



Universidad de la Sierra Sur

División de Estudios de Posgrado Maestría en Salud Pública

Análisis del polimorfismo rs1345365, del gen *ELMO1* como factor de riesgo para diabetes mellitus tipo 2, mediante modelos de epidemiología genética en población de escasos recursos.

Para obtener el grado de:
Maestro en Salud Pública

Presenta

M.C. Jaime Leyva Santiago

Director de tesis

Dr. Sergio Alberto Ramírez García

Co-director de tesis

Dr. Pedro Durán Férman

**ANÁLISIS DEL POLIMORFISMO rs1345365, DEL GEN *ELMO1*
COMO FACTOR DE RIESGO PARA DIABETES MELLITUS TIPO 2,
MEDIANTE MODELOS DE EPIDEMIOLOGÍA GENÉTICA EN
POBLACIÓN DE ESCASOS RECURSOS**

Tesis realizada por Jaime Leyva Santiago, bajo la dirección del Comité Tutorial
indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el
grado de:

MAESTRO EN SALUD PÚBLICA

Comité tutorial

Director de tesis: **Dr. Sergio Alberto Ramírez García**

Co-director: **Dr. Pedro Durán Férman**

Asesor: **Dra. Claudia Chávez López**

**ANÁLISIS DEL POLIMORFISMO rs1345365, DEL GEN *ELMO1*
COMO FACTOR DE RIESGO PARA DIABETES MELLITUS TIPO 2,
MEDIANTE MODELOS DE EPIDEMIOLOGÍA GENÉTICA EN
POBLACIÓN DE ESCASOS RECURSOS.**

El jurado que revisó y aprobó el examen de grado de Jaime Leyva Santiago para la presente tesis de Maestría en Salud Pública, estuvo constituido por:

Jurado

Presidente: Dra. Claudia Chávez López.

Secretario: M.C. José Isaías Siliceo Murrieta

Vocal: Dr. Sergio Alberto Ramírez García.

Suplente 1: Dr. Pedro Durán Férman.

Suplente 2: Dr. Clemente Mosso González

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a dios y a mi familia, quienes siempre han tenido la paciencia y prudencia para motivarme también por apoyarme en la elaboración de este proyecto.

Tere, Ángel, Ángeles y Aline

A mi amiga que ha emprendido este proyecto de forma conjunta y ha tolerado mis momentos de flaqueza y me ha brindado su tiempo así como pertinencia para seguir avanzando.

Yazmin Felipe Cid

A quienes nos han guiado y alimentado en el sendero del conocimiento para alcanzar los objetivos como la meta propuesta.

A mis maestros y doctores

Especialmente a quien me ha legado una gran enseñanza y humildad en el quehacer de la docencia, siempre brillando su gran calidad humana.

Dr. Sergio A. Ramírez García

A quienes han demostrado respeto, admiración por mis aspiraciones académicas.

Madre, padre (QEPD) y hermanos

AGRADECIMIENTOS

Agradezco de manera respetuosa y sincera al Dr. Sergio Ramírez García, por su apoyo, guía y sobre todo paciencia en la realización de este trabajo, de igual manera agradezco por sus atenciones y consejos al Dr. Pedro Durán Férman

Por su colaboración en los estudios de biología molecular, agradezco de igual manera a la Dra. Luz Rosalba Topete González, Dra. Claudia Charles Niño y Dr. Manuel Mazariegos Rubí del Instituto de Genética Humana, Departamento de Biología Molecular y Genómica del Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara.

A la Universidad de la Sierra Sur, por el apoyo institucional para realizar este trabajo, y a mis maestros que me transmitieron no solo conocimientos; sino, experiencias de vida, en especial a la Dra. Claudia Chávez López quien tuvo la paciencia y el tiempo para responder a mis dudas.

Al Doctor Rubén Coronado por la gestión para la realización de esta maestría.

Y a todos aquellos a quienes de manera personal o institucional apoyaron en mi formación como salubrista, así como para la culminación de este trabajo de tesis.

A todos gracias.

JAIME LEYVA SANTIAGO

CONTENIDO

RESUMEN	X
SUMMARY	XI
CAPÍTULO 1. Introducción.....	1
CAPÍTULO 2. Planteamiento del Problema.....	17
CAPÍTULO 3. Justificación.....	20
CAPÍTULO 4. Hipótesis.....	24
CAPÍTULO 5.Objetivos	25
5.1. General.	25
5.2. Específicos.....	25
CAPÍTULO 6.Marco Teórico.....	26
6.1. Metabolismo de los hidratos de carbono.....	26
6.2. Disfunción de la célula beta pancreática.....	27
6.3. Resistencia a la insulina (RI).....	30
6.4. Relación entre la disfunción de las células beta y RI.	31
6.5. Papel del adipocito en la resistencia insulínica	32

6.6.	Mecanismos patogénicos de la diabetes; aspectos genéticos.....	37
6.7.	Genes asociados a nefropatía y con DM2.	38
6.8.	CED-12 y la Interacción de <i>ELMO1</i>	39
6.9.	<i>ELMO1</i> y génesis de tejido vascular.	39
6.10.	<i>ELMO1</i> relacionado a lesión glomerular	40
6.11.	<i>ELMO1</i> asociado a nefropatía diabética (ND).....	40
6.12.	El gen <i>ELMO1</i> en otros grupos poblacionales	41
6.13.	Genes asociados a DM2 y nefropatía en México-americanos.	42
6.14.	Estudios en población Mexicana con DM2.....	43
6.15.	Otros genes relacionados a la patogenia de DM2.	44
6.16.	Modelos utilizados en epidemiología genética.	48
6.17.	Modelos utilizados en epidemiología genética.	54
CAPÍTULO 7. Diseño Metodológico		55
7.1.	Grupo 1.Probandos diabéticos tipo 2	55
7.2.	Grupo 2. Probando sin diabetes mellitus tipo 2	56
7.3.	Análisis estadístico.....	57
CAPÍTULO 8.Resultados		58

CAPÍTULO 9. Discusión.....	64
CAPÍTULO 10. Conclusión.....	71
CAPÍTULO 11. Referencias Bibliográficas.....	74
ANEXOS	90
Anexo 1. Análisis del Índice de calidad dietético y caracterización	90
bioquímica.....	90
Anexo 2. Caracterización molecular.....	93

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Interrelación de los diferentes tipos de diabetes presente en familias con Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2). DIJM: Diabetes de inicio en el Joven Maduro; DM1: Diabetes mellitus tipo 1; DSTM: Diabetes con sordera transmitida por vía materna... 9	9
Figura 2. Genes asociados a la diabetes mellitus (DM2) en población mexicana..... 15	15
Figura 3. Perfil glucémico de 24 h. 27	27
Figura 4. Evolución natural de la diabetes mellitus tipo 2..... 28	28
Figura 5. Relación entre la resistencia insulínica y la disfunción de las células beta pancreáticas. Adaptado de International Diabetes Center (IDC), Minneapolis, Minnesota..... 32	32
Figura 6. Frecuencias de alélicas del SNP rs1345365 de <i>ELMO1</i> en casos controles sin diabetes comparados con casos con DM2. 59	59
Figura 7. Frecuencias de los genotipos del SNP rs1345365 de <i>ELMO1</i> 60	60
Figura 8. Prueba de la Albúmina ácida. 91	91
Figura 9. Precipitación con CPC. 93	93
Figura 10. PAGE 7%, TBE 0.5X, del PCR-PASA para el SNP rs1345365 de <i>ELMO1</i> 95	95

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Prevalencia de diabetes mellitus tipo 2 en diferentes poblaciones.....	6
Tabla II. Aspectos variables que hacen a la diabetes mellitus una enfermedad compleja.....	12
Tabla III. Prevalencia Mundial de la Diabetes	17
Tabla IV. Algunos genes candidatos asociados a diabetes mellitus tipo 2 asociados por los mecanismos en los que intervienen las proteínas que codifican.	20
Tabla V. Grupo control sin diabetes mellitus tipo 2.	58
Tabla VI. Grupo con Diabetes mellitus tipo 2	58
Tabla VII. Análisis de riesgo del polimorfismo rs1345365 del gen <i>ELMO1</i> en función del modelo de herencia.	61
Tabla VIII. Genotipos y alelos del polimorfismo rs1345365 en otras poblaciones.....	64
Tabla IX. Iniciadores diseñados para la PCR-PASA.	93

RESUMEN

Introducción. Las enfermedades multifactoriales crónicas del adulto (cáncer, cardiovasculares, enfermedades mentales, diabetes, obesidad y otras) representan la mayoría de la morbimortalidad en países industrializados y también inciden de forma significativa en la salud colectiva en América Latina. Estas enfermedades son de causalidad compleja, por interacción de factores ambientales y genes predisponentes que se están descubriendo a un ritmo rápido. El *locus* g.37190613 en 7p14.2-14.1 del gen *ELMO1* presenta un polimorfismo el cual consiste en un cambio G>A. Esta variante ha sido asociada a nefropatía diabética en diferentes poblaciones. En población Mexicana los estudios de asociación con genes candidato en diabetes mellitus tipo 2 son limitados. Objetivo. Por tal motivo en este estudio se estimó la asociación del polimorfismo G>A, del gen *ELMO1*, con el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) por modelos de regresión logística en epidemiología genética, realizando el análisis de modelos de herencia. Material y métodos. Se incluyeron 148 diabéticos tipo 2 (296 cromosomas) y 156 (312 cromosomas) sin diabetes, personas mestizos del noroccidente de México, a todos se les extrajo el ADN genómico por el método de desales. El polimorfismo se identificó por PCR-PASA y PAGE 7% teñida con nitrato de plata. Resultados. El modelo para-dominante muestra una asociación positiva ($p=0.0006$). El estudio muestra la asociación del polimorfismo G>A con *locus*g.37190613 en la población mestiza de Guadalajara, Jalisco.

Palabras clave.

Genes, Asociación, Polimorfismo, ELMO1, Diabetes Mellitus.

SUMMARY

Introduction. Adult chronic (cancer, cardiovascular disease, mental illness, diabetes, obesity, and others) complex diseases are most common of the morbidity and mortality causes in industrialized countries and also significantly impact on public health in Latin America. These diseases are complex causality, by the interaction of environmental factors and predisposing genes are being discovered at a rapid pace. The *locus* g.37190613 *ELMO1* 7p14.2-14.1 the gene has a polymorphism which is a change G> A. This variant has been associated with diabetic nephropathy in different populations. In Mexican population association studies with candidate genes in diabetes mellitus type 2 are limited. Objective. Therefore in this study the association of polymorphism G> A, the *ELMO1* gene was estimated with the development of diabetes mellitus type 2 (DM2) by logistic regression models in genetic epidemiology, performing the analysis of inheritance patterns. Material and methods. 148 (296 chromosome) and 156 (312 chromosome) type 2 diabetic patients without diabetes were included Mestizos people of northwestern Mexico, all were extracted genomic DNA by salting out the method. Polymorphism by PCR-PASA identified and 7% PAGE stained with silver nitrate. The association was established. Results. To-dominant model shows a positive association ($p = 0.0006$). The study shows the association of polymorphism G> A with *locus*g.37190613 in the Mestizos population of Guadalajara, Jalisco

Key words.

Genes, Association, Polymorphism, *ELMO1*, Diabetes Mellitus

ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado	Abreviatura	Significado
ABCA1	Proteína reguladora reflujó de colesterol	HPF	Horas para formar
ACE	Enzima protectora del sistema cardiovascular	HSPG2	Proteoglicanos heparán sulfato 2
ACRI	Autoanticuerpos contra el receptor de insulina	HYMAI	Mola Hidatidiforme asociado e impresa (no codificante de proteína)
ADN	Ácido desoxirribonucleico	IAA	Anticuerpos anti insulina
AGTR2	Receptor de angiotensina II tipo 2	ICA	Anticuerpos anticelulas beta
ALT	Alanina transaminasa	IGFBP1	Similar a la insulina factor de crecimiento de unión a la proteína 1 (IBP-1) también conocida como proteína placentaria 12
AKR1B1	Aldo-cetoreductasa familia 1	IGT	Intolerancia a la glucosa
AMPc	AMP cíclico	IGT	Intolerancia a la glucosa
AST	Aspartato aminotransferasa	IMC	Índice de masa corporal
APOC1	Apolipoproteina (seres humanos)	INRS1	Sustrato receptor de insulina
APOE	Apolipoproteina E	IPEX	Desregulación inmune, poliendocrinopatía, enteropatía, síndrome ligado al cromosoma x
BGLAP	Bone proteína gamma-carboxiglutamato (osteocalcina)	IPFI	Trans activador homeodominio del gen de la Insulina
CCR5	Receptor tipo 5 de quimiocina	KCNQ1	Gen que codifica una proteína para un canal de potasio

Abreviatura	Significado	Abreviatura	Significado
CD2	CD2 es un antígeno de superficie del linaje de linfocitos T humana que se expresa en todas las células T de sangre periférica	KCKNJ11	Gen del tipo once canal de potasio
CED-5	Dock180 es parte de una gran clase de proteínas (GEF) que contribuyen a los eventos de señalización celular mediante la activación de las proteínas G pequeñas	LADA	Diabetes autoinmune latente del adulto
CED-12	Este gen codifica una de las seis inmersión y la motilidad (ELMO) dominio que contienen proteína	LAMININA A/C	Componente principal de las láminas nucleares
CDKAL1	CDK5 subunidad reguladora asociada proteína-1	Locus	Es una posición fija en un cromosoma, localización del gen; región genética
CHN2	Beta-chimaerin es una proteína que en los humanos está codificada por el CHN2 gen	MGEA5	NCoat proteína bifuncional (meningioma expresa el antígeno 5 Hialuronidasa)
CGF2BP2	Similar a la insulina factor de crecimiento 2 de ARNm-proteína de unión 2	MICA	MHC de clase I secuencia de Polipéptido-relacionada (autoantígeno relacionado con el estrés)
CNDP1	Beta-Ala-His Dipeptidasa	mtDNA	DNA mitocondrial
CNV	Número de variación de copias (copy number variación)	MTNR1B	Receptor 1b de la melatonina
CPN10	Chaperonina 10	MUTYH	Gen que codifica una ADN glicosilasa
CPVL	Probable serina carboxipeptidasa	MODY	Diabetes Mellitus de inicio joven maduro

Abreviatura	Significado	Abreviatura	Significado
CRKII	Proto-Oncogen (adaptador de proteína)	NEUROD1	Diferenciación neurogénica 1
CTLA4	Citotóxica T, linfocito un antígeno 4 (Receptor de la proteína que regula a la baja el sistema inmune)	NOS3	Nítrico sintasa de óxido 3 (células endoteliales)
COLESTEROL-HDL	Lipoproteína de alta densidad	PAGE	Poliacrilamida gen electroforesis
DM2	Diabetes mellitus tipo2	PCR-PASA	Reacción en cadena de la polimerasa alelo específico
ND	Nefropatía diabética	PPARG	Receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR) es un miembro de la familia de receptores nucleares de factores de transcripción activados por ligando que heterodimerizan con el receptor X retinoico (RXR) para regularla expresión del gen
DOCKL 180	Proteína que contribuye a los eventos de señalización celular	R230C	El gen ABCA1 R230C variante se asocia con menor riesgo de enfermedad coronaria prematura
DT2	Trastornos de la diabetes Tipo 2	RI	Resistencia a la insulina
DR2	Serotipo antígeno preferentemente cubierta por HLA-DRS	SCARB1	Scavenger miembro de clase B del receptor 1
DPPIV	Dipetildipeptidasa IV	SCS	Ser silente clínicamente
DQB1	Proteína que se requiere para formar heterodímero	SLC12A3	Este gen codifica un cotransportador de sodio-cloruro de tiazida renal sensible a la que es importante para el

Abreviatura	Significado	Abreviatura	Significado
			electrolito la homeostasis
EAC	Enfermedad arterial coronaria	SLC30A8	Gen transportador de zinc
ECM	Matriz extra celular	WSF1	Gen asociado al síndrome de Wolfram
ELMO1	Inmersión y proteína motilidad celular 1	SM	Síndrome metabólico
ENSA	Encuesta nacional de salud	SNP	Polimorfismo de un nucleótido simple
ENPP1	Ectonucleotide pirofosfatasa / fosfodiesterasa 1	TCFL2	Factor de transcripción 2
EXT2	Exostosin-2 es una proteína que en los humanos está codificada por el EXT2 gen, Proto-Oncogen	TCFL2	Componente genético de la diabetes tipo 2
FTO	La masa grasa y la obesidad asociada a la proteína también conocida como alfa-cetoglutarato-dioxigenasa dependiente FTO	TERF2	Factor de unión a repeticiones teloméricas 2
FOXP3	Escrufina, proteína implicada en el sistema inmunológico	hIAPP	Proteína precursora beta amiloide
G>A	Guanina-adenosina	HHEX	Gen que interviene en el desarrollo de varios órganos, cerebro, hígado, tiroides, etc.
GAA	Glucemia anormal en ayuno	HMGA1	Gen regulador de la expresión del receptor de insulina
GADA	Descarboxilasa del ácido glutámico	HNF1	Activador transcripcional
Gly 972 Arg	Variante de gen humano IRS1 está asociado con la variación en	HNF1B	Gen susceptible al cáncer de

Abreviatura	Significado	Abreviatura	Significado
	la tasa de filtración glomerular probablemente a través de alteración de la señalización del receptor de insulina		ovario
GDZ	Gemelos dicigotos	HNFB	Drosophila subfamilia de los receptores nucleares
GMZ	Gemelos monocigotos	HPSE	Gen que codifica para el sitio activo de Heparanasa
GIP	Polipéptido inhibidor gástrico	TEP1	Telomerasa componente de proteína 1
GLP	Péptido-1 similar al glucagón	TGFB1	Factor de crecimiento transformante beta 1
GLUT2	Transportadora de glucosa	TNFA	Factor de necrosis tumoral alfa
GREM1	Este gen codifica un miembro de la familia antagonista de BMP (proteína morfogenética ósea)	TNKS	Tankyrase. Enzima que en los humanos esta codificado tnks gen
Heparanasa	Enzima que metaboliza al heparán sulfato y el desarrollo de Insuficiencia Renal en pacientes con DM2	UNC13B	Este gen se expresa en las células epiteliales corticales renales y es pre regulado por la hiperglucemia
HLA	Histocompatibilidad	VEGFA	Factor de crecimiento vascular endotelial A