

Identificación de la variante polimórfica rs9939609 del gen *FTO* en población duranguense

Identification of the polymorphic variant rs9939609 of the FTO gene in duranguense population

Graciela Zambrano-Galván , Cynthia Rosales Ronquillo ,
Yessica Hernández Cosían, Abelardo Camacho Luis , Cynthia Paola López Murillo ,
Doris Rincones Monarrez , Brenda Mariel Cháirez Ávila

Facultad de Medicina y Nutrición. Universidad Juárez del Estado de Durango. Mexico

Corresponding author

Dra. Graciela Zambrano- Galván
E-mail: gzambrano@ujed.mx

Received: 5 - IX - 2023

Accepted: 30 - IX - 2023

doi: 10.3306/AJHS.2024.39.01.84

Resumen

Introducción: Los conocimientos derivados de la variabilidad genética permitirán proporcionar las herramientas para entender y controlar la epidemia mundial de enfermedades crónicas específicas, particularmente del sobrepeso, la obesidad, la enfermedad cardiovascular, la diabetes y las enfermedades neurodegenerativas.

Objetivo: Identificar y establecer la frecuencia del polimorfismo rs9939609 del gen *FTO* en población.

Materiales y métodos: Estudio de tipo descriptivo, donde se incluirán hombres y mujeres de la ciudad del Durango mayor de 18 años, nacidos en la ciudad de Durango, mujeres no embarazadas o lactando, tener transfusión sanguínea. Una vez obtenido el consentimiento firmado, se tomará una muestra de sangre capilar del dedo índice para el análisis de las variantes polimórficas que se realizaron por PCR punto final y PCR-HRM. El paquete informático que se ha utilizado para el análisis fue el SPSS para Windows Versión 15.0.

Resultados: Se encontró una frecuencia del genotipo A/A 3.08%, el 31.38% corresponde a T/A y el 64.82% para T/T (EHW $X^2=1.78$; $p<0.05$).

Conclusión: Se pudo establecer la identificación y frecuencia del polimorfismo rs9939609 del gen *FTO* en población duranguense, abriendo una pauta para el estudio de esta variante polimórfica y su relación con el desarrollo de enfermedades metabólicas.

Palabras clave: Variabilidad genética, enfermedad crónica, sobrepeso, obesidad, diabetes.

Abstract

Introduction: Knowledge derived from genetic variability will provide the tools to understand and control the global epidemic of specific chronic diseases, particularly overweight, obesity, cardiovascular disease, diabetes and neurodegenerative diseases.

Objective: To identify and establish the frequency of the rs9939609 polymorphism of the *FTO* gene in population.

Materials and methods: Descriptive study, which will include men and women of the city of Durango over 18 years old, born in the city of Durango, women not pregnant or breastfeeding, having blood transfusion. Once the signed consent was obtained, a capillary blood sample will be taken from the index finger for the analysis of polymorphic variants that were performed by endpoint PCR and PCR-HRM. The computer package used for the analysis was SPSS for Windows Version 15.0.

Results: A frequency of genotype A/A 3.08% was found, 31.38% corresponded to T/A and 64.82% to T/T (EHW $X^2=1.78$; $p<0.05$).

Conclusion: Through the present study it was possible to establish the identification and frequency of the rs9939609 polymorphism of the *FTO* gene in the population of Durango, opening a guideline for the study of this polymorphic variant and its relationship with the development of metabolic diseases.

Key words: Genetic variability, chronic disease, overweight, obesity, diabetes.

Cite as: Zambrano-Galván G, Rosales Ronquillo C, Hernández Cosían Y, Camacho Luis A, López Murillo CP, Rincones Monarrez D, et al. Identificación de la variante polimórfica rs9939609 del gen *FTO* en población duranguense. *Academic Journal of Health Sciences* 2024; 39 (1):84-88 doi: 10.3306/AJHS.2024.39.01.84

Introducción

En los últimos años, los estudios de asociación de genoma completo, conocidos como GWAs (por sus siglas en inglés), han permitido identificar muchos genes asociados enfermedades crónicas específicas, particularmente la obesidad, el cáncer, la enfermedad cardiovascular, la diabetes y las enfermedades neurodegenerativas, entre otras¹. En este sentido, varios SNP (por sus siglas en inglés "single nucleotide polymorphisms") se han asociado con enfermedades crónicas comunes a través de interacciones con las ingestas de macro y micronutrientes, o con el consumo de determinados alimentos y patrones dietético. Por lo tanto, también se ha informado que las interacciones SNP-dieta están involucradas en las respuestas diferenciales a las intervenciones nutricionales destinadas a restringir el total de calorías ingesta o modificación de energía derivada de grasas, proteínas o carbohidratos. En ese sentido, los estudios realizados en una variedad de poblaciones han investigado los efectos de varias SNP sobre pérdida de peso, recuperación de peso y mejoras metabólicas relacionadas con los lípidos séricos niveles y resistencia a la insulina². Estas investigaciones incluyen polimorfismos en o cerca de genes implicados en la regulación de la ingesta de alimentos, metabolismo de lípidos y lipoproteínas, insulina señalización, homeostasis de glucosa, respuesta inflamatoria, metabolismo de aminoácidos y circadiano ciclo³.

El gen *FTO* se encuentra en el cromosoma 16 (16q12.2) y codifica la enzima dioxigenasa dependiente de alfa-cetoglutarato. El gen asociado a la masa grasa y la obesidad (*FTO*, por sus siglas en inglés) es un ejemplo probable de un gen regulador "interruptor maestro" que influye en el control epigenético sobre una serie de vías reguladoras clave en la regulación de la obesidad. Se ha correlacionado con el síndrome metabólico y el riesgo de diabetes⁴. Se ha estimado que la prevalencia de este polimorfismo es de 23% en americanos de ascendencia Mexicana. Estudios recientes indican que los individuos portadores del genotipo de riesgo AA del polimorfismo rs9939609 del gen *FTO* tenían niveles de leptina sérica significativamente más altos y niveles séricos de HDL-c más bajos en comparación con aquellos con genotipo TT; además se asoció el genotipo de riesgo AA con niveles más altos de leptina y niveles más bajos de HDL-c; por lo que es plausible que el alelo de riesgo *FTO* pueda aumentar el nivel de leptina sérica aumentando el índice de masa corporal (IMC)⁵. Otro estudio reciente en Mexicanos indico que los sujetos con al menos una copia del alelo de riesgo A del SNP rs9939609 de dicho gen tenían una mayor ingesta de alimentos que aquellos con dos copias del alelo de tipo salvaje (TT); por lo que hasta el momento es un SNP más fuertemente asociado con un aumento de IMC^{6,7}.

Material y métodos

Previa aceptación por parte del comité de investigación de investigación de la Facultad de Medicina y Nutrición de la UJED con No. Reg. 024, se realizó un estudio descriptivo en el cual se incluyeron a 396 participantes. Dentro de los criterios de inclusión que cumplieron fue que sean hombres y mujeres mayores de 18 años nacidos en la ciudad de Durango, que aceptaran participar de manera voluntaria y firma de la carta de consentimiento informado. Dentro de los criterios de exclusión estuvieron estar embarazadas o lactando, haber recibido transfusión sanguínea. Posteriormente se invitó a una plática informativa acerca de las bondades y características del trabajo de investigación.

Procedimientos

Toma de Muestra Sanguínea

Se procedió a la toma de muestra sanguínea para el polimorfismo genético, en donde se obtuvieron 10 µl de sangre capilar del dedo anular que se colectó en tubos foliados que contenían 100 µl de NaOH para someter la muestra a lisis alcalina, para ello las muestras fueron incubadas a una temperatura de 37°C antes de su análisis acuerdo a la técnica establecida por Muñoz-Hernández et al⁸.

Análisis de polimorfismos genéticos

El análisis de los polimorfismo se realizó en tres pasos por la amplificación del sitio polimórfico por PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa, Polymerase Chain Reaction por sus siglas en inglés). Acto seguido, por el análisis de fusión de los productos de amplificación. A continuación, se describe este: primero se realizó una amplificación por PCR convencional de punto final utilizando GoTaq Master Mix (Promega Inc. 29 Madison, WI) con el objetivo de obtener cantidades semejantes de productos de amplificación de cada una de las muestras.

La primera reacción de amplificación PCR punto final fue: Go Taq Master Mix 15 µl, agua 5.7 µl, iniciador sentido 0.3 µl, iniciador antisentido 0.3 µl y lisado sanguíneo 1.2 µl.

La segunda reacción de amplificación para cada muestra (15 µl) fue preparada de la siguiente manera: Go Tag Master Mix 7.5 µl, agua 3.75 µl, iniciador sentido 0.35 µl, iniciador antisentido 0.35 µl y 0.75 µl del templado obtenido en la primera amplificación.

Luego se realizó el análisis de alta resolución de fusión (HRM por sus siglas en inglés high resolution melting), el cual se basa en la caracterización de los productos de PCR de acuerdo al comportamiento de disociación de las cadenas de ADN, ya que el método HRM es sensible incluso a un simple cambio de base, la temperatura de disociación se requiere para determinar inicialmente el punto de fusión para cada nuevo producto PCR- HRM, abarcando una gama de temperaturas de 55°C a 95°C, cubriendo todos los puntos de fusión de acuerdo al tipo de cambio de base.

Para ambas amplificaciones se utilizaron los siguientes iniciadores: sentido: GCT GGT TAT TCC TGA CCT ACT G, antisentido: GCC CAA GGA TGG TGT TTC TA diseñados en el programa Primer Quest Dising Tool de la compañía Integrated DNA Techonologies, utilizando las condiciones de amplificación anteriormente mencionadas.

Para el análisis de las curvas de fundido se utilizó un Termociclador Eco (Illumina San Diego, Ca.) con canal para HRM. Como estándares se utilizaron muestras procesadas por reacción en cadena de la polimerasa del polimorfismo de la longitud de fragmentos de restricción correspondiente para rs9939609 (T/T) del gen *FTO*.

Consideraciones éticas

Previa explicación del proyecto a los participantes seleccionados, acerca de sus beneficios, costos, riesgos y confidencialidad, se solicitó el consentimiento informado de acuerdo al Reglamento de la ley General de Salud de México, en materia de Investigación para la salud en su Título II, capítulo I, fracción II y a la declaración de Helsinki y salud pública vigente. Según el reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación capítulo I, referente a los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos en el artículo 17 dicho estudio se clasifica como investigación con riesgo mínimo.

El capítulo II "La investigación que implique construcción y manejo de ácidos nucleicos recombinantes se trabajara en el marco de los artículos 86 y 87". En el presente estudio, se cumplió con la confidencialidad de los datos obtenidos del material genético, que se sustentan a partir del artículo 103bis, en materia de salubridad general del genoma humano.

Análisis estadístico

Las frecuencias de los polimorfismos en estudio se determinaron por conteo directo, luego se realizó el análisis de genotipos a través del equilibrio Hardy-Weinberg por la prueba de X^2 . El paquete informático que se utilizara para el análisis es el SPSS para Windows Versión 15.0.

Resultados

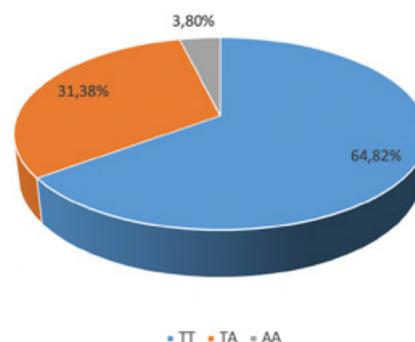
De la muestra total el mayor porcentaje corresponde al sexo masculino 49.6%, mientras que las mujeres representaron el 49.4% con una edad media de los participantes de 43.91 ± 8.67 años.

La distribución de los genotipos para esta población está representada de la siguiente forma: El 3.08% de la muestra presentan el homocigoto mutado A/A, el 31.38% corresponde a heterocigotos T/A y el 64.82% corresponde al homocigoto salvaje T/T (**Figura 1**). De acuerdo a lo que se muestra en las **figuras 2 y 3** de acuerdo a la distribución de los genotipos por sexo, se encontró que el sexo el homocigoto salvaje lo representa

en mayor porcentaje el sexo femenino 65.14%, el heterocigoto se observó con mayor frecuencia en el sexo masculino 31.44%, el homocigoto mutado aumenta su frecuencia en el sexo femenino observándose una diferencia de un 3.81% con respecto al masculino.

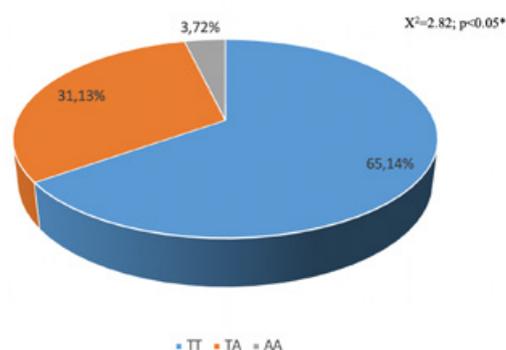
En cuanto a los alelos obtuvimos un 80.50% para T y un 19.49% para el alelo A, estas frecuencias alélicas no muestran diferencia en esta población de estudio por lo que se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg ($X^2=1.78$, $p>0.05$). Además también se encontró que no hay una correlación estadísticamente significativa entre la presencia del polimorfismo y el sexo ($X^2=0.848$, $p=0.654$).

Figura 1: Distribución de las frecuencias genotípicas en la población en estudio.



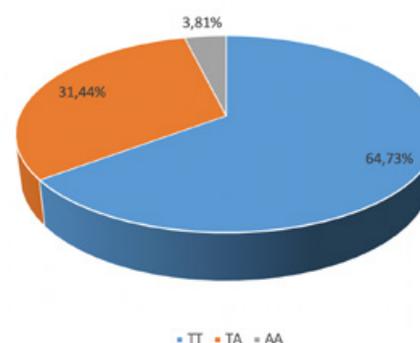
*Prueba del Equilibrio de Hardy-Weinberg

Figura 2: Distribución de las frecuencias genotípicas en mujeres de la población en estudio.



*Prueba del Equilibrio de Hardy-Weinberg.

Figura 3: Distribución de las frecuencias genotípicas en hombres de la población en estudio.



*Prueba del Equilibrio de Hardy-Weinberg.

Discusión

En los recientes años la investigación a nivel molecular ha tomado un rol de importancia no solo clínica sino también para la salud pública; por el incremento de la prevalencia de afecciones no transmisibles como lo son los trastornos cardiometabólicos.

Es por este motivo que el objetivo del presente fue identificar y establecer la frecuencia del polimorfismo rs9939609 del gen *FTO* en población Duranguense. Al respecto se establece que la población duranguense se encuentra una alta frecuencia del polimorfismo homocigoto silvestre TT, lo cual concuerda con lo reportado en poblaciones americanas en el Proyecto 1000 Genomas (referencia) y menor en poblaciones europeas. Así mismo en un estudio que incluyó muestras de personas con y sin diabetes tipo 2 realizado en población guerrerense encontraron frecuencias similares a las de este estudio⁹.

En el estado de Durango se ha establecido la multicausalidad que afectan la tasa de mortalidad en el estado, ya que las enfermedades de tipo metabólicas comparten factores de riesgo entre los que destacan el sobre peso y la obesidad, así como el tabaquismo, el colesterol elevado, la hipertensión arterial y la predisposición genética. Es por este motivo que es indispensable continuar fortaleciendo el primer nivel de atención, específicamente las acciones de prevención y promoción de los programas de salud orientados a reducir estos factores, así como modificar patrones alimenticios y a favorecer una vida saludable por medio de la actividad física y otras prácticas saludables¹⁰.

En este sentido, un estudio nutrigenético realizado en la Universidad Nacional de La Plata en Argentina del que participaron 173 voluntarios se estableció que la frecuencia del alelo A fue de 0.27, además se estableció una de las contribuciones de la presencia del polimorfismo y la ingesta alimentaria comparando la ingesta de nutrientes y grupos de alimentos entre portadores y no portadores del alelo de riesgo A, encontrando que aquellos portadores del alelo A tienen una mayor ingesta de proteínas y de ácidos grasos saturados, y a su vez, se observó una tendencia no significativa a un mayor consumo de grasas totales y a un menor consumo de carbohidratos y azúcares en comparación con los individuos TT¹¹. En conclusión, los resultados obtenidos de este estudio sugieren que se podría identificar un patrón de consumo de alimentos y nutrientes característico para cada genotipo, y estos hallazgos podrían ser utilizados como una nueva herramienta para mejorar la adherencia a las intervenciones nutricionales para la pérdida de peso.

Otro estudio realizado en población chilena estableció una alta prevalencia del alelo A (29.9%). Además demostraron la asociación entre el gen *FTO* con otros marcadores de adiposidad¹², considerando estos hallazgos como una oportunidad para la implementación de intervenciones personalizadas basadas en el genotipo *FTO* de la población, como ha sido demostrado por el estudio *Food4Me*¹³.

Una limitación del estudio que realizamos es que únicamente se estableció la frecuencia del polimorfismo rs9939609 y no de alguna de sus otras regiones intrónicas. Sin embargo los resultados obtenidos permiten establecer la distribución de la variabilidad genética del gen *FTO* en población duranguense, abriendo así la posibilidad del desarrollo de nuevas investigaciones que incluyan variables de riesgo metabólico y nutrigenético.

Conclusión

A través del presente se pudo establecer la identificación y frecuencia del polimorfismo rs9939609 del gen *FTO* en población duranguense, abriendo una pauta para el estudio de esta variante polimórfica y su relación con el desarrollo de enfermedades metabólicas.

Agradecimiento

Agradecemos al Consejo Estatal de Ciencia y Tecnología del Estado de Durango por el financiamiento recibido para el desarrollo de este proyecto con folio# 697 de la convocatoria Convocatoria para Proyectos de Investigación Científica Aplicada "Mujeres en la Ciencia, Tecnologías, Ingeniería y Matemáticas" en Durango.

Conflicto de interés

"Los autores declaran que no tienen conflicto de interés"

Bibliografía

1. Beck T, Rowlands T, Shorter T, Brookes AJ. GWAS Central: an expanding resource for finding and visualising genotype and phenotype data from genome-wide association studies. *Nucleic Acids Res.* 2023 Jan 6;51(D1):D986-D993. doi: 10.1093/nar/gkac1017.
2. Voruganti VS. Precision Nutrition: Recent Advances in Obesity. *Physiology (Bethesda).* 2023 Jan 1;38(1):0. doi: 10.1152/physiol.00014.2022.
3. Ramos-Lopez O, Milagro FI, Allayee H, Chmurzynska A, Choi MS, Curi R, et al. Guide for Current Nutrigenetic, Nutrigenomic, and Nutriepigenetic Approaches for Precision Nutrition Involving the Prevention and Management of Chronic Diseases Associated with Obesity. *J Nutrigenet Nutrigenomics.* 2017; 10(1-2):43-62. doi: 10.1159/000477729.
4. Mizuno TM. Fat Mass and Obesity Associated (FTO) Gene and Hepatic Glucose and Lipid Metabolism. *Nutrients.* 2018 Nov 1;10(11):1600. doi: 10.3390/nu10111600.
5. Mehrdad M, Doaei S, Gholamalizadeh M, Fardaei M, Fararouei M, Eftekhari MH. Association of *FTO* rs9939609 polymorphism with serum leptin, insulin, adiponectin, and lipid profile in overweight adults. *Adipocyte.* 2020; 9(1):51-56. doi: 10.1080/21623945.2020.1722550
6. Zhou Y, Hambly BD, McLachlan CS. *FTO* associations with obesity and telomere length. *J Biomed Sci.* 2017; 1;24(1):65. doi: 10.1186/s12929-017-0372-6.
7. Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, Lindgren CM, et al. A common variant in the *FTO* gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science.* 2007;316:889-894. doi: 10.1126/science.1141634.
8. Muñoz-Hernández, M.J., Burciaga-Nava, J. A., Cuevas-González, J. C., & Zambrano-Galván G. Correlación de polimorfismos del gen COL1A2 con fluorosis dental en niños mexicanos. *Acta Universitaria* 2017; 27(1):83-87.
9. Francisco-Aguilar DG, García-Pérez LV, Flores-Alfaro E, Cahua-Pablo JA. Asociación del polimorfismo rs9939609 en el gen *FTO* con la diabetes tipo 2 en población guerrerense. *Fesgro* 2023;7(1):981-6.
10. Diagnóstico de Salud 2022 Evaluación del Desempeño. Gobierno del Estado de Durango. <https://salud.durango.gob.mx/wp-content/uploads/sites/8/2022/04/Diagn%C3%B3stico-de-Salud-2022.pdf>
11. Olmedo, Luciana. *Interacción entre el polimorfismo rs9939609 (T/A) del gen FTO y el patrón de consumo de alimentos y nutrientes y el comer emocional y su asociación con fenotipos relacionados a obesidad.* Diss. Universidad Nacional de La Plata, 2023.
12. Petermann F, Villagrán M, Troncoso C, Mardones L, Leiva AM, Martínez MA, et al. Asociación entre el polimorfismo rs9939609 del gen *FTO* y marcadores de adiposidad en población adulta chilena [Association between *FTO* (rs9939609) genotype and adiposity markers in Chilean adults]. *Rev Med Chil.* 2018 Jun;146(6):717-726. Spanish. doi: 10.4067/s0034-98872018000600717
13. Fallaize R, Livingstone KM, Celis-Morales C, Macready AL, San-Cristobal R, Navas-Carretero S, et al. Association between Diet-Quality Scores, Adiposity, Total Cholesterol and Markers of Nutritional Status in European Adults: Findings from the Food4Me Study. *Nutrients.* 2018 Jan 6;10(1):49. doi: 10.3390/nu10010049.