



Universidad de la Sierra Sur

Análisis del polimorfismo rs2291166 del gen *TJPI* en los niveles séricos de colesterol y triglicéridos, así como su impacto epidemiológico en población mexicana.

TESIS

Para obtener el título de:

Maestro en Salud Pública

Presenta

L.N. Eric Ramírez Bohórquez

Bajo la dirección de:

Dr. Sergio Alberto Ramirez Garcia

Co-Dirección de:

Dr. José Rafael Villafan Bernal

Miahuatlán de Porfirio Díaz, Oaxaca, noviembre de 2018

Tesis presentada en Examen Profesional el
27 de noviembre de 2018 ante el siguiente Jurado:

Presidente: Dr. Hady Keita

Secretario: Dr. José Cutberto Hernández Ramírez

Vocal: Dr. Sergio Alberto Ramirez Garcia

Suplente I: M.N.C. Lizett Medina Briseño

Suplente II: M.C. Ericay Berenice Martínez Ramos

AGRADECIMIENTOS

Quiero dar gracias primero a Dios porque siempre me ayuda y guía en el camino a seguir.

A mi familia que a pesar de todo siempre me ha apoyado, a mi mamá y a mi sobrino Jeshua.

Al Dr. Sergio Alberto Ramírez García que me ayudó en el presente trabajo que debía realizar, que con su apoyo y consejos siempre pude aprender más, pero sobre todo por la oportunidad y el voto de confianza que me dio desde el primer momento cuando acepto ser mi director de tesis.

Al Dr. José Rafael Villafan Bernal de la Universidad Autónoma de Aguascalientes por todo su apoyo y conocimientos brindados para lograr mi tesis.

A los miembros de mi comité y mi jurado por su ayuda en el mejoramiento de mí tesis.

A todos los maestros de la División de Estudios de Postgrado por su apoyo y guía en el camino del aprendizaje en especial a la Dra. Ana María González Villoria por su ayuda y consejos, al igual que a la Dra. Alejandra Sánchez Bandala, el Dr. Ariel Abeldaño Zúñiga, el Mtro. José Isaías Siliceo y el Dr. Carlos Daniel Pinacho Pinacho.

A mis compañeros de la maestría que siempre nos apoyamos en todas las actividades a realizar y por brindarme su amistad.

A la Universidad de la Sierra Sur que sin el trabajo de sus autoridades y su apoyo no se podría haber llevado a cabo mi formación profesional.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico durante mi formación profesional.

RESUMEN

El gen *TJP 1* codifica para una proteína de las uniones estrechas (UE, ZO1), las cuales a nivel intestinal forman el contacto célula-célula que regula la permeabilidad lateral y basolateral para iones y nutrientes, por lo que se propone que el polimorfismo RS2291166 del gen *TJP1*, que conduce a un cambio conformacional atribuido a un cambio de aminoácido; puede estar relacionado con el flujo de nutrientes, entre ellos colesterol (CT) y triglicéridos (TG). Lo anterior resulta de importancia ya que podría estar asociado con el desarrollo de hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia, las cuales son un factor de riesgo cardiovascular. Los estudios genéticos de estas enfermedades son limitados en México debido a la diversidad genética, considerando esto y que el gen *TJP1* no ha sido estudiado se analizó el efecto polimorfismo en los niveles séricos de CT y TG. Se incluyeron 317 muestras de ADN de personas con rango de edad de 18 a 54 años de los estados de Oaxaca, Jalisco y Aguascalientes. El polimorfismo se identificó por PCR-PASA corriendo los productos por electroforesis PAGE 7%. TG Y CT se determinaron mediante fotometría directa; se estableció el equilibrio Hardy Weinberg (EHW) y pruebas de asociación para los genotipos. En el estado de Oaxaca el genotipo GG presenta concentraciones de colesterol más bajas que los otros genotipos (TG y TT), sin embargo, en Jalisco y Aguascalientes, así como de manera general no se encontró asociación. Los genotipos se distribuyeron de forma similar a grupos étnicos africanos en el sur de país y en el norte fueron más parecidos a poblaciones europeas. De acuerdo con los datos de la presente investigación, al parecer, no existe asociación entre los niveles séricos de colesterol y triglicéridos con el polimorfismo rs2291166. Las concentraciones más bajas de colesterol en Oaxaca podrían deberse a otro factor genético o ambiental propio de la población analizada.

Palabras clave. Uniones estrechas, polimorfismo, colesterol, triglicéridos.

ABSTRACT

The *TJP 1* gene encodes a protein of the tight junctions (TJ, ZO-1), which form the cell-cell contact that regulates the transcellular transport for ions and nutrients at the intestinal level. It is proposed that the RS2291166 polymorphism of the *TJP1* gene leads to a conformational change due to an amino acid change, which relates to the flow of nutrients, such as cholesterol (CT) and triglycerides (TG). This is important because it could be associated with the development of hypercholesterolemia and hypertriglyceridemia, which are cardiovascular risk factors. Genetic studies of these diseases are limited in southern México, as is the genetic diversity. Taking this, as well as how little the *TJP1* gene has been studied into consideration, the polymorphism effect was analyzed in the serum levels of TC and TG. We included 317 DNA samples from people 18 to 54 years of age in the states of Oaxaca, Jalisco and Aguascalientes. The polymorphism was identified by PCR-PASA by running the products by PAGE 7% electrophoresis. TG and CT were determined by direct photometry; then the Hardy Weinberg (EHW) equilibrium was established for the genotypes. In the state of Oaxaca, the GG genotype has lower cholesterol concentrations than the other genotypes (TG and TT). However, in Jalisco, Aguascalientes and in general there was no association. The genotypes were distributed to groups similar to African ethnicity in the south of the country and populations more similar to European ethnicity in the north. According to the data in the present investigation, it seems that there is no association between serum cholesterol and triglycerides levels with the polymorphism rs2291166. The lower concentrations of cholesterol in Oaxaca could be due to another genetic factor typical of the population analyzed.

Key words. Tight Junctions, polymorphism, cholesterol, triglycerides

ÍNDICE GENERAL

INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO 1. ANTECEDENTES	5
1.1. Generalidades de los lípidos	5
1.2. Colesterol.....	6
1.3. Triglicéridos.....	7
1.4. Lipoproteínas	8
1.5. Metabolismo de los lípidos	9
1.6. Dislipidemias.....	10
1.6.1. Hipercolesterolemia.....	12
1.6.2. Hipertrigliceridemia.....	12
1.7. Epidemiología de las dislipidemias.....	13
1.8. Aspectos genéticos, genómicos y proteómicos	14
1.8.1. Genética de las dislipidemias	16
1.8.2. Generalidades del Gen <i>TJP1</i>	17
1.8.3. Uniones estrechas	18
1.8.3.1. Implicaciones de las uniones estrechas	20
1.8.4. Polimorfismo rs2291166.....	26
1.9. Epidemiología Genética	29
CAPITULO 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	32
2.1 Planteamiento del problema.....	32
2.2 Pregunta de investigación	34
CAPITULO 3. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	35
3.1 Justificación	35

3.2 Objetivo General	37
3.3 Objetivos específicos	37
CAPITULO 4. MATERIALES Y MÉTODOS	38
4.2 Diseño metodológico.....	38
4.3 Alcance del estudio.	38
4.4 Hipótesis	39
4.6 Periodo y lugar de desarrollo de tesis.	39
4.7 Estimación de la muestra	39
4.8 Criterios de inclusión, exclusión y eliminación.....	40
4.9 Técnicas e instrumentos de investigación	41
4.9.1 Estudio molecular.....	41
4.9.2 Estudio Bioquímico	45
4.10. Definición conceptual y operacional de las variables de estudio	45
CAPITULO 5. RESULTADOS	48
Análisis de los resultados.....	48
CAPITULO 6. DISCUSIÓN	66
CAPITULO 7. CONCLUSIONES.....	71
7.1. Recomendaciones	73
REFERENCIAS	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Uniones estrechas intercelulares y basolaterales en el epitelio Intestinal.....	1
Figura 2. Principales causas de mortalidad en México de 1998-2015.....	3
Figura 3. Estructura química del colesterol.....	7
Figura 4. Estructura química de un triglicérido.....	8
Figura 5. Trafico de lípidos en el enterocito y papel de las uniones estrechas....	10
Figura 6. Vía exógena del transporte de los lípidos.....	11
Figura 7. <i>Locus</i> del gen <i>TJP1</i> en el cromosoma 15.....	17
Figura 8. Porcentaje de expresión del gen <i>TJP1</i> en diferentes órganos del cuerpo.....	18
Figura 9. Predicción para el modelo conformacional del polimorfismo del gen <i>TJP1</i>	26
Figura 10. Preparación de gel de poliacrilamida (19:1) para electroforesis.....	42
Figura 11. Resumen de metodología para identificar el polimorfismo rs2291166.....	43
Figura 12. Gel de poliacrilamida con corrimiento de productos de PASA del gen <i>TJP1</i>	44

Índice de Tablas

Tabla 1. Número de cromosomas, porcentaje genotipos y de alelos del gen <i>TJP1</i> reportados.....	28
Tabla 2. Modelos de herencia genética y estadístico para su evaluación.....	30
Tabla 3. Estimación de la fuerza de asociación de acuerdo con el valor de los Odds Ratios.....	31
Tabla 4. Definición operacional y conceptual de las variables, así como su Método de medición.....	45
Tabla 5. Frecuencias y porcentajes totales de la muestra incluida.....	48
Tabla 6. Equilibrio Hardy Weinberg del polimorfismo rs2291166 del gen <i>TJP1</i> para los estados.....	49
Tabla 7. Frecuencia de los genotipos de polimorfismo rs2291166 del gen <i>TJP1</i> de los 3 estados.....	50
Tabla 8. Frecuencias de los alelos del polimorfismo rs2291166 del gen <i>TJP1</i> en los 3 estados.....	51
Tabla 9. Prueba T y ANOVA para las concentraciones de colesterol y triglicéridos de Oaxaca.....	52
Tabla 10. Prueba T y ANOVA para las concentraciones de colesterol y triglicéridos de Jalisco.....	53
Tabla 11. Prueba T y ANOVA para las concentraciones de colesterol y triglicéridos de Aguascalientes.....	54
Tabla 12. Prueba T y ANOVA para las concentraciones de colesterol y triglicéridos muestra total.....	55
Tabla 13. Prueba T y ANOVA para las concentraciones de colesterol y triglicéridos entre estados.....	56
Tabla 14. Frecuencia de hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia por el genotipo y estado.....	57
Tabla 15. Odds Ratios, fracción prevenible poblacional y fracción prevenible en expuestos del colesterol por estado.....	59
Tabla 16. Odds Ratios, fracción prevenible poblacional y fracción prevenible en expuestos de los triglicéridos por estado.....	61
Tabla 17. Identificación de influencia del polimorfismo en los niveles de colesterol en Oaxaca.....	63

INTRODUCCIÓN

El gen *TJP 1* codifica para las proteínas ZO-1 de las uniones estrechas (UE), las cuales son complejos proteínicos apicales, laterales y basolaterales que se localizan en los espacios intercelulares del endotelio, así como del epitelio, dichos complejos están formados por diferentes proteínas; destacando las claudinas y ocludinas que generan una barrera usando a las ZO-1 como anclaje (1–3). Esta barrera a nivel del epitelio intestinal es responsable de la permeabilidad selectiva, que regula el paso de iones, nutrientes, toxinas y patógenos, esto por medio de su carga o tamaño; sin embargo, desempeñan otras funciones diferentes entre las que se encuentra el brindar resistencia mecánica a las células, así como su participación en el contacto de las mismas y en la señalización celular, entre otras, dicha variedad de funciones han implicado a las UE en diferentes patologías como cáncer, Parkinson, Alzheimer, albuminuria, infecciones por *Vibrio cholerae* y *salmonella* entre otras; en figura la 1 se ilustra la estructura de las UE (2,4–9).

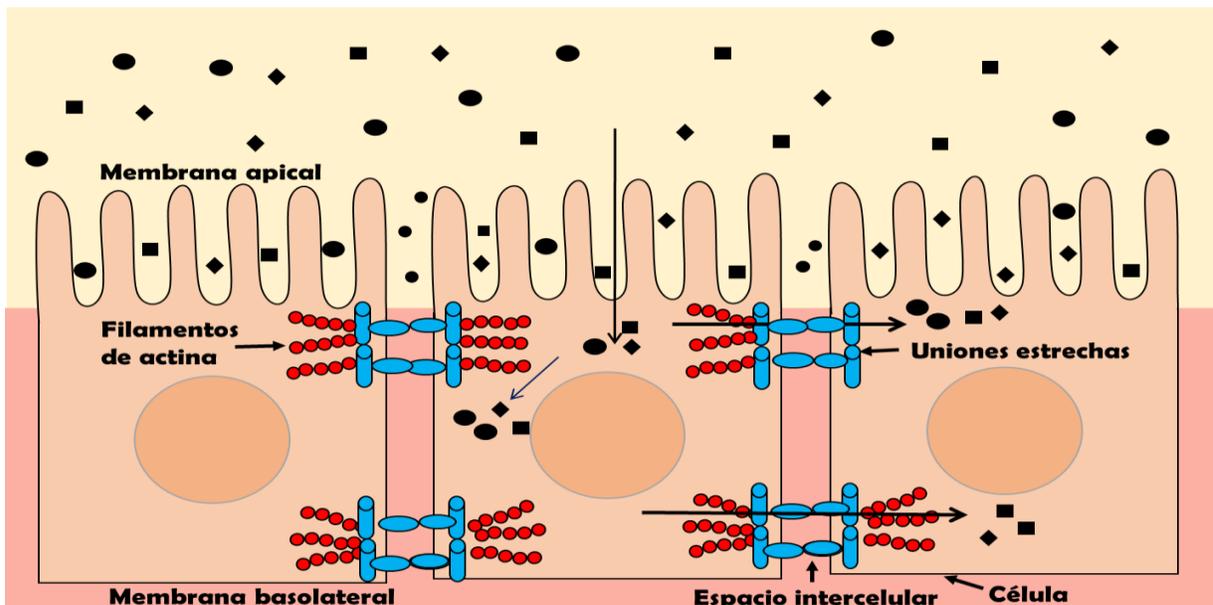


Figura 1. Uniones estrechas intercelulares y basolaterales en el epitelio intestinal.

Fuente: Elaboración propia.

Se ha propuesto que el cambio de aspartato (D) por alanina (A) ocasionado por el

polimorfismo rs2291166 del gen *TJP1*, genera un cambio estructural en las uniones estrechas afectando a las proteínas ZO-1, lo que a su vez también afecta la estructura de las claudinas y ocludinas, dando como resultado cambios en la permeabilidad de las UE (3); esto puede estar relacionado con cambios en la absorción de algunos iones y nutrientes, entre ellos colesterol y los triglicéridos, y por ello también podría estar asociado con las dislipidemias. Lo cual no ha sido estudiado en ninguna población, ni en estudios celulares *in vitro*.

Las dislipidemias son un grupo de trastornos metabólicos caracterizados por la alteración en la síntesis, degradación y composición de los lípidos (10). En México, la hipercolesterolemia es uno de los 10 principales factores de riesgo que contribuyen a la mortalidad en el país y junto con la hipertrigliceridemia son de las dislipidemias con mayor prevalencia con el 43.6% y 31.5% respectivamente (11). Aunado a esto, se reconoce a las dislipidemias como factores de riesgo para enfermedades cardiovasculares (ECV) (12), así como un punto importante en el control metabólico de enfermedades crónicas no transmisibles asociadas con la obesidad y diabetes mellitus tipo 2 (11).

Las ECV son de las principales causas de mortalidad a nivel mundial, de acuerdo con los datos de la Organización Mundial de la salud (OMS), así como a nivel nacional según el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) mostrado en la figura 2. La inactividad física, la obesidad, la diabetes mellitus tipo II y las dislipidemias son considerados como los principales factores de riesgo debido en gran medida a los cambios de estilos de vida y a la transición alimentaria que han sucedido tanto a nivel mundial como nacional (13).

En México, la prevalencia de dislipidemias varía por zona del país; la hipercolesterolemia se encuentra en áreas metropolitanas tanto del norte como del centro y es considerada como uno de los principales factores que incrementan la mortalidad (14). La hipertrigliceridemia fue más frecuente en áreas metropolitanas del centro del país, en donde curiosamente se encontró mayor prevalencia en los

individuos con atención médica provista por el Instituto de Seguridad Social y Servicios para Trabajadores del Estado (ISSSTE) (11).

Se ha reconocido, que las dislipidemias tienen un componente genético en la población mexicana ya que es más susceptible que otras poblaciones (11) y en interacción con los factores ambientales resulta la presencia de la dislipidemia; por este motivo se podría explicar la prevalencia de las mismas así como también que no todas las personas con alguna dislipidemia son obesas y que no todos los obesos tienen dislipidemia; además que la prevalencia es subestimada también puede ser explicado a causa de mutaciones o polimorfismos (11,15); así también es necesario mencionar que se han reportado variantes genéticas que han sido asociadas con la protección contra las dislipidemias, aunque son mínimas, como el polimorfismo del gen CAPN 10, el cual se ha asociado con las concentraciones mayores de colesterol de alta densidad (HDL) lo cual favorece concentraciones menores de colesterol de baja densidad (LDL) y otros lípidos que se depositan en las arterias y que pueden causar o estar fuertemente asociados tanto a enfermedades cardiovasculares como a las cerebrovasculares (16).

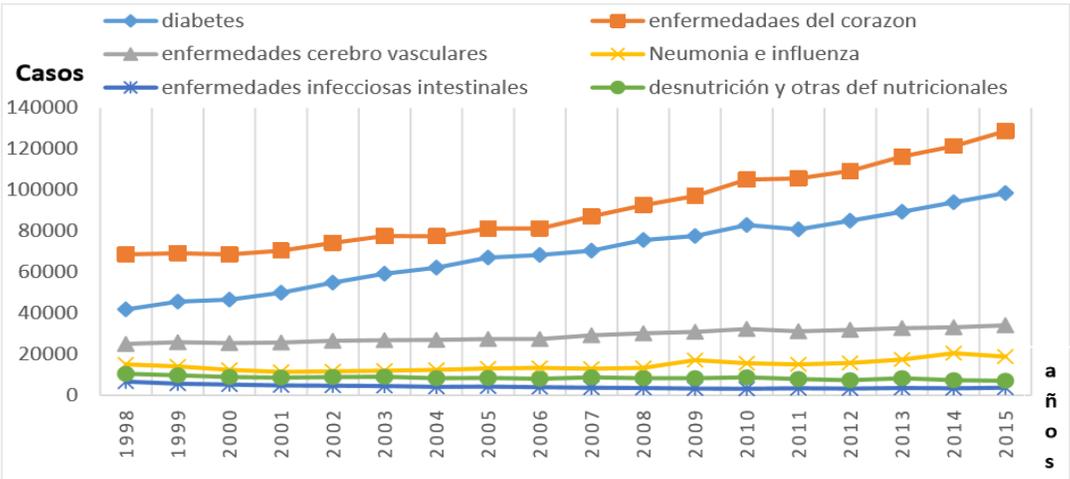


Figura 2. Principales causas de mortalidad en México de 1998-2015.

Fuente: Elaboración propia con base en datos del INEGI 2016.

Existen datos que indican que la prevalencia e incidencia de dislipidemias pueden estar subestimadas tal como se menciona anteriormente y esto es debido a que

muchas personas no han sido diagnosticadas, quizá por pensar que las dislipidemias necesariamente están precedidas por algún grado de obesidad; sin embargo, la presencia de obesidad no es necesaria para presentar alguna alteración en lípidos por su fuerte componente genético de susceptibilidad en la población mexicana (11,12).

Existen algunos estudios genéticos en la población mexicana, sin embargo, son limitados quizá debido a que existen muchos grupos étnicos y una gran diversidad; también es un hecho que la población mexicana tiene susceptibilidad genética a padecer dislipidemias que además son subestimadas como se menciona previamente, por lo que es necesario realizar más estudios que fortalezcan el conocimiento científico en esos aspectos. Debido a lo expuesto previamente el objetivo del trabajo es analizar la asociación entre los niveles séricos de triglicéridos y colesterol con el polimorfismo rs2291162 del gen *TJP1* en población mexicana de los estados de Oaxaca, Jalisco y Aguascalientes.

El presente trabajo se estructura iniciando con la introducción para dar paso al planteamiento del problema y justificación, posterior a esto se encuentra el marco teórico de todos los estudios, así como a la metodología usada durante la investigación y posteriormente están los resultados y discusiones, para finalizar están las conclusiones así como las referencias.