

Marcadores genéticos relacionados con el desarrollo de síndrome metabólico y riesgo de enfermedad coronaria cardiaca

Genetic markers associated with the development of metabolic syndrome and risk of coronary heart disease

Eugenia Flores-Alfaro*, Miguel Cruz-López**, Luz del Carmen Alarcón-Romero*, Ma. Elena Moreno-Godínez*, Óscar del Moral-Hernández*, Amalia Vences-Velázquez*, Carlos Ortuño-Pineda*, Marco Antonio Leyva-Vázquez*, Vianet A. Tello-Flores*, José Ángel Cahua-Pablo*, Diana L. Antúnez-Ortíz*, Abigail Méndez-Palacios*, Adán Valladares-Salgado**

RESUMEN

Variantes genéticas se han relacionado con enfermedades de rasgos complejos y factores de riesgo asociados a éstas. El propósito de este estudio fue evaluar la asociación entre diversos polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés) con el síndrome metabólico (SM) y con el índice aterogénico de plasma (IAP). Se estudiaron mujeres guerrerenses, a quienes se les realizaron mediciones somatométricas, biomarcadores sanguíneos y se identificaron SNP en siete genes por reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) en tiempo real. Se observó disminución de adiponectina en mujeres con SM y con el mayor riesgo aterogénico, y se encontraron asociaciones entre apoproteína E (APOE) con niveles elevados de lipoproteínas de baja densidad (LDL, por sus siglas en inglés) y triglicéridos, del SNP rs1501299 con el IAP, de los genotipos AA/rs708272 y GG/rs1884051, con los niveles altos de LDL, y del genotipo AA/rs854560 con LDL y con la actividad paraoxonasa. Los resultados indican que biomarcadores sanguíneos y genéticos pudiesen estar implicados en alteraciones metabólicas y, por tanto, incrementar el riesgo individual del desarrollo de enfermedades.

ABSTRACT

Genetic variants have been associated with diseases of complex traits and risk factors associated to them. The purpose of this study was to evaluate the association between several Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) with metabolic syndrome (MetS) and the atherogenic index of plasma (AIP). Guerrero women were studied. Somatometric measurements were performed, and blood biomarkers were determined. SNPs were identified in seven genes by real-time polymerase chain reaction (PCR). Decreased adiponectin in women with MetS and with greater atherogenic risk was observed, and associations between APOE with elevated levels of low-density lipoprotein (LDL)-cholesterol and triglycerides, the SNP rs1501299 with the AIP, the AA/rs708272 and GG/rs1884051 genotypes, with high LDL levels and genotype AA/rs854560 with LDL-c and paraoxonase activity. The results indicate that blood and genetic biomarkers might be involved in metabolic alterations and thus increase the individual's risk for disease development.

INTRODUCCIÓN

En años recientes han destacado los estudios de asociación genética entre enfermedades de rasgos complejos como obesidad, síndrome metabólico (SM), diabetes y enfermedades cardiovasculares, con diversas alteraciones genéticas y diversos factores de riesgo que favorecen o disminuyen el padecimiento de estas patologías. Las alteraciones en el metabolismo de lípidos y carbohidratos se encuentran entre los factores de riesgo cardiovascular mejor conocidos, sin embargo, contar con los niveles de colesterol, triglicéridos o glucosa no ha sido suficiente para identificar en forma precisa el origen y la evolución de este tipo de enfermedades. Por ello, se ha generalizado la identificación de diferentes variantes genéticas, como son los polimorfismos

Recibido: 8 de abril de 2015
Aceptado: 8 de junio de 2015

Palabras clave:

Adiponectina; riesgo aterogénico; síndrome metabólico; SNP.

Keywords:

Adiponectin; atherogenic risk; metabolic syndrome; SNPs.

Cómo citar:

Flores-Alfaro, E., Cruz-López, M., Alarcón-Romero, L. del C., Moreno-Godínez, M. E., Del Moral-Hernández, Ó., Vences-Velázquez, A., Ortuño-Pineda, C., Leyva-Vázquez, M. A., Tello-Flores, V. A., Cahua-Pablo, J. Á., Antúnez-Ortíz, D. L., Méndez-Palacios, A. & Valladares-Salgado, A (2015). Marcadores genéticos relacionados con el desarrollo de síndrome metabólico y riesgo de enfermedad coronaria cardiaca. *Acta Universitaria*, 25(NE-1), 9-13. doi: 10.15174/au.2015.751

* Unidad Académica de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero. Av. Lázaro Cárdenas s/n, Ciudad Universitaria Sur, Chilpancingo, Gro., México. C.P. 39089. Tel.: (747) 4720911. Correo electrónico: eflores_2@hotmail.com.

** Unidad de Investigación Médica en Bioquímica, Hospital de Especialidades Centro Médico Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D.F., C.P. 06725.

de un solo nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés), microRNAs y variaciones en el número de copias, asociadas a obesidad, diabetes tipo 2 (DT2) y SM, con el principal interés de identificar a las personas que tengan mayor riesgo y/o peor evolución a ciertas enfermedades (Mateos-Cáceres, 2009).

La obesidad, resistencia a la insulina (RI) o DT2 desregulan la síntesis y secreción de adipocinas con incremento de citocinas pro-inflamatorias, proteínas de fase aguda, leptina y resistina, como la disminución de adiponectina, estrógenos y las lipoproteínas de alta densidad (HDL, por sus siglas en inglés). Las dislipidemias constituyen un factor de riesgo para desarrollar aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares (ECV). El patrón fenotípico de la aterogénesis es la hipertrigliceridemia, oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL, por sus siglas en inglés) y la baja producción de las HDL. La RI y las dislipidemias son características principales del SM, con elevación de los niveles de triglicéridos, colesterol y una disminución de las HDL (Balistreri, Caruso & Candore, 2010; Kim, Cho & Kim, 2014).

En México y en el mundo, la morbi-mortalidad por diabetes o ECV ha incrementado en forma alarmante en las mujeres; se conoce que en ellas, en etapa reproductiva, las hormonas estrogénicas tienen un efecto cardioprotector por su participación en la regulación del metabolismo lipídico, del sistema de coagulación y fibrinolítico, por sus efectos en la inhibición de la migración y proliferación de las células de músculo liso, regulación de la vasodilatación, del crecimiento de células endoteliales y en la disminución de las LDL oxidadas (Miller & Duckles, 2008).

Por lo anterior, se diseñó un estudio transversal con el objetivo de evaluar la asociación entre 20 SNP en los genes del receptor a estrógenos 1 (*ESR1*), de adiponectina (*ADIPOQ*), del receptor a adiponectina 2 (*ADIPOR2*), de la paraoxonasa 1 (*PON1*), de la lipoproteína lipasa (*LPL*), de la apoproteína E (*APOE*), del receptor a LDL (*LDLR*) y de la proteína transportadora de esteroides de colesterol (*CETP*), con la presencia de SM o sus componentes, con adiponectina, estradiol, riesgo cardiovascular medido por las dislipidemias o por el índice de riesgo aterogénico, en mujeres originarias del estado de Guerrero, México.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio en 400 mujeres universitarias, sin parentesco entre ellas, de 30 a 65 años de edad, originarias del estado de Guerrero, cuyos padres y abuelos nacieron también en Guerrero. Se obtuvo

información a través de cuestionarios sobre la edad, años de escolaridad, ocupación, lugar de nacimiento de padres y abuelos, antecedentes familiares de diabetes y de enfermedad cardíaca (infarto al miocardio o angina de pecho), antecedentes de otras enfermedades, ejercicio, hábitos alimenticios, consumo de tabaco y de alcohol. El análisis de composición corporal se realizó por impedancia bio-eléctrica, utilizando el analizador BC554 (Tanita, USA), la estatura se midió con el estadiómetro M-222 (Seca, USA) y la obesidad abdominal se determinó por medición de la circunferencia de cintura (cm) con la cinta antropométrica M-201 (Seca, USA). Para la medición de la presión arterial se utilizó el monitor automático de presión sanguínea 3AC1-PC (Microlife, USA).

Las mujeres que aceptaron participar en el estudio lo hicieron mediante consentimiento informado. El proyecto fue aprobado por el Comité de Bioética de la Universidad Autónoma de Guerrero. El material empleado para la obtención de muestras sanguíneas fue estéril y se utilizó una sola vez. Los estudios genéticos se realizaron bajo las medidas de bioseguridad del laboratorio y los residuos peligrosos biológicos-infecciosos (RPBI) se desecharon en el marco de la norma oficial NOM-087-ECOL-SSA1-2002.

Marcadores sanguíneos

Con un ayuno previo de 12 h, se obtuvo muestra de sangre por punción venosa utilizando dos tubos de extracción al vacío, uno sin anticoagulante para la obtención de suero y otro con ácido etilendiaminotetraacético al 5% para sangre total. Por métodos enzimáticos convencionales se midieron las concentraciones séricas de glucosa, colesterol total, triglicéridos, colesterol de las LDL y HDL. Con alícuotas de suero que fueron almacenadas a -80 °C se determinaron las concentraciones de estradiol y de adiponectina por la técnica de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas utilizando el sistema automatizado Minilyser (Tecan, Suiza); la actividad AREasa se determinó por la hidrólisis del fenilacetato y la actividad paraoxonasa mediante la hidrólisis del 4-clorometil fenilacetato (CMPA).

Genotipificación

Se realizó la extracción de Ácido Desoxirribonucleico (DNA, por sus siglas en inglés) de leucocitos de sangre periférica utilizando la técnica rápida no enzimática (Lahiri & Nurnberger, 1991). Posteriormente se realizó la genotipificación de los diferentes SNP por reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR-TR) con base en el ensayo 5' nucleasa, utilizando el método TaqMan para cada SNP (7500 *Real-Time*, *Life Technology*, *Applied Biosystems*). Se preparó una

mezcla de reacción con 220 µL de Master Mix Universal para PCR, 5.5 µL de sondas Taq Man 40X específica para cada SNP y 285.5 µL de agua libre de nucleasas; posteriormente se colocaron 5 µL de la mezcla de reacción en cada pocillo de la placa con el ácido desoxirribonucleico genómico (DNAg, por sus siglas en inglés). Se identificaron 6 polimorfismos en el gen *ESR1* (rs1884051, rs2077647, rs3798577, rs1801132, rs2234693 y rs9340799), 3 en el gen *ADIPOQ* (rs822395, rs1501299 y rs3821799), 3 en el gen *ADIPOR2* (rs767870, rs929434 y rs11061971), 2 en los genes *PON1* (rs854560 y rs662), *LPL* (rs328 y rs320) y *APOE* (rs429358 y rs7412) y 1 en los genes *LDLR* (rs688) y *CETP* (rs708272).

Análisis estadístico

Para la descripción de las características sociodemográficas, clínicas y marcadores genéticos, se resumieron en frecuencias para las variables cualitativas, en medias y desviación estándar para las cuantitativas simétricas, o en medianas y rango intercuartil para las asimétricas. El equilibrio de Hardy-Weinberg fue verificado utilizando prueba de ji cuadrada (χ^2) con un grado de libertad. Para la comparación de frecuencias, medias o medianas se utilizaron las pruebas de χ^2 , *t* de *student* o de Mann Whitney, respectivamente. Para evaluar la asociación de los SNP sobre el SM, sus componentes, riesgo aterogénico o con otros biomarcadores como la adiponectina, se utilizaron modelos de regresión lineal o logística. Las pruebas estadísticas fueron bilaterales y un valor $p < 0.05$ fue considerado significativo. El análisis estadístico se realizó con el *software* de análisis estadístico (STATA) v.11.2.

RESULTADOS

En todas las participantes se evaluó el riesgo de enfermedad coronaria cardiaca (ECC) y SM utilizando los criterios del tercer reporte del panel de expertos para el tratamiento del colesterol en adultos (Adult Treatment Panel [ATP III]) (Antonopoulos, 2002), el cual define como alto riesgo de ECC en las mujeres: edad ≥ 55 años, obesidad abdominal ≥ 88 cm de cintura, presión sanguínea ≥ 130 mmHg/85 mmHg, niveles séricos de glucosa ≥ 110 mg/dl o diagnóstico previo de diabetes, colesterol ≥ 200 mg/dl, triglicéridos ≥ 150 mg/dl, LDL ≥ 160 mg/dl y HDL ≥ 50 mg/dl.

Encontramos una prevalencia de SM del 32.8%, y el 60% de las mujeres presentaron de uno a dos componentes. El promedio de edad de las mujeres estudiadas fue de 46 años (38 - 53), 54.8% presentaron obesidad abdominal, el 55% fueron mujeres en edad reproductiva (tabla 1). El estradiol no mostró diferen-

cias significativas entre las mujeres que tuvieron SM en comparación con las mujeres que no tuvieron este síndrome; por otra parte, estas diferencias fueron significativas entre las mujeres con o sin menopausia. Las mujeres sin menopausia tuvieron un valor medio de estradiol de 45.4 pg/ml, en comparación con las mujeres posmenopáusicas, con un valor medio de 24.4 pg/ml ($p < 0.001$). En cuanto a los niveles séricos de adiponectina, encontramos diferencias significativas en mujeres con SM en comparación con las que no lo presentaron, con valores de 6.3 µg/ml en las mujeres con SM y de 14.2 µg/ml en aquellas sin SM ($p < 0.001$).

La disminución de adiponectina fue proporcional al incremento en el número de componentes del SM. Por otra parte, se encontraron diferencias significativas entre las categorías de riesgo del índice aterogénico de plasma (IAP) con los niveles de adiponectina. Así, también, encontramos asociación entre el primer tercil de adiponectina (1.2 mg/ml a 9.4 mg/ml) con SM (OR = 19; IC95% 9.1-39.4; $p < 0.001$) en comparación con las mujeres con niveles de adiponectina en el tercil superior (14.8 mg/ml - 39.3 mg/ml) y un efecto significativo del SM sobre el IAP de riesgo alto (IAP > 0.21) (OR = 7.2; IC95%: 4.0-12.9; $p < 0.001$).

Tabla 1.
Características sociodemográficas y clínicas de las mujeres estudiadas.

Característica	n = 400
Edad (años)	46 (38 - 53)
Menopausia, n (%)	180 (45)
Índice de masa corporal (kg/m ²)	27.3 (24.5 - 30.4)
Obesidad abdominal, n (%)	219 (54.8)
% de grasa corporal	36.7 (31.3 - 41)
% de agua	44.4 (41.6 - 47.9)
Presión arterial (mmHg)	117 (108 - 127)
Glucosa (mg/dl)	80 (72 - 89.5)
≥ 110 , n (%)	49 (12.3)
Colesterol total (mg/dl)	168 (145 - 192)
≥ 200 , n (%)	74 (18.5)
Triglicéridos (mg/dl)	123.8 (91.9 - 166)
≥ 150 , n (%)	141 (35.2)
LDL-c (mg/dl)	112.9 (88.1 - 155.8)
≥ 160 , n (%)	94 (23.5)
HDL-c (mg/dl)	39.3 (32 - 48.9)
< 50, n (%)	310 (77.5)
Ejercicio, n (%)	203 (50.8)

Los datos son reportados como medianas y rango intercuartil (p25-p75) o n (%). Fuente: Elaboración propia, a partir de información de las mujeres guerrerenses participantes en la investigación.

El SNP rs1501299 en el gen *ADIPOQ* se asoció significativamente con el índice aterogénico de plasma (OR = 1.9; IC95%: 1.2 - 3.0). De manera paralela, se estudió las isoformas de la ApoE a partir del análisis de 2 SNPs, rs429358 y rs7412 en el gen *APOE* y se encontró una mayor frecuencia de la isoenzima ApoE3 (76%), seguida por la ApoE4 (17.8%) y por la ApoE2 (6.0%), encontrando asociación significativa entre las mujeres portadoras de la isoforma ApoE4 con niveles elevados, de riesgo aterogénico de LDL ($p < 0.001$) y TG ($p = 0.04$) en comparación con las portadoras de la isoforma ApoE3. Asimismo, la presencia de un posible efecto conjunto entre la isoforma ApoE4 con el SNP rs688 en el gen *LDLR* sobre los niveles de riesgo aterogénico de las LDL (≥ 160 mg/dl). Por otro lado, se encontró asociación significativa entre los genotipos AA del rs708272 en el gen *CETP* y GG del rs1884051 en el gen *ESR1* con los niveles altos de LDL, con OR de 2.1(1.1-4.2; $p = 0.04$) y de 2.5 (1.2-5.1; $p = 0.02$), respectivamente. Por su parte, el genotipo AA (MM) del SNP rs854560 (L55M) en el gen *PON1* tuvo un efecto significativo sobre los niveles de c-LDL, y sobre las actividades AREasa y paraoxonasa.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El incremento de los niveles séricos de adiponectina se ha relacionado con obesidad, SM, ECC y DT2 (Hata *et al.*, 2014; Rajkovic *et al.*, 2014). Los individuos que presenten estas alteraciones ineludiblemente tendrán un estado de inflamación sistémica de bajo grado, lo que promoverá el desarrollo de aterosclerosis y un incremento en el riesgo de enfermedad isquémica cardiaca (Silva, Stefanello, Pizzi, Timossi & Leite, 2012).

El SM se utiliza para describir un grupo de condiciones que incrementan el riesgo de desarrollar DT2, ECC y otros problemas relacionados. Heiss *et al.* (2014) realizaron un estudio en población hispana con el propósito de cuantificar la prevalencia de SM entre hombres y mujeres de 18 a 74 años de edad de diverso origen hispano/latino, encontrando una prevalencia del 36% en las mujeres y de 34% en los hombres, entre las mujeres la prevalencia varió del 27% en sudamericanas al 41% en puertorriqueñas. En el presente estudio encontramos una prevalencia del 32.8% de SM, frecuencia menor a la que ha sido reportada en el país (42.2%) (Rojas *et al.*, 2010).

Los resultados de este estudio muestran que el incremento en el número de componentes del SM influye en una disminución proporcional de los niveles de adiponectina, lo que incrementa la probabilidad de que se encuentre un número mayor de alteraciones metabólicas,

como también una diferencia significativa entre el índice aterogénico de alto riesgo en comparación con las personas que presentaron bajo riesgo ($p = 0.003$). Así, también, las bajas concentraciones de adiponectina fueron significativamente asociadas con SM, sugiriendo un papel patofisiológico de esta hormona sobre el SM y viceversa; resultados similares se han encontrado en otros estudios (Kajikawa *et al.*, 2011).

En el análisis de polimorfismos en las mujeres con y sin SM encontramos que las portadoras del genotipo GG del SNP rs1501299 en el gen *ADIPOQ* tuvieron en mayor proporción IAP de alto riesgo en comparación con las portadoras de los genotipos GT o TT, lo que indica que las mujeres portadoras del alelo T tienen menor riesgo de desarrollar aterosclerosis. Estudios previos han asociado a este SNP con SM o sus componentes, RI, diabetes, ECC, niveles elevados de TG y LDL, y niveles disminuidos de adiponectina (Lu *et al.*, 2014; Tu *et al.*, 2014). El mecanismo molecular por el cual este polimorfismo influencia la expresión de adiponectina y su función biológica no se conoce, debido a su localización en una región no codificante, sin embargo, es posible que este SNP esté en desequilibrio de ligamiento con algún otro *locus* funcional que sea responsable de la alteración en la producción de adiponectina o su capacidad de polimerizarse, afectando su función biológica e incrementando el riesgo de ECC; se requieren estudios más detallados para evaluar este efecto. Por otro lado, se encontró que las mujeres portadoras de la isoforma ApoE4 tienen niveles incrementados de LDL y TG, en comparación con las portadoras de la isoforma ApoE3. Asimismo, se encontró un efecto conjunto entre la isoforma ApoE4 y el alelo T del SNP rs688 en el gen *LDLR* sobre los niveles de riesgo aterogénico de la LDL y TG.

Efectos genéticos sobre rasgos fenotípicos o enfermedades son generalmente pequeños, sin embargo, es posible que varios polimorfismos en conjunto con los factores ambientales contribuyan al desarrollo de enfermedades crónicas degenerativas. Los resultados de este estudio indican que algunos biomarcadores sanguíneos y genéticos pudiesen estar implicados en diversas alteraciones metabólicas y, con ello, incrementar el riesgo individual del desarrollo de enfermedad coronaria cardiaca.

REFERENCIAS

- Antonopoulos, S. (2002). Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*, 106(3143), 3143-3421.

- Balistreri, C. R., Caruso, C. & Candore, G. (2010). The role of adipose tissue and adipokines in obesity-related inflammatory diseases. *Mediators of inflammation*, 2010, 1-19.
- Hata, A., Yonemoto, K., Shikama, Y., Aki, N., Kosugi, C., Tamura, A., Ichihara, T., Minagawa, T., Kuwamura, Y., Miyoshi, M., Nakao, T. & Funaki, M. (2014). Cut-off value of total adiponectin for managing risk of developing metabolic syndrome in male Japanese workers. *PLoS one*, 10(2), e0118373-e0118373.
- Heiss, G., Snyder, M. L., Teng, Y., Schneiderman, N., Llabre, M. M., Cowie, C., Carnethon, M., Kaplan, R., Giachello, A., Gallo, L., Loehr, L. & Avilés-Santa, L. (2014). Prevalence of metabolic syndrome among Hispanics/Latinos of diverse background: the Hispanic Community Health Study/Study of Latinos. *Diabetes care*, 37(8), 2391-2399.
- Kajikawa, Y., Ikeda, M., Takemoto, S., Tomoda, J., Ohmaru, N. & Kusachi, S. (2011). Association of circulating levels of leptin and adiponectin with metabolic syndrome and coronary heart disease in patients with various coronary risk factors. *International heart journal*, 52(1), 17-22.
- Kim, J. H., Cho, H. T. & Kim, Y. J. (2014). The role of estrogen in adipose tissue metabolism: insights into glucose homeostasis regulation. *Endocrine Journal*, 61(11), 1055-1067.
- Lahiri, D. K. & Nurnberger, J. I. (1991). A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic acids research*, 19(19), 5444.
- Lu, J. F., Zhou, Y., Huang, G. H., Jiang, H. X., Hu, B. L. & Qin, S. Y. (2014). Association of ADIPOQ polymorphisms with obesity risk: A meta-analysis. *Human immunology*, 75(10), 1062-1068.
- Mateos-Cáceres, P. J. (2009). *Marcadores sanguíneos utilizados en el diagnóstico y pronóstico del riesgo cardiovascular en Libro de la Salud Cardiovascular*. Madrid, España: Editorial Nerea.
- Miller, V. M. & Duckles, S. P. (2008). Vascular actions of estrogens: functional implications. *Pharmacological reviews*, 60(2), 210-241.
- Norma Oficial Mexicana (2003). NOM-087-ECOL-SSA1-2002. Protección ambiental-salud ambiental residuos peligrosos biológico-infecciosos- clasificación y especificaciones de manejo. Recuperado el 13 de junio de 2015 de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/087ecolssa.html>
- Rajkovic, N., Zamaklar, M., Lalic, K., Jotic, A., Lukic, L., Milicic, T., Singh, S., Stolic, L. & Lalic, N. M. (2014). Relationship between obesity, adipocytokines and inflammatory markers in type 2 diabetes: relevance for cardiovascular risk prevention. *International journal of environmental research and public health*, 11(4), 4049-4065.
- Rojas, R., Aguilar-Salinas, C. A., Jiménez-Corona, A., Shamah-Levy, T., Rauda, J., Ávila-Burgos, L., Villalpando, S. & Lazcano-Ponce, E. (2010). Metabolic syndrome in Mexican adults: results from the National Health and Nutrition Survey 2006. *Salud pública de México*, 52(Suppl), S11-S18.
- Silva, L. R., Stefanello, J. M., Pizzi, J., Timossi, L. S. & Leite, N. (2012). Atherosclerosis subclinical and inflammatory markers in obese and nonobese Children and adolescents. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 15(4), 804-816.
- Tu, Y., Yu, Q., Fan, G., Yang, P., Lai, Q., Yang, F., Zhang, S., Wang, W., Wang, D., Yu, X. & Wang, C. Y. (2014). Assessment of type 2 diabetes risk conferred by SNPs rs2241766 and rs1501299 in the ADIPOQ gene, a case/control study combined with meta-analyses. *Molecular and cellular endocrinology*, 396(1), 1-9.