



Universidad de la Sierra Sur

Variantes SNV'S rs1345365 de ELMO1/ y rs
2291166 de TGP1 y su probable relación en el
desarrollo de pancreatitis idiopática

TESIS

Para obtener el título de:

Maestro en Salud Pública

Presenta:

L.N. Arturo Caballero Avendaño

Bajo la dirección del:

Dr. Sergio Alberto Ramírez García

Miahuatlán de Porfirio Díaz, Oaxaca, diciembre de 2020.

Tesis desarrollada por el L.N. Arturo Caballero Avendaño, egresado de la Maestría en Salud Pública, bajo la dirección del Comité Tutorial:

Director: Dr. Sergio Alberto Ramírez García.

Asesor 1: Dra. Ruth Ana María González Villoria.

Asesor 2: Dr. Ariel Abeldaño Zúñiga.

Tesis presentada en Examen de Grado el 16 de diciembre de 2020, ante el siguiente Jurado:

Presidente: Dr. José Cutberto Hernández Ramírez

Secretaria: Dra. Araceli Hernández Flores

Vocal: Dr. Sergio Alberto Ramírez García

Suplente 1: M.S.P Pablo Cataneo Pérez

Suplente 2: Dr. Hady Keita

Dedicatoria:

A mis amados padres, Arturo Caballero Aquino y Margarita Avendaño Hernández, por darme cariño, valores y apoyo, sin sus enseñanzas no se sería quien soy actualmente, que a pesar de mis errores y carácter siempre me apoyaron y brindaron su amor incondicional. Y aunque que mi madre no se encuentre con nosotros vive en mi memoria y corazón, sus enseñanzas y consejos los llevo conmigo todos los días.

A mi familia más cercana que tanto quiero y aprecio, Luis Daniel, Claudia, Irene, Tertuliano, Soledad, Frida, Luis, Juan Pablo, Vianney, Enrique, Virginia Y Marcos gracias por su apoyo y cariño, gracias a ustedes comprendí que la palabra familia significa amor, risas, sinceridad y apoyo incondicional.

A mis sobrinos Karim, Xiomara y Jessica, que me motivan a ser un ejemplo de que todos tenemos errores, pero depende de uno seguir el buen camino.

Agradecimientos:

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), gracias al apoyo económico brindado, sin la beca me hubiera sido muy difícil la culminación de un posgrado.

A mi mentor, maestro y amigo, el Doctor Sergio Alberto Ramírez García, por dirigir mi trabajo, orientarme y brindarme su apoyo, me llevo muchas enseñanzas y aprendizaje de usted.

A las autoridades de la Universidad de la Sierra Sur (UNSI) y la división de posgrado, quienes muy atentamente revisaron y realizaron las correcciones pertinentes del trabajo realizado, a los integrantes de mi jurado de grado, quienes desempeñan labores en mi querida casa de estudios. Gracias Universidad de la Sierra Sur.

A mis asesores la Dra. Ruth Ana María González Villoria y el Dr. Ariel Abeldaño Zuñiga, por su gran colaboración y orientación.

A los catedráticos de la Maestría en Salud pública, gracias por sus enseñanzas, correcciones y profesionalismo, que nunca pierdan ese amor a la enseñanza que demuestran en sus clases.

A la vida, que se siga dando la oportunidad que día a día me regala para mejorar como persona, amigo, hijo, estudiante y profesional.

Resumen

Introducción. La pancreatitis es un proceso inflamatorio que afecta la función exocrina del páncreas, resultando en un daño a las células acinares. Desde el punto de vista genético es un rasgo complejo ya que está influenciado por múltiples *loci*, entre ellos los genes para la inflamación. En población mexicana son limitados los estudios de marcadores genéticos en relación a esta enfermedad. **Objetivo.** Se analizó el efecto aditivo de dos polimorfismos como candidatos a nuevos marcadores para pancreatitis en el presente estudio de epistasia, la SNV (variación de un solo nucleótido) rs1345365 en el gen *ELMO1* y la SNV rs2291166 en el gen *TJP1*, considerando que *ELMO1* regula la inflamación, así como la fibrogénesis y *TJP1* la arquitectura de los acinos. **Métodos.** El presente es un estudio transversal. Se extrajo material genético contenido en muestras de sangre periférica de 87 probandos con pancreatitis idiopática así como en 103 muestras de personas sin factores de riesgo para pancreatitis. Se detectaron los polimorfismos mediante la reacción en cadena de la polimerasa específica de alelo (PCR). La asociación entre los polimorfismos y la patología se realizó utilizando los modelos de la epidemiología genética y la interacción gen-gen. **Resultados.** Los portadores con alelo A de la SNV de *ELMO1* presentan 2.337 veces más de probabilidad de desarrollar pancreatitis ($X^2=5.039$, $p=0.024$, $ORR=2.337$, $IC95\%=1.109-5.093$, $ORFPp=33.10$, $ORFPe=57.9\%$). **Conclusión.** Este es el primer estudio que sugiere un efecto aditivo de los polimorfismos rs1345365 y rs2291166 con el riesgo de pancreatitis idiopática, sin embargo, tendrá que ser corroborado con estudios de réplica en diferentes poblaciones dada la heterogeneidad genética de la pancreatitis.

Palabras clave. Pancreatitis, Genes, Epidemiología, Polimorfismo genético, Epistasia genética.

Abstract

Introduction. Pancreatitis is an inflammatory process affecting the exocrine function of the pancreas, resulting in damage to the acinar cells. From the genetic point of view, it is a complex trait as it is influenced by multiple loci, including genes for inflammation.

Objective. Studies of genetic markers, in Mexican population, in relation to this disease, are limited. Therefore, the additive effect of two new markers of epistasis; the SNV rs1345365 in the *ELMO1* gene and the SNV rs2291166 in the *TJP1* gene were analyzed, considering that *ELMO1* regulates inflammation and fibrogenesis and *TJP1* the acinar architecture.

Methods. Peripheral blood samples for DNA extraction of 87 probands with idiopathic pancreatitis were collected. 103 DNA samples from people with no risk factors of pancreatitis were also included. Polymorphisms were detected by the chain reaction specific allele polymerase (PCR). The association was validated by models of genetic epidemiology and gene-gene interaction.

Results. Arranging by haplotype, carriers of allele A of SNV *ELMO1* presented a risk of developing pancreatitis of 2,337 ($X^2= 5.039$, $p = 0.024$, ORR= 2.337, 95%CI= 1109-5093, ORFPp= 33.10, ORFPe= 57.93%).

Conclusion. This is the first study suggesting an additive effect of rs1345365 and rs2291166 polymorphisms with the risk of idiopathic pancreatitis, however, they will have to be corroborated with replication studies in different populations given the genetic heterogeneity of pancreatitis.

Key words. Pancreatitis. Genes. Epidemiology. Polymorphism Genetic. Epistasis Genetic.

ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	5
CAPÍTULO 2.- MARCO TEÓRICO.....	12
2.1 Generalidades de la pancreatitis.....	12
2.1.1 Pancreatitis aguda y su etiología.....	13
2.1.2 Diagnóstico.....	14
2.2 Pancreatitis crónica.....	17
2.2.1 Etiología de la Pancreatitis crónica	18
2.3 Pancreatitis idiopática	21
2.4 Aspectos genéticos en pancreatitis.....	22
2.5 Generalidades del gen TJP1	26
2.6 Generalidades del gen ELMO1.....	27
2.7 Fundamento teórico	28
2.8 Genética y genómica en las políticas públicas de México.	30
CAPÍTULO 3.- JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS, OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....	35
3.1 Justificación	35
3.2 Hipótesis	36
3.3 Preguntas de investigación.....	36
3.4 Objetivos.....	36
3.4.1 Objetivo general	36
3.4.2 Objetivos específicos	37
CAPÍTULO 4.- MATERIALES Y MÉTODOS	38
4.1 Tipo de investigación	38
4.2 Muestra.....	38
4.3 Extracción de ADN y la amplificación génica	39
4.4 Fundamento de la Reacción de Cadena de Polimerasa.....	40
4.5 Amplificación genómica por PCR.....	40
4.5.1 Amplificación de alelos específicos por PCR (PCR) de <i>TJP1</i> y <i>ELMO1</i>	41
4.6 Métodos de visualización del ADN: Electroforesis ADN PAGE al 8%.....	43

4.7	Electroforesis de ADN en gel de poliacrilamida	44
4.8	Procedimiento Electroforesis PAGE al 8%.	45
4.9	Operacionalización de variables	46
4.10	Modelos y métodos de análisis de los datos de acuerdo al tipo de variables	47
4.11	Métodos estadísticos	48
4.11.1	Interacción gen-gen y análisis estadístico	49
4.12	Plan de análisis de los resultados.....	50
4.13	Apartado ético.....	51
CAPÍTULO 5.- RESULTADOS		53
CAPÍTULO 6.- DISCUSIÓN		74
CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES		79
ANEXOS		90

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Alcances y preguntas de la epidemiología clínica	7
Tabla 2.	Alcances de estudio de la epidemiología clínica y genética	9
Tabla 3.	Características clínicas y demográficas de la población con PA en México	13
Tabla 4.	Etiología de la pancreatitis crónica	19
Tabla 5.	Criterios del estudio para las muestras	39
Tabla 6.	Programas de amplificación PCR para los SNV de ELMO1 y TGP1.....	41
Tabla 7.	Mezcla de la reacción PCR para los SNV de ELMO1 y TGP1	42
Tabla 8.	Rango de migración de los productos de PCR.....	44
Tabla 9.	Operacionalización de variables.....	46
Tabla 10.	Equilibrio Hardy Weinberg del polimorfismo rs1345365 del gen ELMO1 y rs2291166 del gen TGP1 para muestras del estado de Jalisco, México	54
Tabla 11.	Análisis descriptivo de sexo, escolaridad, clasificación de pancreatitis, IMC, diagnóstico al momento de ingreso hospitalario, diagnóstico	

bioquímico, número de ingresos y días de hospitalización de pacientes con pancreatitis idiopática.....	62
Tabla 12. Análisis descriptivo de características antropométricas, bioquímicas, número de ingresos y días de hospitalización (promedio en pacientes diagnosticados con pancreatitis idiopática	65
Tabla 13. Estudio de asociación mediante modelos de epidemiológicos genéticos en pancreatitis idiopática de ELMO1 y TGP1.....	66
Tabla 14. Estudio de asociación de los genotipos AA y AG del SNV'S rs1345365 del gen ELMO1, de las variables cualitativas en pacientes con pancreatitis idiopática y de los genotipos TT y TG del SNV rs2291166 de TGP1, de las variables cualitativas en pacientes con pancreatitis idiopática.....	69
Tabla 15. Estudio de asociación de los genotipos TT y TG del SNV rs2291166 de TGP1, de las variables cuantitativas en pacientes con pancreatitis idiopática...	70
Tabla 16. Comparación de medias de los genotipos AA, AG del gen ELMO1	72
Tabla 17. Comparación de medias para haplogrupos en los genes ELMO 1 y TGP1.....	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Uniones estrechas ápico-laterales en células acinares pancreáticas	2
Figura 2.- Clasificación general de la pancreatitis	22
Figura 3. Locus del gen TGP1 en el cromosoma 15	27
Figura 4. locus del gen ELMO1 en el cromosoma 7.....	28
Figura 5. La dimensión de atención y los ámbitos de atención y los ámbitos que comprenden las enfermedades poco frecuentes	33
Figura 6. Diagrama del proceso de identificación de los SNV'S	39
Figura 7. Genotipos del SNV rs2291166 en electroforesis page 8%.....	42
Figura 8. Electroforesis page 8%, para el SNV rs1345365 del gen ELMO1	43
Figura 9. Etapas de la técnica de electroforesis.....	45

Figura 10. Distribución de genotipos de los SNV'S de ELMO1 y TGP1.	55
Figura 11. Distribución de alelos de los SNV'S de ELMO1 y TGP1.....	56
Figura 12. Distribución de haplogenotipos y haplogrupos de los SNV'S de ELMO1 y TGP1	57

ÍNDICE DE MAPAS

Mapa 1. Lugar de residencia de pacientes con pancreatitis idiopática, Jalisco, 2006-2012.	53
Mapa 2. Distribución de los haplogrupos AG y AT, Jalisco, 2006-2012.....	58
Mapa 3. Distribución de los haplogrupos GG y GT, Jalisco, 2006-2012	59

INTRODUCCIÓN

La pancreatitis es una enfermedad poligénica inflamatoria de la función exocrina del páncreas, como resultado de daño en las células acinares y puede clasificarse como aguda o crónica recurrente, la prevalencia de los casos de etiología no determinada (idiopáticos) es de 5-15% los cuales se ha asociado a modificaciones génicas particulares como el polimorfismo p.R122H (c.365G>A) en el gen codificador para tripsina 1 (*PRSS1*) siendo este el más común en encontrarse (1).

En los últimos años se han identificado diferentes genes implicados en las pancreatitis hereditarias como el gen carboxipeptidasa A1 (*CPA1*), y se ha propuesto que existen polimorfismos con implicaciones importantes en el desarrollo de pancreatitis idiopática, la cual suele ser considerada como una enfermedad rara (2).

El concepto de enfermedades raras se plantea por primera vez en los años 80 en los Estados Unidos de Norteamérica (2). La definición de enfermedad rara es compleja debido a que aun cuando el 80% son de origen genético también pueden ser de origen inmunológico, infeccioso o generativo (3) y el componente ambiental no puede ser excluido; El concepto más usado para enfermedades raras es que son enfermedades con una tasa elevada de mortalidad pero con baja prevalencia (2).

Dado lo anterior se propone a dos genes que pueden estar relacionados a la etiología idiopática de la pancreatitis; el gen Engulfment And Cell Motility 1 (*ELMO1*) está relacionado con la regulación de la inflamación así como de la fibrogénesis, por otro lado el gen Tetrahymena G-DNA binding protein 1 (*TJP1*) codifica para la proteína Zonula occludens-1 (ZO-1) la cual le confiere resistencia a las uniones estrechas ápico-laterales, para este caso en acinares pancreáticos como se ilustra en la figura 1, y se ha reportado que la proteína ZO-1 está desregulada en modelos experimentales de pancreatitis (4,5).

Cada uno de estos genes presenta polimorfismos que pueden ser usados como marcadores con implicaciones funcionales; la Single Nucleotide Variant (SNV) rs1345365 de *ELMO1* en alguna región se relaciona con un desequilibrio de ligamiento

además de estar asociado a procesos de fibrogénesis e inflamación, se han descrito efectos patogénicos de este polimorfismo en diabetes mellitus tipo 2 y nefropatía diabética (4).

La SNV rs2291166 del gen *TJP1* conduce al cambio de un aminoácido de carga negativa por un aminoácido de carga neutra- (p.D1334A), asociado con una alteración conformacional en la proteína ZO-1, que resulta en una menor resistencia mecánica de las uniones estrechas, este efecto ha sido vinculado a presencia de albuminuria (5).

Esta tesis tiene como objetivo estudiar mediante la epidemiología genética los SNV'S de los genes *ELMO1* y *TJP1*, describirlos, analizar su frecuencia y determinar si la epistasis en estos genes, es un factor de riesgo o protección para el desarrollo de pancreatitis idiopática.

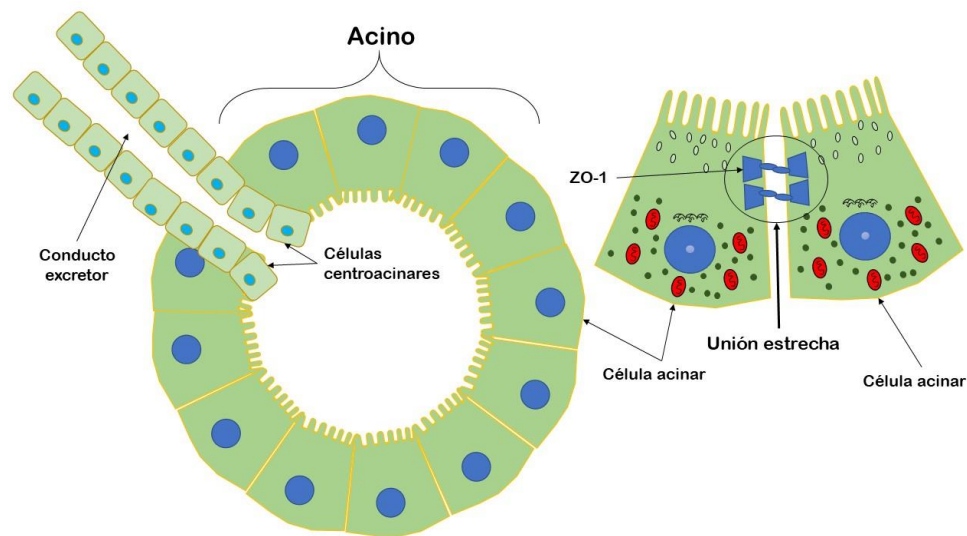


Figura 1. Uniones estrechas ápico-laterales en células acinares pancreáticas

Fuente: Elaboración propia con base en (González, *et al.*, 2012).

El aporte de este estudio radica en la propuesta de marcadores genéticos con los que se pretenden ayudar a la comprensión de mecanismos fisiológicos y metabólicos de la pancreatitis de origen idiopático, esto como primer paso encaminado a crear prevención primaria, ya que al identificar susceptibilidad genética se puede modificar el factor ambiental y reducir el riesgo de padecer dicha enfermedad.

El presente trabajo está estructurado a través de los siguientes capítulos:

Capítulo 1 Planteamiento del problema: En este capítulo se describe la magnitud del problema de la pancreatitis idiopática a nivel mundial y nacional, los impactos negativos de este problema en la calidad de vida y salud de quien lo padece. Este capítulo considera estudios que en la actualidad abordan el problema de la pancreatitis idiopática, así como las posibles causas de su padecimiento ya sea genético, ambiental o mixto; también se incluyen los motivos que justifican el desarrollo de este trabajo en el cual se busca la relación entre las SNV'S previamente mencionados y el desarrollo de pancreatitis idiopática.

Capítulo 2 Marco teórico: En este capítulo se establece la parte fundamental de esta investigación, aquí se mencionan las fuentes primarias y secundarias sobre las cuales se sustenta este estudio, además de, integrar la teoría con la investigación y los factores relacionados con la pancreatitis de origen desconocido o idiopático.

Capítulo 3 Justificación, hipótesis, objetivos y preguntas de investigación: Se plantea la pregunta de investigación, se establece el objetivo general, con su desglose en objetivos específicos y la relevancia de esta investigación en el área de la Salud Pública.

Capítulo 4. Materiales y métodos: Describe el diseño del estudio, considerando la muestra, misma que fue a conveniencia; detalla los criterios inclusión y exclusión. Define la operacionalización de variables; describe los procedimientos, así como los instrumentos y técnicas de medición que se usan para el estudio. Contiene las herramientas de análisis estadístico aplicadas desde lo descriptivo hasta el análisis estadístico inferencial, aplicando las medidas de tendencia central y dispersión, continuando con las pruebas chi cuadrada (X^2), T de Student y riesgo relativo (RR); el capítulo finaliza con las consideraciones éticas y las limitaciones del estudio.

Capítulo 5. Resultados: En este se muestran y explican los datos resultantes del procesamiento estadístico, estos se clasifican siguiendo el orden de los objetivos planteados, primero del general y posteriormente de los específicos.

Capítulo 6. Discusión: Se toma en cuenta artículos usados en el marco teórico para analizar los resultados derivados y argumentar que significan; es decir, si las SNV'S están asociadas o no a pancreatitis y porque, también se compara los resultados con datos de otros estudios genéticos para ver si existe concordancia.

Conclusiones y recomendaciones: Plantea los aportes científicos y aprendizajes de esta investigación, en la cual se evidencia la necesidad de otros estudios que además de lo incluido en la presente se aborden factores ambientales como la actividad física.