

# Generación de herramientas genómicas para la investigación y determinación de factores de riesgo genético de obesidad en la población mexicana

F. Hernández-Rosas<sup>1\*</sup>, M. P. de León-Bautista<sup>2</sup>, E. Orozco-Hernández<sup>2</sup>, E. Navarro-Vidal, A. J. Martínez<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ingeniería Biomédica, Universidad Anáhuac Campus Querétaro, Querétaro, México.

<sup>2</sup>Departamento de Salud Humana, Laboratorio Central ADN S.A. de C.V., Morelia, Michoacán, México.

<sup>3</sup>Instituto de Neurootología, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz 91190, México.

\*[fabiola.hernandez86@anahuac.com.mx](mailto:fabiola.hernandez86@anahuac.com.mx)

**Abstract**— Genetic predisposition has been shown to play a key role in obesity. Genome-wide association studies (GWAS) have identified multiple loci linked with obesity in various ethnic groups. However, their contribution to obesity in the Mexican population is largely unknown. The aim of this study was to determine if there is evidence of an association between 52 candidate polymorphisms (SNPs) and the susceptibility to develop overweight and obesity in Mexican adults. To achieve this goal, we developed a multiplexed genetic panel to identify 52 SNPs per patient by MALDI-TOF mass spectrometry-based SNP genotyping. To test the genetic panel, we collected DNA samples from the whole blood of 1117 patients from the south of Mexico. In our study, we found 8 loci associated with the obesity phenotype and the increase in BMI in the Mexican population in genes that encode proteins: Leptin, LINGO2, AP2B transcription factor, and FTO. The results of the work will be used in later stages for the study of specific therapeutic targets to reduce obesity and for the investigation of new genetic factors that could be predictive in the Mexican population.

**Palabras clave**— Obesity, Overweight, Single nucleotide polymorphisms, Genetic Variants, Mexican population.

## I. INTRODUCCIÓN

La obesidad es una enfermedad compleja con una importante interacción entre la predisposición genética y múltiples factores ambientales. Además, hasta el 80% de la variabilidad del índice de masa corporal (IMC) es atribuible a factores genéticos [1]. Recientemente se han utilizado estudios de asociación del genoma completo (en inglés, GWAS=Genome-wide association study) para identificar marcadores genéticos que aumentan la predisposición al aumento de peso, bajo la premisa de explicar los mecanismos biológicos que conducen a la obesidad. Se han confirmado al menos 15 loci asociados con la obesidad. Algunos loci con los roles establecidos en la obesidad se encuentran en los genes involucrados en la regulación de múltiples vías metabólicas de termogénesis, apetito, saciedad y anabolismo como FTO (dioxigenasa dependiente de alfacetogluturato), MC4R (receptor de melanocortina 4), PPAR $\gamma$ 2 (Receptor activado por proliferadores de peroxisomas  $\gamma$ 2) entre otros (GONG 2013) [1]. En México, los componentes genéticos que predisponen a la obesidad en adultos y la infancia son escasamente conocidos. En este contexto, este estudio se aplica una serie de herramientas tecnológicas que permiten el desarrollo de sistemas

diagnósticos para la detección precoz y el tratamiento de la obesidad de manera específica en la población mexicana.

## II. METODOLOGÍA

### A. Población de estudio y criterios de selección

El estudio de casos incluyó 1117 mestizos mexicanos no relacionados de 18 a 87 años, sin enfermedades crónicas que pudieran comprometer el peso corporal (incluido el cáncer, VIH y enfermedades tiroideas). Los individuos control (peso normal) y con obesidad eran trabajadores y estudiantes de varias instituciones de Morelia, Michoacán, y Oaxaca, México, incluido el Hospital de la Mujer, la Universidad Michoacana y el Hospital General de Zona #1 IMSS Oaxaca. Los individuos con la obesidad de la Clase III fueron pacientes ambulatorios de la clínica de nutrición y obesidad, de la Secretaría de Salud de Morelia, Michoacán. A los pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión se les tomaron datos sociodemográficos, clínicos y de estilo de vida a través de una encuesta informada y se les calculó el IMC para clasificarlos según su estado nutricional en peso normal, sobrepeso y obesidad.

### B. Aspectos éticos

Estudio fue registrado y aprobado por el Comité de Investigación Médica y Ética de las Instituciones participantes (número de registro 090, Secretaría de Salud, Michoacán). Todos los protocolos se realizaron de acuerdo con las directrices de la Declaración de Helsinki y las normativas de salud actuales en México.

### C. Diseño y prueba del panel genético

La metodología utilizada para el diagnóstico en la predisposición a obesidad se basó en la evaluación de los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en la plataforma MassArray de Agena Bioscience, San Diego, CA.

1) *Parámetros de diseño del panel.* Los 52 SNPs seleccionados fueron tomados de la literatura científica, y de bases de las bases de datos GWAS y 1000 Genomes Project. Para generar el diseño de la PCR multiplex (estrategia para la amplificación de los diferentes SNPs de interés), se utilizó el software MassArray Assay Designer, con los siguientes parámetros de diseño: tamaño de primers locus específicos de entre 12 a 30 nucleótidos, tamaño promedio de los amplicones de entre 80 y 120 pares de bases (pb), temperatura de alineamiento de entre 45 a 100 °C, robustez óptima de 0.8 en formación de bucles, dímeros y falsos primers de amplificación, robustez media de formación de dímeros y falsos primers de extensión de 0.5, rango de espectrometría de 4 a 10 kDa, distancia de separación entre

SNPs de 15 Da y número máximo de multiplexado de 52 SNPs en 1 pozo de análisis. Los primers se mandaron a sintetizar en Integrated DNA Technologies (IDT), San Diego, CA, USA).

**Extracción de ADN.** La extracción de ADN genómico se llevó a cabo mediante el uso del kit InstanGene Matrix (BioRad) de acuerdo con las instrucciones del proveedor y ligeras modificaciones. Se diluyeron 10  $\mu$ L de sangre en EDTA con 200  $\mu$ L de agua DEPC, después se centrifugaron a 14,000 rpm durante 2 min, y se lavaron con 200  $\mu$ L de PBS + tween 20 al 0.1 %. Se centrifugó la mezcla a 14,000 rpm por 2 min y se eliminó el sobrenadante. Al microtubo se adicionaron 100  $\mu$ l de InstanGene Matrix y se incubó en el termociclador a 57 °C /25 min, 99 °C/10 m y 4 °C  $\infty$ . El ADN extraído se diluyó 1:2 con agua estéril libre de nucleasas.

3) **Amplificación de los SNPs y genotipificación:** Para la preparación del Master Mix de reacción se usaron las proporciones mostradas en la Tabla 1 con base al programa iPLEX MasterMix Calculator.xlsx, el cual, calcula automáticamente la cantidad de reactivo necesario para el procesamiento de un determinado número de muestras.

Por muestra se adicionó 0.8  $\mu$ l de H<sub>2</sub>O libre de ADNAsas, 0.5  $\mu$ l de Buffer PCR 10 X + 20 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0.4  $\mu$ l de MgCl<sub>2</sub> (225 mM), 0.1  $\mu$ l de dNTP Mix (25 mM/dNTP), 0.2  $\mu$ l de enzima PCR (5 U/ $\mu$ l) y 1  $\mu$ l de PrimerMix PCR (500 nM/Primer) para un volumen total de 2  $\mu$ l. La mezcla dispensó en placas de 384 pozos con el equipo automatizado BIOMEK 4000. Las muestras se colocaron en un termociclador Veriti (Applied Biosystems) y la reacción de PCR se realizó con el siguiente programa 95°C 2 min y 45 ciclos de: 95°C por 30s, 56°C por 30s, y 72°C por 1 min; después 75°C por 5 min y 4°C  $\infty$ . Después se realizó una reacción de SAP (Fosfatasa Alcalina de Camarón) con 0.3  $\mu$ l de enzima SAP por muestra y se incubó a 37°C 40 min, para degradar los dNTP's no incorporados en reacciones de PCR.

Las muestras se termociclaron en un equipo veriti (Applied Biosystems) bajo las condiciones anteriormente mencionadas. Una vez amplificado el producto, se adicionaron nanolitros de la muestra en un spectroCHIP de 360 pozos con ayuda del robot Nanodispensador RS1000 (Agena Bioscience). Utilizando las pinzas de punta fina, se retiró el Spectro CHIP del Nanodispensador RS1000 y se colocó en la cámara de CHIPS del MALDI-TOFT Sequenom MassArrayAnalyzer 4.0. Se programó el ensayo en un MassArray TYPER 4.0.163 y se enlazó el Spectro CHIP con la base de datos del Software Spectro Acquirer para obtener los espectrogramas para cada SNP analizado por muestra.

4) **Control de calidad.** El equilibrio Hardy-Weinberg (HWE), se estimó utilizando la prueba exacta de Fisher y se analizó el desequilibrio de vinculación entre los SNP utilizando el coeficiente R<sup>2</sup>. Ambos análisis se realizaron en el software PLINK 1.9 y se descartaron marcadores con una desviación significativa (P <10<sup>-3</sup>) de la prueba de HWE. Además, se determinó el porcentaje de genotipado de cada

uno de los SNP, estableciendo un umbral del 95%. El poder estadístico de este estudio se estimó utilizando el software Quanto 1.2.4 (Universidad del Sur de California, Los Ángeles, CA; <http://biostats.usc.edu/quanto.html>). Los cálculos se realizaron bajo un modelo de herencia de aditivo.

#### D. Análisis estadístico.

Las variables continuas se expresaron como media  $\pm$  SD (desviación estándar) o como porcentajes para las variables categóricas. La asociación entre los grupos peso normal/obesos con datos sociodemográficos, clínicos y de estilo de vida se analizó utilizando la prueba de independencia de Chi<sup>2</sup> y *t* de student para muestras independientes en el software Statistica versión 7 (Statsoft, Inc., 1884-2007, Tulsa, OK, EE. UU.) y el valor crítico correspondió a un  $\alpha$  0.05, y se verificaron los supuestos de cada prueba estadística. Desde los archivos de genotipado del Sequenom, se generó una base de datos en formato PLINK para llevar a cabo los estudios de asociación. Los valores de IMC fueron discretizados a valores dicotómicos "sobrepeso/obesidad" (BMI $\geq$ 30) y "control" (BMI<30). Todas las asociaciones se probaron para los modelos aditivos, codominantes, codominantes, dominantes y recesivos, informando lo más significativo. Para evaluar el efecto combinado de los alelos de riesgo a obesidad, la puntuación de genotipo se calculó a través de un modelo logístico ajustado para la edad y el sexo, obteniendo relaciones de probabilidad ajustados de acuerdo con el caso, junto con su respectivos intervalos de confianza del 95% y se establecieron dos modelos. También se incluyeron en el segundo modelo, edad, sexo, fumar y actividad física con un  $\alpha$  0.05. Las pruebas de redes de interacción proteína-proteína se realizó en STRING (<https://string-db.org>).

### III. RESULTADOS

#### A. Características de la población de estudio

El grupo de casos incluyó a 437 hombres y mujeres mexicanas-mestizo no relacionadas con la obesidad de la clase I-III. El grupo de control incluyó 680 hombres y mujeres mexicanos y mujeres saludables no relacionadas con IMC menos de 30 kg/m<sup>2</sup>. Las características de esta población se muestran en la Tabla 1. La edad promedio fue de 44  $\pm$  14 años. Además, 65.8% de los pacientes fueron del sexo femenino y 34.2 del sexo masculino. Las comorbilidades más frecuentes fueron diabetes tipo 2 (26.9%) e hipertensión (31.2%). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas al comparar: edad, IMC, antecedentes de obesidad, presencia de diabetes e hipertensión y actividad física, entre los grupos (p<0.05).

Tabla 1. Características sociodemográficas y clínicas de la población de estudio

categoría	Variable	Todos los pacientes (n=1117)	Control (n = 680)	Sobrepeso/obesidad (n = 437)	Valor de p
Datos sociodemográficos	Edad (años)	44.2 $\pm$ 14.52	42.9 $\pm$ 15.19	46.3 $\pm$ 13.13	<b>0.000</b>
	IMC (kg/m <sup>2</sup> )	Mujer 29.31 $\pm$ 5.93	25.63 $\pm$ 2.96	34.71 $\pm$ 4.98	<b>0.000</b>
		Hombre 29.06 $\pm$ 5.07	26.03 $\pm$ 2.42	34.37 $\pm$ 4.01	
	Sexo, n (%)	Mujer 735 (65.8)	437 (39.1)	298 (26.7)	0.177
		Hombre 382 (34.2)	243 (21.8)	139 (12.4)	
Datos clínicos	Antecedentes de obesidad, n (%)	681 (61.0)	373 (33.4)	308 (27.6)	<b>0.000</b>
	DM1, n (%)	147 (13.2)	83 (7.4)	64 (5.7)	0.239
	DM2, n (%)	301 (26.9)	168 (15.0)	133 (11.9)	<b>0.021</b>
	Hipertensión arterial, n (%)	349 (31.2)	192 (17.2)	157 (14.1)	<b>0.007</b>
	Dislipidemia, n (%)	315 (28.2)	183 (16.4)	132 (11.8)	0.232
Estilo de vida	Hábito tabáquico, n (%)	237 (21.2)	140 (12.5)	97 (8.7)	0.521
	Consumo de alcohol, n (%)	405 (36.3)	245 (21.9)	160 (14.3)	0.843
	Ejercicio, n (%)	584 (52.3)	327 (29.3)	257 (23.0)	<b>0.000</b>

os datos se muestran como media ± desviación estándar o porcentajes. Un valor de p <0,05 se insidó estadísticamente significativo.

**l. Control de calidad (QC), frecuencias alélicas y test de equilibrio Hardy-Weinberg**

le incluyeron 1117 individuos que presentaron un orcentaje de genotipación superior al 90% establecido como umbral de calidad. El control de calidad de los marcadores se realizó con datos genotípicos y fenotípicos (Tabla 2). De los 52 SNPs, 50 presentaron un porcentaje de genotipación superior al 96%. Los genotipos, las frecuencias alélicas, la frecuencia del alelo menor y mayor, y el porcentaje de heterocigocidad para cada marcador (Tabla 2). Los marcadores: rs5443, rs10508503, rs10508503, rs2241423, rs6714473 presentaron una marcada desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg (p<0.05).

SNP ID	Gen	Genotipos	Frecuencia genotípica (%)	Alelo menor	Alelo mayor	MAF	p-Hst	p-HWE
rs6548238	TMEM18	TT	0.9					
		TC	13.5	T	C	0.09	0.14	0.078
		CC	85.6					
		CC	5.4					
rs1805081	NPC1	TC	33.7	C	T	0.22	0.34	0.354
		TT	61.0					
		AA	3.2					
		GA	28.4	A	G	0.17	0.28	0.686
rs7138803	FAIM2/BCDIN3	GG	68.4					
		AA	0.5					
		AG	13.3	A	G	0.07	0.13	0.546
		GG	86.1					
rs4712652	CASC15	GG	14.8					
		GA	43.2	G	A	0.36	0.43	0.071
		AA	42.0					
		CC	5.5					
rs10913469	SEC16B	CC	34.8	C	T	0.23	0.35	0.448
		TT	59.7					
		CC	0.2					
		CT	5.1	T	C	0.03	0.05	0.345
rs11847697	CTD-2251F13.1	CC	94.7					
		AA	0.3					
		GA	7.2	A	G	0.04	0.07	0.346
		CG	92.6					
rs12446632	-	GG	4.5					
		GA	30.1	G	A	0.20	0.30	0.056
		AA	65.4					
		CC	5.6					
rs1424233	MAF	TC	37.2	C	T	0.24	0.37	0.671
		TT	57.1					
		CC	0.0					
		TC	1.6	C	T	0.01	0.02	1.000
rs56149945	NR3C1	TT	98.4					
		TT	3.8					
		CT	51.4	T	C	0.29	0.51	<0.0001
		CC	44.9					
rs1514175	TNN3K	GG	10.4					
		AG	43.0	G	A	0.32	0.43	0.536
		AA	46.6					
		GG	4.5					
rs10146997	NRXN3	AG	36.3	G	A	0.23	0.36	0.435
		AA	59.3					
		GG	5.9					
		AG	31.3	G	A	0.22	0.31	0.418
rs10182181	ADCY3	AA	62.8					
		CC	2.3					
		CT	26.3	C	T	0.15	0.26	0.659
		TT	71.4					
rs3856806	PPARG	CC	5.4					
		CG	36.1	C	G	0.23	0.36	0.234
		GG	58.5					
		GG	21.3					
rs1137101	LEPR	AG	49.0	G	A	0.46	0.49	0.533
		AA	29.7					
		CC	19.9					
		CC	50.6	C	G	0.45	0.51	0.877
rs1042719	ADRB2	GG	29.5					
		GG	4.5					
		GA	30.3	G	A	0.20	0.30	0.057
		AA	65.2					
rs2815752	NEGR1	CC	0.4					
		CT	11.6	T	C	0.05	0.12	1.000
		TT	87.9					
		TT	0.4					
rs1475219	-	CT	3.5	T	C	0.02	0.03	0.002
		CC	96.2					
		CC	4.7					
		TC	44.8	C	T	0.27	0.45	0.035
rs2183825	LINGO2	TT	50.5					
		AA	0.6	A	G	0.05	0.09	0.033
		GA	9.4					
		GG	90.0					
rs7640855	CADM2	GG	8.7					
		GA	34.5	G	A	0.25	0.34	0.008
		AA	56.8					
		TT	8.6					
rs2241423	MAP2K5	CT	48.2	T	C	0.39	0.43	0.303
		CC	48.2					
		AA	25.4					
		AG	47.5	A	G	0.49	0.48	0.759
rs987237	TFAP2B	GG	27.0					
		GG	20.1					
		GA	52.1	G	A	0.47	0.52	0.218
		AA	27.8					
rs4788102	SH2B1	TT	1.5					
		GT	24.9	T	G	0.14	0.25	0.290
		GG	73.6					
		GG	22.6					
rs10840065	STK33	AG	51.2	G	A	0.48	0.51	0.646
		AA	26.1					
		TT	0.3					
		CT	3.9	T	C	0.02	0.04	1.000
rs13107325	SLC39A8	CC	95.8					

Abreviaturas: SNP, polimorfismo de un solo nucleótido; MAF, frecuencia de alelos menores; HWE, equilibrio de Hardy-Weinberg; P-Het, P-heterogeneidad. \*Los valores en negrita indican un valor p significativo <0,01 para HWE.

**C. Asociación Genotipo-Fenotipo**

En el análisis de asociación con obesidad (definida como IMC≥30), los polimorfismos: rs1137101 (LEPR), rs2183825 (LINGO2), rs987237 (TFAP2B), rs3751812 (FTO), rs921971 (RP11-795H16.2), rs9939609 (FTO), y los polimorfismos de regiones intrónicas rs2867125 y rs7566605, mostraron una asociación consistente tanto en el estudio no ajustado como en los modelos ajustados (Tabla 3).

Tabla 3. Asociación de los SNPs analizados con el fenotipo sobrepeso/obesidad

#	SNP ID	Chr	G	OR [CI 95%]	p-valor	OR [CI 95%]	p-valor* Ajustado	OR [CI 95%]	p-valor** Ajustado
1	rs6548238	2	TMEM18	0.17 (0.02-1.35)	0.037	0.17 (0.02-1.38)	0.04	0.17 (0.02-1.34)	0.036
2	rs1805081	18	NPC1	0.82 (0.64-1.06)	0.12	0.82 (0.64-1.06)	0.13	0.82 (0.64-1.06)	0.14
3	rs7138803	12	FAIM2/BCDIN3	1.58 (0.81-3.07)	0.18	1.55 (0.79-3.03)	0.20	1.51 (0.77-2.96)	0.23
4	rs759250	2	-	0.83 (0.59-1.17)	0.29	0.83 (0.59-1.17)	0.28	0.82 (0.58-1.16)	0.27
5	rs4712652	6	CASC15	1.08 (0.91-1.28)	0.38	1.07 (0.90-1.27)	0.47	1.08 (0.91-1.29)	0.38
6	rs10913469	1	SEC16B	1.15 (0.67-1.96)	0.61	1.11 (0.65-1.91)	0.70	1.13 (0.66-1.95)	0.65
7	rs11847697	14	CTD-2251F13.1	0.81 (0.49-1.34)	0.42	0.81 (0.49-1.34)	0.40	0.82 (0.49-1.36)	0.45
8	rs12446632	16	-	1.36 (0.85-2.19)	0.20	1.32 (0.82-2.13)	0.25	1.33 (0.82-2.14)	0.24
9	rs2568958	1	RPL31P12	0.59 (0.32-1.11)	0.09	0.58 (0.31-1.09)	0.08	0.57 (0.30-1.08)	0.07
10	rs1424233	16	MAF	0.82 (0.64-1.05)	0.12	0.83 (0.64-1.06)	0.14	0.83 (0.65-1.07)	0.15
11	rs56149945	5	NR3C1	1.29 (0.48-3.46)	0.61	1.18 (0.43-3.19)	0.75	1.22 (0.45-3.32)	0.70
12	rs5443	12	GNB3	0.77 (0.41-1.43)	0.41	0.88 (0.47-1.64)	0.68	0.88 (0.47-1.64)	0.68
13	rs1514175	1	TNN3K	0.93 (0.73-1.18)	0.55	0.94 (0.74-1.20)	0.63	0.95 (0.74-1.21)	0.67
14	rs10146997	14	NRXN3	0.92 (0.75-1.13)	0.43	0.92 (0.75-1.14)	0.46	0.92 (0.75-1.13)	0.44
15	rs10182181	2	ADCY3	0.62 (0.38-1.03)	0.06	0.63 (0.38-1.04)	0.07	0.64 (0.38-1.05)	0.07
16	rs3856806	3	PPARG	0.74 (0.34-1.63)	0.46	0.71 (0.32-1.57)	0.40	0.71 (0.32-1.56)	0.40
17	rs7566605	2	-	<b>0.78 (0.63-0.97)</b>	<b>0.024</b>	<b>0.79 (0.63-0.97)</b>	<b>0.027</b>	<b>0.79 (0.64-0.98)</b>	<b>0.034</b>
18	rs1137101	1	LEPR	<b>0.77 (0.65-0.91)</b>	<b>0.002</b>	<b>0.78 (0.66-0.93)</b>	<b>0.005</b>	<b>0.77 (0.65-0.92)</b>	<b>0.003</b>
19	rs1042719	5	ADRB2	1.24 (0.91-1.68)	0.17	1.25 (0.92-1.71)	0.15	1.25 (0.91-1.70)	0.16
20	rs2815752	1	NEGR1	0.59 (0.32-1.11)	0.09	0.58 (0.31-1.09)	0.08	0.57 (0.30-1.08)	0.07
21	rs1475219	13	-	1.42 (0.99-2.04)	0.06	1.38 (0.96-1.99)	0.08	1.38 (0.96-1.99)	0.08
22	rs10508503	10	PTER	1.93 (0.20-18.63)	0.55	1.86 (0.19-18.04)	0.57	2.07 (0.21-20.14)	0.51
23	rs2183825	9	LINGO2	<b>1.42 (1.12-1.81)</b>	<b>0.0042</b>	<b>1.37 (1.07-1.75)</b>	<b>0.012</b>	<b>1.36 (1.06-1.73)</b>	<b>0.014</b>
24	rs7640855	3	CADM2	3.88 (0.47-32.35)	0.15	4.04 (0.48-34.07)	0.14	4.24 (0.50-36.02)	0.12
25	rs2241423	15	MAP2K5	1.10 (0.87-1.41)	0.43	1.12 (0.87-1.43)	0.38	1.10 (0.86-1.41)	0.42
26	rs12641981	4	-	<b>0.63 (0.41-0.98)</b>	0.11	0.65 (0.42-1.01)	0.14	0.66 (0.42-1.02)	0.16
27	rs987237	6	TFAP2B	<b>1.39 (1.09-1.77)</b>	<b>0.0075</b>	<b>1.39 (1.09-1.77)</b>	<b>0.008</b>	<b>1.39 (1.09-1.77)</b>	<b>0.0079</b>
28	rs4788102	16	SH2B1	0.87 (0.67-1.14)	0.32	0.88 (0.68-1.16)	0.37	0.88 (0.67-1.15)	0.36
29	rs3751812	16	FTO	<b>0.73 (0.57-0.93)</b>	<b>0.012</b>	<b>0.71 (0.55-0.91)</b>	<b>0.0069</b>	<b>0.72 (0.56-0.92)</b>	<b>0.0087</b>
30	rs10840065	11	STK33	0.97 (0.76-1.23)	0.79	0.99 (0.78-1.26)	0.94	1.00 (0.78-1.27)	0.98
31	rs13107325	4	SLC39A8	1.01 (0.55-1.88)	0.059	0.95 (0.51-1.78)	0.059	0.96 (0.51-1.79)	0.063
32	rs11083779	19	QPCTL	1.54 (0.75-3.15)	0.23	1.50 (0.73-3.09)	0.26	1.51 (0.74-3.11)	0.25
33	rs7647305	3	DGKG	1.21 (0.92-1.60)	0.18	1.20 (0.91-1.59)	0.19	1.20 (0.91-1.58)	0.21
34	rs11165643	1	-	1.10 (0.87-1.41)	0.42	1.10 (0.86-1.40)	0.45	1.09 (0.86-1.39)	0.48
35	rs6864049	5	-	0.65 (0.38-1.11)	0.10	0.65 (0.38-1.11)	0.11	0.65 (0.38-1.12)	0.11
36	rs7498665	16	SH2B1	0.89 (0.66-1.20)	0.44	0.88 (0.65-1.19)	0.40	0.88 (0.65-1.19)	0.39
37	rs10838738	11	MTCH2	1.15 (0.90-1.47)	0.27	1.18 (0.92-1.52)	0.18	1.18 (0.92-1.51)	0.20
38	rs1800849	11	UCP3	0.64 (0.23-1.84)	0.40	0.70 (0.24-2.01)	0.50	0.72 (0.25-2.07)	0.53
39	rs2867125	-	-	<b>1.49 (1.00-2.20)</b>	<b>0.047</b>				

#### D. Análisis de Interacción Proteína-Proteína

Probamos en STRING redes de interacción de las principales proteínas productos de los genes evaluados en este estudio para estimar la asociación con el fenotipo obesidad. Encontramos 27 SNPs en 12 proteínas relacionadas con obesidad en la población de estudio (Figura 1).

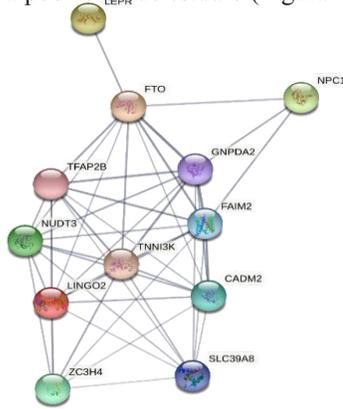


Figura 1. Reflejo gráfico de interacciones proteína-proteína para productos de genes asociados con sobrepeso / obesidad en nuestro estudio. El grosor de la línea entre proteínas refleja el nivel de confianza (puntuación de interacción) del enlace.

#### E. Análisis de interacción Genotipo-Genotipo (Epistasis)

De las 1225 parejas de SNPs posibles, 63 mostraron una interacción significativa en relación con el desarrollo de obesidad y 55 al desarrollo de sobrepeso (Tabla 4). En el estudio de obesidad, las dos interacciones que más contribuyeron incluyeron al gen DGKG (Diaclylglycerol Kinase Gamma) y a los genes que codifican las proteínas mitocondriales de desacoplamiento energético UCP2 y UCP3 (Uncoupling Protein 2 y 3). En el estudio de sobrepeso, las interacciones más significativas implicaron a UCP2 y a MAP2K5 (Mitogen-Activated Protein Kinase 5), al receptor de leptina LEPR (Leptin Receptor) y al polimorfismo intergénico rs4788102 (TUFM [distancia = 15669 bp], SH2B1 [distancia=1680bp]).

Tabla 4. Efectos de interacción Gen-Gen (Epistasis) para el riesgo de obesidad

Chr1	SNP1	Chr2	SNP2	OR Int	STAT	P
1	rs1137101	5	rs6864049	1.596	8.958	<b>0.002</b>
1	rs2568958	3	rs3856806	0.4842	7.97	<b>0.004</b>
1	rs2568958	5	rs1042719	0.6917	4.509	<b>0.033</b>
1	rs2815752	3	rs3856806	0.516	6.995	<b>0.008</b>
1	rs2815752	5	rs1042719	0.6786	5.047	<b>0.024</b>
1	rs1514175	18	rs17782313	1.891	4.508	<b>0.033</b>
1	rs11165643	3	rs3856806	1.813	8.007	<b>0.004</b>
1	rs11165643	14	rs11847697	2.479	5.991	<b>0.014</b>
1	rs11165643	18	rs1805081	1.398	4.118	<b>0.042</b>
2	rs2867125	6	rs4712652	0.3855	6.135	<b>0.013</b>
2	rs6548238	14	rs10146997	1.838	4.826	<b>0.028</b>
2	rs6548238	19	rs2303108	1.696	4.445	<b>0.035</b>
2	rs10182181	11	rs10838738	0.7097	4.427	<b>0.035</b>
2	rs10182181	11	rs659366	1.432	5.199	<b>0.022</b>
2	rs759250	11	rs10838738	0.4654	6.169	<b>0.013</b>
2	rs759250	14	rs11847697	14.21	9.492	<b>0.002</b>
2	rs7566605	5	rs6864049	1.66	7.743	<b>0.005</b>
2	rs7566605	11	rs6265	0.6134	4.315	<b>0.037</b>
2	rs6714473	16	rs4788102	4.077	5.544	<b>0.018</b>
2	rs6714473	16	rs7498665	3.703	5.511	<b>0.018</b>
3	rs3856806	3	rs7647305	0.4869	5.166	<b>0.023</b>
3	rs3856806	19	rs2303108	0.6771	4.517	<b>0.033</b>
3	rs7640855	11	rs6265	0.4332	4.333	<b>0.037</b>
3	rs7647305	11	rs6265	0.4506	5.667	<b>0.017</b>
3	rs7647305	11	rs659366	0.5046	10.53	<b>0.001</b>
3	rs7647305	11	rs1800849	0.3467	9.496	<b>0.002</b>
3	rs7647305	16	rs9939609	1.756	4.34	<b>0.037</b>
3	rs7647305	16	rs1424233	1.9	7.417	<b>0.006</b>
4	rs12641981	11	rs6265	0.5917	6.498	<b>0.010</b>
4	rs12641981	16	rs7498665	0.7531	3.856	<b>0.049</b>
4	rs10938397	5	rs253414	0.7046	5.263	<b>0.021</b>
4	rs10938397	11	rs6265	0.6114	5.711	<b>0.016</b>
4	rs10938397	16	rs7498665	0.7491	3.998	<b>0.045</b>

Abreviaturas: SNP, polimorfismo de un solo nucleótido. Chr, Cromosoma.

#### IV. DISCUSIÓN

La obesidad como enfermedad compleja tienen alta heredabilidad. En los últimos años los estudios de genes candidatos de todo el genoma han reportado múltiples loci. En nuestro estudio registramos 8 loci asociados al fenotipo obesidad en la población mexicana en genes que codifican a las proteínas: leptina, LINGO2, factor de transcripción AP2B y FTO (proteína asociada a la obesidad y el tejido graso). De todos los loci evaluados, uno de los más significativos fue el polimorfismo en el intrón 2 del gen LINGO2 (Leucine Rich Repeat And Ig Domain Containing 2), que codifica una proteína de membrana de expresión ubicua y función desconocida. De acuerdo con la base de datos GWAS central, este SNP se asoció al IMC en dos estudios GWAS [2-3]. Además, el polimorfismo también se incluye en la base de datos SCAN como un eQTL de los genes LAG3 (Lymphocyte Activating 3), STARD13 (StAR Related Lipid Transfer Domain Containing 13) y CDKN2C (Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2C) [3]. Nuestros resultados son consistentes con un informe previo realizado en la población mexicana [4]. Muchos de los loci que aportan efecto de nuestro estudio se encuentran cerca de múltiples genes que participan en metabolismo energético, por lo que es necesario identificar las variantes causales de obesidad de interés terapéutico. Nuestros resultados sugieren que diversos alelos de riesgo de obesidad identificados en la población europea también confieren riesgo de obesidad en los mexicanos [1].

#### V. CONCLUSIONES

Al establecer un genotipo de riesgo podrán realizarse algunas intervenciones terapéuticas, así como la implementación de guías preventivas y de manejo de la obesidad. Igualmente, los activos generados en este trabajo se utilizarán en etapas posteriores para el estudio de blancos terapéuticos específicos para reducir la obesidad y para la investigación de factores genéticos que pudieran ser predictivos en la población mexicana mediante un estudio de GWAS.

#### RECONOCIMIENTO

Esta investigación fue apoyada por Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, México (Número: 232899).

#### REFERENCIAS

- [1] B.M. Herrera, S. Keildson, C.M. Lindgren, "Genetics and epigenetics of obesity" *Maturitas*, vol. 69, no. 11, pp. 41-9, 2011, DOI: 10.1016/j.maturitas.2011.02.018.
- [2] T. Cirulli, D. Goldstein, "Uncovering the roles of rare variants in common disease through whole-genome sequencing" *Nat Rev Genet*, vol. 11, pp. 415-425, 2010, DOI: <https://doi.org/10.1038/nrg.2779>.
- [3] A. Checa-Rojas, "Estudio de asociación del genoma completo (GWAS)", 2021, Julio 15, Conogasi.org Sitio web: <http://conogasi.org/articulos/estudio-de-asociacion-del-genoma-completo-gwas-2/>
- [4] P. León-Mimila, et al, "Contribution of common genetic variants to obesity and obesity-related traits in mexican children and adults" *PLoS One*, vol. 8, no. 8 pp.e70640, 2012, DOI: 10.1371/journal.pone.0070640