día: ____ Días a la semana: ____

*Actividad física intensa: Cargar cosas pesadas de un lugar a otro, al menos 10 minutos consecutivos; *Actividad física Moderada: Cargar cosas livianas de un lugar a otro, al menos 10 minutos consecutivos

D2.2 Para desplazarse a su lugar de trabajo, supermercado, ir de compras u otro, usted lo hace generalmente en:

Bicicleta (al menos 10min consecutivos) Caminar (al menos 10min consecutivos)

En una semana típica cuantos días: ____ En un día típico cuantas horas:minutos __:__

D2.3 Practica algún tipo de actividad física en sus ratos libres:

No Si En una semana típica cuantos días: ____ En un día típico cuantas horas:minutos __:__

D2.4 En un día típico cuantas horas permanece sentado (incluyendo las horas en el trabajo y cuando llega a casa): Número de horas ____

D3 HORAS DE SUEÑO (Últimos 7 días)

D3.1 Cuantas horas duerme los días de semana (Domingo, lunes, martes, miércoles, jueves): ____

D3.2 Cuantas horas duerme los días de semana (viernes y sábado): ____

D3.3 El sueño es: Constante Intermitente

SECCIÓN E. VALORACIÓN ANTROPOMETRICA Y CLINICA

E1. MEDIDA DEL INDICE DE MASA CORPORAL: PESO: ____ kg TALLA: ____ cm IMC: ____

E2. MEDIDA DEL PERIMETRO ABDOMINAL: ____ cm E4. VALOR PRESIÓN ARTERIAL ____/____ mmHg

SECCIÓN F. DATOS PARACLINICOS

F1. VALOR DE GLICEMIA. ____ mg/dl

F2. VALOR TRIGLICERIDOS: ____ mg/dl

F3. VALOR HDL: ____ mg/dl

F4. VALOR COLESTEROL TOTAL: ____ mg/dl

SECCION G. ANTECEDENTES PERSONALES Y FAMILIARES

G1. ANTECEDENTES PERSONALES

Ha sido diagnosticado con algún tipo enfermedad No Si ¿Cuál?: _____

G2. ANTECEDENTES FAMILIARES

Enfermedad	Si	No		Enfermedad	Si	No
Infarto Agudo de Miocardio				Diabetes Mellitus tipo 1		
Dislipidemia				Diabetes Mellitus tipo 2		
Hipertensión arterial				Diabetes Gestacional		
Obesidad						

G3. ACTUALMENTE TOMA MEDICAMENTOS:

No Si Nombre del medicamento: _____

Hace cuánto: _____ (meses)

SECCIÓN H. HÁBITOS DIETARIOS

ALIMENTO		NUNCA	DIARIO	1-2 VECES/SEM	1-2 VECES/MES	1-6 VECES/AÑO	Porción
Proteínas							
Pescado							
Cereales							
Carbohidratos							
Verduras y vegetales							
Frutas							
Grasas							
BEBIDAS	Con Azúcar o edulcorantes	Sin Azúcar					
Jugos							
Té							
Gaseosas							
Otras bebidas							

Porción: Plato entero, Medio plato, ¼ del plato; Vaso= 200ml

H2. Temperatura (aprox.) a la que consume sus alimentos:

Muy Calientes Tibios

H3. ¿Cuantas comidas consume al día? _____

Se "salta" comidas No Si ¿Cuáles? _____

Encuestador (a): _____