

Polimorfismo rs4998 del gen ADRB3 y su relación con el índice de masa corporal

Polymorphism rs4998 of the ADRB3 gene and its relationship with the body mass index

León, Francisco Javier¹; Pérez Forero, Viviana Lucía¹; Hernández Mateus, Luisa Fernanda²; Herrera Celis, Javier Orlando³; Gil Zapata, Adriana María¹; Pico Romero, Adriana Lucía¹

1 Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agropecuarias. Grupo Ciencias Básicas y Aplicadas para la Sostenibilidad CIBAS. Universidad de Santander.

2 Facultad de Ciencias de la Salud. Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico Universidad de Santander.

3 Bienestar Universitario. Universidad de Santander.

Recibido: 3/julio/2019. Aceptado: 27/noviembre/2019.

RESUMEN

Introducción: Para el 2007 en Colombia se estimó que el 56% de la población adulta era obesa, condición que se considera un problema de salud pública con implicaciones en el desarrollo de enfermedad coronaria.

Objetivo: Determinar la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas y la relación del polimorfismo rs4998 del gen ADRB3 con el índice de masa corporal en una población de docentes y administrativos.

Materiales y Métodos: La extracción de ADN se llevó a cabo mediante un método comercial, para la amplificación de ADN se emplearon cebadores específicos no marcado con fluorocromos, los fragmentos obtenidos fueron purificados mediante las enzimas SAP y EXOSAP, finalmente se realizó minisequenciación en el ABI PRISM 310 y posterior lectura de electroferogramas. El análisis de las variables sociodemográficas se realizó mediante métodos univariados y métodos bivariados empleando pruebas de significancia como: test Chi² de Pearson y test exacto de Fisher. Modelos lógicos fueron empleados para evaluar asociación.

Resultados: Las frecuencias genotípicas encontradas fueron 0,96 GG, 0,014 CG y 0,020 CC. Las frecuencias alélicas fueron 0,027 C y 0,973 G. La muestra se encontró en equilibrio de Hardy-Weinberg con $\chi^2 = 81.153_{(1)}$ ($p = 0.000$) y se calculó la estructura poblacional mediante la prueba $F_{st} = 0,743$.

Discusión: Encontrar la población en equilibrio de Hardy-Weinberg indica que los individuos se están mezclando al azar. El coeficiente de endogamia o estadístico F_{st} , indica que la población presenta una alta estructura o diferenciación genética y existe fijación del alelo mutado G; esto podría obtener falsas asociaciones con la patología de interés.

Conclusión: Las frecuencias obtenidas en este estudio no se ajustan a los modelos génicos propuestos para estudios de asociación; por lo tanto, se recomienda aumentar el tamaño de la muestra para futuras investigaciones o plantear estudios de casos y controles.

PALABRAS CLAVE

Polimorfismo genético; ADRB3; Índice de masa corporal; Obesidad.

SUMMARY

Introduction: At 2007 in Colombia it was estimated that a portion 56 % from the adult population was obese, a condition that is considered a public health problem with implications in the development of coronary heart disease.

Correspondencia:
Francisco Javier León
fleon@udes.edu.co

Objective: Determine the distribution of allelic and genotypic frequencies and the relation of the polymorphism rs4998 of the ADRB3 gene with the Body Mass Index in a population of teachers and administrators of an university institution in Colombia.

Methods: DNA extraction was carried out by a commercial method, for specific DNA amplification, specific primers not labeled with fluorochromes were used, fragments obtained were purified by SAP and EXOSAP enzymes, and finally minisequencing was performed in the ABI PRISM 310 and later electropherogram reading. The analysis of the sociodemographic variables was performed using univariate methods and bivariate methods using significance tests such as: Pearson's Chi2 test and Fisher's exact test. Logistic models were used to evaluate association.

Results: The genotype frequencies found were 0.96 GG, 0.014 CG and 0.020 CC. The allele frequencies were 0.027 C and 0.973 G. The sample was found in Hardy-Weinberg equilibrium with $\chi^2 = 81.153 (1) (p = 0.000)$ and the population structure was calculated by means of the Fst test = 0.743.

Discussion: Finding the population in Hardy-Weinberg equilibrium, indicates that individuals were mixed randomly. The coefficient of inbreeding or statistical Fst, is very close to one, which indicates that the population has a high structure or genetic differentiation and there is fixation of the mutated allele G. This could obtain false associations with the pathology of interest.

Conclusion: The frequencies obtained in this study do not fit the proposed gene models for association studies, therefore, it is recommended to increase the sample size for future researches or to propose case-control studies.

KEYWORDS

Genetic Polymorphism; ADRB3; Body Mass Index; Obesity.

ABREVIATURAS

ISLO: Instituto Latinoamericano de Obesidad y Sobrepeso.

SEEDO: Sociedad española para el estudio de la obesidad.

ADRB3: Receptor Beta 3 Adrenérgico.

EHW: Equilibrio de Hardy Weinberg.

IMC: Índice de masa corporal.

AMPC: Adenosín monofosfato cíclico.

SNP: Polimorfismo de un solo nucleótido.

DE: Desviación estándar.

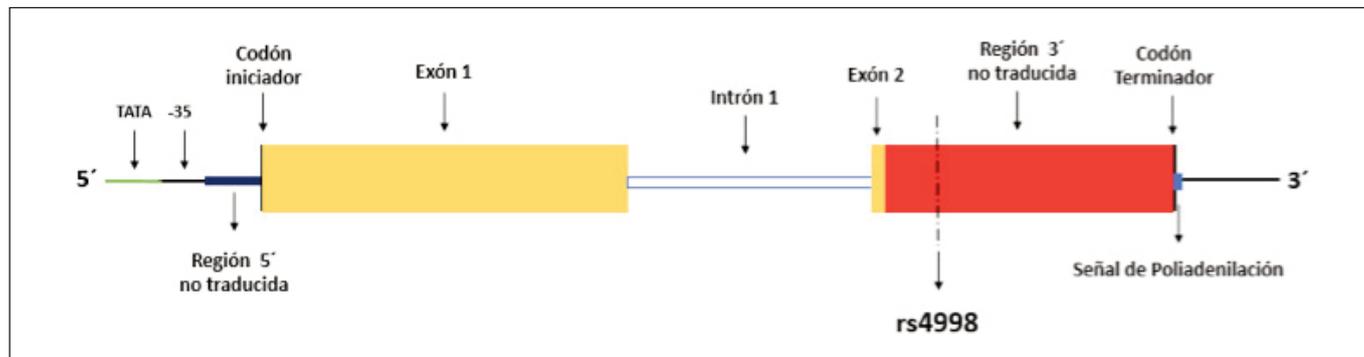
INTRODUCCIÓN

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), más de 2.8 millones de personas mueren en el mundo cada año a causa del sobrepeso y la obesidad; convirtiéndose en un problema de salud pública que disminuye la calidad y esperanza de vida en aproximadamente 10 años¹. En 2016 más de 650 millones de adultos que representaban el 13% de la población eran obesos², datos que aumentarán un 22% para el 2045 según el Instituto Latinoamericano de Obesidad y Sobrepeso (ISLO)³. En el 2015 en Colombia aproximadamente 27 millones de adultos entre 18 y 64 años presentaron obesidad, siendo más frecuente en mujeres (22.4%) que en hombres (14.4%), cifras que se incrementaron en un 20% respecto a lo publicado en la Encuesta Nacional de Situación Nutricional de Colombia en 2010 (ENSIN)^{4,5}.

La obesidad es una enfermedad de origen multifactorial crónica no transmisible^{6,7} que ha sido estudiada a partir de la evaluación de genes y sus productos que participan en diversos procesos metabólicos. Tal es el caso del Receptor Beta 3 Adrenérgico (ADRB3) de las células del adipocito⁸, que participa en el gasto energético a través de la estimulación de la termogénesis en el tejido adiposo marrón y en el tejido adiposo blanco durante la lipólisis⁹. La activación del ADRB3 es inducida por catecolaminas (epinefrina o norepinefrina) ocasionado un cambio en el receptor y de esta forma se fosforila la proteína G, desacoplando la subunidad α que activa la adenilatociclasa quien provoca el incremento del Adenosín Monofosfato Cíclico (AMPC). Las concentraciones elevadas de AMPC activan la Proteína Quinasa A (PKA), que a su vez mediante fosforilación activa la Lipasa Sensible a Hormonas (HSL).

Los triacilglicérols (TAG) son degradados por una ruta metabólica alterna por la Triacil Glicerol Lipasa (ATGL) en diacilglicéridos (DAG), sobre estos actúa la HSL, convirtiéndolos en monoglicéridos (MAG). La acción de la Monoglicérido Lipasa (MGL) transforma los MAG en Ácidos Grasos No Esterificados (NEFA) y Glicerol¹⁰. Estos ácidos grasos son absorbidos por la mitocondria para la generación de energía a través de la termogénina (UCP1), mediante el desacople de la bomba de protones liberando energía en forma de calor. Lo anterior ocasiona un incremento en el consumo de energía en la oxidación de lípidos y una disminución en el peso corporal^{11,12}.

El gen ADRB3 está asociado con diversas patologías como la enfermedad de Gallstone¹³, obesidad central¹⁴, diabetes mellitus tipo II¹⁵, obesidad mórbida¹⁶ e insulino resistencia¹⁷, la presencia de una alteración en el gen ADRB3 impide la activación de la lipólisis, obteniendo como resultado la disminución de la tasa metabólica basal¹⁸ que se ve reflejado en un posible aumento del Índice de Masa Corporal (IMC), obesidad mórbida y síndrome metabólico (SM)^{19,20,21}. El IMC permite clasificar un individuo de acuerdo con el peso y talla

Gráfica 1. Estructura general del gen ADRB3 y ubicación del SNP rs4998.

Fuente: Autores.

(normopeso, sobrepeso y obesidad); esta medida evalúa indirectamente las variaciones de la masa libre de grasa, muscular y ósea de una persona²², cambios en IMC se deben a factores a nivel genético, ambiental y psicosociales; sin embargo, el estudio realizado por Petermann et al (2017), evidencia que la obesidad está directamente relacionada con cambios en el estilo de vida y no solo con la edad, sexo y genética²³.

Los polimorfismos un solo nucleotido más estudiados del gen ADRB3 son el rs4994 (Trp64Arg) y el rs4998. Este último muta de C>G, en el intrón 2, de la hebra "Forward" posición 7699²⁴ de la región 3-UTR (del inglés *untranslated region*) en la posición 1674 (Gráfica 1). La región no traducida 3-UTR en las células de los mamíferos en algunos genes se encargan de la regulación de la transcripción²⁵ y en ocasiones actúan en la degradación del ARNm; desempeñando un rol importante en la determinación del destino postranscripcional del ARNm²⁶. El objetivo de este trabajo fue determinar la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas, el equilibrio de Hardy-Weinberg y la relación del polimorfismo rs4998 del gen ADRB3 con el IMC en una población de docentes y administrativos de la Universidad de Santander.

MÉTODOS

Diseño de estudio y muestra

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal. La población estuvo conformada por 219 personas pertenecientes al programa de estilos de vida saludable de la institución (Bucaramanga, Colombia). Para el cálculo de la muestra (103 individuos) se consideró un nivel de confianza del 95%, un margen de error del 5%, las proporciones $p = 0,85$ y $q = 0,15$, se obtuvieron del promedio de las frecuencias alélicas publicadas en el sitio dbSNP *Short Genetic Variations* del NCBI. Finalizado el estudio se logró genotipificar 147 participantes del programa estilos de vida saludable de la institución. La presente investigación se fundamenta en los principios establecidos en la Declaración de Helsinki (2013)²⁷ y para su ejecución contó con la aprobación del comité de ética de la institución. A cada

participante se le explicaron los objetivos del proyecto y la metodología a emplear y posteriormente cada uno firmó el respectivo consentimiento informado.

Análisis Bioquímicos

A los participantes se les realizaron análisis bioquímicos como colesterol total y triacilglicéridos. La estratificación de los individuos según sus niveles de colesterol total y triglicéridos se hizo según los criterios de la Fundación Hipercolesterolemia Familiar²⁸.

Índice de Masa Corporal (IMC)

Para la cuantificación del porcentaje de grasa corporal e IMC se empleó el método de bioimpedancia eléctrica con un adipómetro digital OMRON ref. HBF306. Para la clasificación de los participantes de acuerdo con el porcentaje de grasa e IMC se consideraron los criterios SEEDO 2016²⁹.

Polimorfismo genético

La secuencia de referencia del polimorfismo rs4998 del gen ADRB3, se obtuvo de la base de datos *Genbank* (Gene ID: 155 NCBI).

Métodos

Para el análisis genético se practicó punción capilar y se tomó una mancha de sangre en un papel FTA; posteriormente se extrajo ADN utilizando el *kit PreFiler Forensic DNA®*. El ADN se amplificó en un termociclador 2720 (*Applied Biosystems®*), usando cebadores específicos no marcados para localizar el polimorfismo rs4998 del gen ADRB3, los cuales fueron diseñados empleando el software Primer 3 (**Tabla 1**).

Posteriormente los amplificados se purificaron mediante el uso de las enzimas SAP y EXOSAP para eliminar el exceso de ADN no amplificado. Después se realizó la tipificación del SNP por minisequenciación *SNaPshot Multiplex®* (*Applied Biosystems®*) en el equipo ABI PRISM® 310 y para ello se incubó

Tabla 1. Especificaciones técnicas de cebadores y sonda para minisequenciación.

	Secuencias	TM °C*	%GC**
Cebadores	5'-CCAAGTGGGTTTTYACCATC3'(F)	62.8	47.5
	5'-AGYTCTCTTTGCCCTAAGCA-3'(R)	62.3	47.5
Sonda	5'-cgtcgtgaaagtctgacaaCCTCAGTGGTAGTGCCAG-3'(F)	60.1	66.6

SNP: Polimorfismo de un solo nucleótido. (F): primer Forward; (R): primer Reverse. *TM: Temperatura de Hibridación. ** %GC: Porcentaje de guaninas y citosinas.

el amplificado purificado con una sonda que reconoce la región inmediatamente aledaña al SNP o a la base nitrogenada de la hebra de enfrente del SNP (Tabla 1), permitiendo de esta forma la identificación del polimorfismo; una vez el ddNTP se incorpore.

Al finalizar la minisequenciación, los productos se corrieron en una electroforesis capilar en el equipo ABI PRISM 310® (*Applied Biosystems*®), donde a medida que avanzan por el capilar reciben la señal del láser que excita los fluorocromos de los ddNTPs y estos emiten unidades de fluorescencia de un color determinado para cada alelo: verde para la adenina, amarillo para la citosina, azul para la guanina y rojo para la timina.

Análisis de los datos

Para el cálculo de las variables sociodemográficas se realizó un análisis univariado y el bivariado. Para las pruebas de significancia se realizó el test chi-cuadrado y test Exacto de Fisher, con un nivel de significancia de $p < 0.05$. Para el análisis de asociación se empleó la IMC como variable dicotómica dependiente (Normal (0) y Sobrepeso (1)) y las demás variables como independientes (continuas y organizadas de forma categórica) incluidos los genotipos y los modelos de herencia planteados como el Codominante (Co), Dominante (Do), Recesivo (Re) y Aditivo (Ad). Se empleó el

software estadístico STATA 14.0. Para el cálculo de las frecuencias genotípicas, alélicas, el test de Hardy-Weinberg y el coeficiente de endogamia o Estadístico *Fst*, se empleó el software GenAlex 6.5®. De acuerdo con Iniesta, Guinó & Moreno (2015), para el estudio de asociación del polimorfismo con el IMC y otras variables, se pueden emplear tablas de contingencia y contrastar la hipótesis de asociación el test de Chi² de Pearson y calcular *odds ratios* (OR) o emplear modelos de regresión logística.

RESULTADOS

Análisis bioquímicos

La genotipificación se realizó a 147 participantes. Los análisis bioquímicos y las medidas antropométricas se tomaron a 85 y 123 participantes del programa estilos de vida saludables. De los participantes, 63.64 % (91) correspondían a mujeres y 36.36 % (52) a hombres y el 2,29 % (4) no reportó el sexo. Las edades oscilaron entre los 20 y 72 años con un promedio de edad de 39.9 años (DE: +/- 11.03). Para los análisis descriptivos de las variables bioquímicas y el IMC se agruparon en varias categorías y se compararon por sexo, se realizó el estadístico Chi², siendo la única variable significativa el colesterol ($p = 0,000$); los datos se presentan en la **tabla 2**.

Tabla 2. Análisis descriptivos de los participantes en el estudio.

Variable	Clasificación	Mujeres n (%)	Hombres n (%)	Ch ² _(gl)	p-valor
IMC (kg/m ²)	Normopeso	33 (27.27)	13 (10.74)	2.1716 ₍₂₎	0.338
	Sobrepeso	31 (25.62)	21 (17.36)		
	Obesidad	13 (10.74)	10 (8.26)		
Colesterol (mg/dL)	Normal	37 (43.53)	18 (21.18)	1.6068 ₍₁₎	0.205
	Elevado	16 (18.82)	14 (16.47)		
Triglicéridos (mg/dL)	Normal	43 (50.59)	12 (14.12)	16.6331 ₍₁₎	0.000
	Elevado	10 (11.76)	20 (23.53)		
Presión diastólica (mmHg)	Normal	60 (53.57)	30 (26.79)	0.0724 ₍₁₎	0.788
	Prehipertenso	14 (12.50)	8 (7.14)		

* Se consideró un $p < 0,05$.

Análisis genéticos

En la muestra analizada se observó los siguientes genotipos: 142 GG, 2 GC y 3 CC. Las frecuencias genotípicas: 0.96 GG, 0.014 CG y 0,020 CC. Las frecuencias alélicas: 0.027 C y 0.973 G. Se evaluó el equilibrio de Hardy-Weinberg con el fin de establecer las frecuencias que deben observarse en la población el estadístico empleado es el $\chi^2 = 81.153_{(1)}$ ($p = 0.000$) y se calculó la estructura poblacional mediante la prueba $F_{st} = 0.743$.

Análisis bivariados

Para evaluar la asociación del IMC (variable dependiente) con las variables de interés construyeron tablas de contingencia y se empleó la prueba de χ^2 : Colesterol ($\chi^2_{(2)} = 0.0969$; $p = 0.953$); triglicéridos ($\chi^2_{(2)} = 1.0784$; $p = 0.583$); presión diastólica ($\chi^2_{(2)} = 2.9575$; $p = 0.228$) y sexo ($\chi^2_{(2)} = 2.1716$; $p = 0.338$). En cuanto a los análisis bioquímicos el colesterol fue la única variable con diferencias significativas respecto al sexo. De acuerdo con los resultados de la prueba de probabilidad exacta de Fisher, no existe asociación los genotipos del polimorfismo rs4998 con el IMC y ninguna de las variables descritas en la tabla 2.

DISCUSIÓN

Respecto a las frecuencias alélicas encontradas en la muestra de estudio, estas son similares a las publicadas en dbSNP *Short Genetic Variations* del NCBI, donde se evidencia que el alelo mutado (G) se encuentra en mayor proporción en varias poblaciones. El genotipo más frecuente en este estudio fue el GG (0.96), diferente al genotipo GC, el cual es más frecuente en poblaciones europeas (0.78) y África subsahariana (0.83). El encontrar la población en equilibrio de Hardy-Weinberg indica que los individuos se están mezclando al azar.

En este estudio no se encontró asociación entre el IMC y demás variables estudiadas al igual que con los genotipos del rs4998 y los diferentes modelos de herencia; contrario a los hallazgos de Oizumi y cols. (2001) citado en Espinosa G., C. (2007), quienes reportaron que el genotipo Arg64Arg del gen ADRB3, si era un factor de riesgo 2.13 más para obesidad y Diabetes Mellitus Tipo 2 en una población japonesa³⁰.

CONCLUSIONES

Los programas que fomentan los estilos de vida son importantes porque permiten mejorar las condiciones de vida de los trabajadores y se debe realizar un monitoreo del perfil lipídico y disminuir los factores de riesgo para enfermedad coronaria. Se recomienda aumentar el tamaño de la muestra y el número de polimorfismos para establecer asociación con otros genes y así realizar una intervención temprana de diferentes enfermedades multifactoriales.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su gratitud hacia la vicerrectoría de Investigaciones de la UDES por el apoyo para el desarrollo del proyecto titulado "Estudio Poblacional de los Polimorfismos: Gly185Cys del Gen APOA5, Gly15= del Gen de la Adiponectina, Pro85Gln del Gen PPAR-Gama y 250G>C del Receptor Beta 3-Adrenérgico Asociados con Síndrome Metabólico en una población de profesores que hacen parte del programa riesgo cardiovascular de la Universidad de Santander UDES".

BIBLIOGRAFÍA

1. Organización Mundial de la Salud. 10 datos sobre la obesidad. [Online].; 2017. Acceso 29 de Noviembre de 2018. Disponible en: HYPERLINK "<https://www.who.int/features/factfiles/obesity/es/>" <https://www.who.int/features/factfiles/obesity/es/>.
2. Organización Mundial de la Salud. Obesidad y sobrepeso. [Online].; 2018. Acceso 29 de Noviembre de 2018. Disponible en: HYPERLINK "<http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>" <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
3. Instituto Latinoamericano de Sobrepeso y Obesidad. El 22% de las personas en el mundo serán obesas en 2045. [Online].; 2018.. Disponible en: HYPERLINK "<http://www.ilsoeducacion.com/el-22-de-las-personas-en-el-mundo-seran-obesas-en-2045/>" <http://www.ilsoeducacion.com/el-22-de-las-personas-en-el-mundo-seran-obesas-en-2045/>.
4. Ministerio de Salud y Protección Social. Encuesta Nacional de Situación Nutricional de Colombia (ENSIN) 2015. [Online].; 2017. Acceso 30 de Noviembre de 2018. Disponible en: HYPERLINK "<https://www.minsalud.gov.co/Paginas/Gobierno-presenta-Encuesta-Nacional-de-Situaci%C3%B3n-Nutricional-de-Colombia-ENSIN-2015.aspx>" <https://www.minsalud.gov.co/Paginas/Gobierno-presenta-Encuesta-Nacional-de-Situaci%C3%B3n-Nutricional-de-Colombia-ENSIN-2015.aspx>.
5. Ministerio de Salud y Protección Socia. Analisis de situación de salud (asis) colombia, 2016. [Online].; 2016. Acceso 30 de Noviembre de 2018. Disponible en: HYPERLINK "<https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/PSP/asis-colombia-2016.pdf>" <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/ED/PSP/asis-colombia-2016.pdf>.
6. Vargas ER, Viñas MRA, Delisle H. Prevalence of the metabolic syndrome and associated lifestyles in adult males from Oaxaca, Mexico. *Salud Publica Mex.* 2007; 49(2): p. 94-102.
7. Soto C V, Vergara W E, Neciosup P E. Prevalencia y factores de riesgo de síndrome metabólico en población adulta del departamento de Lambayeque, Perú - 2004. *Rev. perú. med. exp. salud publica.* 2005; 22(4): p. 254-326.
8. Azcárate TM, del Moral A, Hernández JM. Estudios genéticos de la obesidad en humanos. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.* 2000; 115(3): p. 103-110.
9. Mergen H, Karaaslan C, Mergen M, Ozsoy ED, Ozata M. LEPR, ADRB3, IRS-1 and 5-HTT genes polymorphisms do not associate with obesity. *Endocr J.* 2007; 54(1): p. 89-94.

10. Holm C. Molecular mechanisms regulating hormone-sensitive lipase and lipolysis. *Biochem Soc Trans.* 2003; 31(6): p. 1120-4.
11. Cotecchia S, Stanasila L, Diviani D. Protein-protein interactions at the adrenergic receptors. *Curr Drug Targets.* 2012; 13(1): p. 15-27.
12. National Center for Biotechnology Information. ADRB3 adrenoceptor beta 3 [Homo sapiens (humano)]. [Online]; 2009. Acceso 1 de Diciembre de 2018. Disponible en: HYPERLINK "https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?cmd=Retrieve&dopt=Graphics&list_uids=155" https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?cmd=Retrieve&dopt=Graphics&list_uids=155.
13. Klass D, Lauer N, Hay B, Kratzer W, Fuchs M, Group ES. Arg64 variant of the beta3-adrenergic receptor is associated with gallstone formation. *Am J Gastroenterol.* 2007; 102(11): p. 2482-7.
14. Rosmond R. Association studies of genetic polymorphisms in central obesity: a critical review. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2003; 27(10): p. 1141-51
15. Inukai T, Tayama K, Inukai Y, Matsutoma R, Takebayashi K, Aso Y, et al. Clinical features of a polymorphism of the b3-adrenergic receptor gene patients with type 2 diabetes mellitus—a study using a pin-point sequencing method. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2001; 109(7): p. 386-8
16. Clément K, Vaisse C, Manning B, Basdevant A, Guy-Grand B, Ruiz J, et al. Genetic variation in the beta 3-adrenergic receptor and an increased capacity to gain weight in patients with morbid obesity. *N Engl J Med.* 1995; 333(6): p. 352-4.
17. Widén E, Lehto M, Kanninen T, Walston J, Shuldiner A, Groop L. Association of a polymorphism in the beta 3-adrenergic-receptor gene with features of the insulin resistance syndrome in Finns. *N Engl J Med.* 1995; 333(6): p. 348-51.
18. Evans D, Minouchehr S, Hagemann G, Mann W, Wendt D, Wolf A, et al. Frequency of and interaction between polymorphisms in the beta3-adrenergic receptor and in uncoupling proteins 1 and 2 and obesity in Germans. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 2000; 45(10): p. 1239-1245.
19. Li Y, Lu X, Wang H, Zhou Y, Yang X, Geng H, et al. ADRB3 gene Trp64Arg polymorphism and essential hypertension: a meta-analysis including 9,555 subjects. *Front Genet.* 2018; 4(9): p. 106.
20. Burguete-Garcia A, Martinez-Nava G, Valladares-Salgado A, Morales VB, Estrada-Velasco B, Wacher N, et al. Association of β 1 and β 3 adrenergic receptors gene polymorphisms with insulin resistance and high lipid profiles related to type 2 diabetes and metabolic syndrome. *Nutr Hosp.* 2014; 29(6): p. 1327-34.
21. Chacín M, Rojas J, Rodríguez D, Núñez-Pacheco M, Márquez-Gómez M, Leal N, et al. Predisposición humana a la obesidad, síndrome metabólico y diabetes: el genotipo ahorrador y la incorporación de los diabetogenes al genoma humano desde la antropología biológica. *Endocrino Metabólico.* 2011; 1(1): p. 11-24.
22. Padilla-Alvarado J. Relación del índice de masa corporal y el porcentaje de grasa corporal en jóvenes venezolanos. *Rev.Ib.CC. Act. Fis. Dep.* 2014; 3(1): p. 27-33.
23. Petermann F, Durán E, Labraña A, Martínez M, Leiva A, Garrido-Méndez A, et al. Factores asociados al desarrollo de obesidad en Chile: resultados de la Encuesta Nacional de Salud 2009-2010. *Rev. méd. Chile.* 2017; 145: p. 716-722.
24. NCBI. Reference SNP rs4998. [Online]; 2019. Acceso 1 de. Disponible en: HYPERLINK "https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?do_not_redirect&rs=rs4998" https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?do_not_redirect&rs=rs4998.
25. Ramírez-Bello J, Vargas-Alarcón G, Tovilla-Zárate C, Fragoso J. Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP): implicaciones funcionales de los SNP reguladores (rSNP) y de los SNP-ARN estructurales (srSNP) en enfermedades complejas. *Gaceta Médica de México.* 2013; 149(2): p. 220-228.
26. Geissler R, Grimson A. A position-specific 3'UTR sequence that accelerates mRNA decay. *RNA Biol.* 2016; 11: p. 1075-1077.
27. Asociación Médica Mundial. Declaración de Helsinki de la AMM – principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. [Online]; 2017. Acceso 5 de Diciembre de 2018. Disponible en: HYPERLINK "https://www.wma.net/es/polices-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos/" https://www.wma.net/es/polices-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos/.
28. American Heart Association. ¿Qué significan los niveles de colesterol? [Online].; 2012. Acceso 5 de Diciembre de 2018. Disponible en: HYPERLINK "https://www.heart.org/idc/groups/heart-public/@wcm/@hcm/documents/downloadable/ucm_316249.pdf" https://www.heart.org/idc/groups/heart-public/@wcm/@hcm/documents/downloadable/ucm_316249.pdf.
29. Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad. Consenso SEEDO 2016. [Online].; 2016. Acceso 9 de Diciembre de 2018. Disponible en: HYPERLINK "https://www.seedo.es/images/site/ConsensoSEEDO2016.pdf" https://www.seedo.es/images/site/ConsensoSEEDO2016.pdf.
30. Espinoza-García C. Asociación de los polimorfismos Arg389Gly del gen ADRB1 y Trp64Arg del gen ADRB3 con la Diabetes Tipo 2 y el Síndrome Metabólico en una población adulta de la Cd. de México. [Online].; 2007. Acceso 28 de Febrero de 2019. Disponible en: HYPERLINK "http://148.206.53.84/tesiuami/UAMI13684.pdf" http://148.206.53.84/tesiuami/UAMI13684.pdf.