



**DIVISIÓN CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**  
**POSGRADO EN BIOLOGÍA EXPERIMENTAL**

**“Variantes en el número de copias (CNVs) y su asociación con  
entidades metabólicas en población amerindia mexicana”**

**T E S I S**

**Que para obtener el grado en maestra en Biología Experimental**

**P R E S E N T A**

**Q. F. B. Diana Cristina Moreno Entzin**

**Matrícula: 2183801525**

**C O M I T É T U T O R A L**

**Codirectora interna: Dra. Alda Rocío Ortiz Muñiz**

**Codirectora externa: Dra. Angélica G. Martínez Hernández**

**Asesor: Dr. Federico Centeno Cruz**

**Iztapalapa, Ciudad de México, abril 2021.**

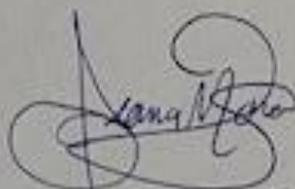
## CARTA DE CONFIDENCIALIDAD

Ciudad de México a 19 de abril de 2020

Comisión académica del posgrado en biología experimental  
Presente

La que suscribe Diana Cristina Moreno Entzin alumna con el número de matrícula 2183801525, de la Maestría en Biología Experimental de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAM-I), manifiesto mi compromiso de mantener en confidencialidad y de no utilizar, divulgar o difundir por algún medio, en beneficio propio o de terceros, de la información, documentación y datos de toda índole a los que tenga acceso y reciba con motivo al proyecto de investigación **Variantes en el Número de Copias (CNVs) y su asociación con entidades metabólicas en población amerindia mexicana** a desarrollar en la Universidad Autónoma Metropolitana, lo anterior en términos del artículo 6 fracción V, de los Lineamientos para el Acceso a la Información de la Universidad Autónoma Metropolitana. Esta obligación subsistirá incluso después de haber obtenido el grado. Asimismo, reconozco toda la información o dato obtenido dentro del proyecto que se desarrolle pertenece a la Universidad Autónoma Metropolitana.

En caso de que contravenga este compromiso, la Universidad se reserva el derecho de ejercer las acciones civiles y penales que procedan y en consecuencia, asumo cualquier responsabilidad por el manejo indebido o sin previa autorización expresa de la UAM-I de la referida información o resultados, así como los eventuales perjuicios que pudiesen ocasionarse a esta Casa de Estudios.



Diana Cristina Moreno Entzin

Nombre y firma completo

## Declaración de originalidad

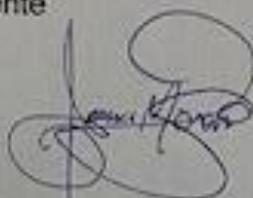
La que suscribe Diana Cristina Moreno Entzin, alumna en el Posgrado de Biología Experimental, de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa y autor de la tesis titulada: "**Variantes en el número de copias (CNVs) y su asociación con entidades metabólicas en población amerindia mexicana**".

Declaro que:

1. La tesis o idónea comunicación de resultados que presento ante el honorable jurado para la obtención del grado de Maestra, es de mi autoría y original creación, producto del resultado de mi trabajo en investigación personal e individual; el cual cuenta con las correspondientes citas textuales de material bibliográfico utilizado y con el debido otorgamiento de los créditos autorales.
2. En la tesis o idónea comunicación de resultados no he producido párrafos completos; ilustraciones, fotografías, diagramas, cuadros y tablas, sin otorgamiento del crédito autoral y fuente correspondiente.
3. En consecuencia, revelo de toda responsabilidad a la Universidad Autónoma Metropolitana de cualquier demanda o reclamación que llegara a formular alguna persona física o moral que se considere con derecho sobre la tesis o idónea comunicación de resultados, respondiendo por mi autoría y originalidad de la misma, asumiendo todas las consecuencias económicas y jurídicas si ésta no fuese mi creación.

La presente declaración de originalidad se firma en la Ciudad de México el 19 de abril de 2021

Atentamente



Diana Cristina Moreno Entzin

“El Programa de Maestría en Biología Experimental de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACYT, registro 001482, en el Nivel Consolidado, y cuenta con apoyo del mismo Consejo, clave DAFCYT-2003IDPTNNN0020”

Número de registro de la beca otorgada por CONACYT: 889444

El jurado designado por la Comisión Académica del Posgrado en Biología Experimental de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad

Autónoma Metropolitana aprobó la Tesis titulada:

**“Variantes en el número de copias (CNVs) y su asociación con entidades metabólicas en población amerindia mexicana”**

Que presentó

**Q.F.B. Diana Cristina Moreno Entzin**

El día 19 de abril del año 2021

**Jurado:**

**1. Dr. Héctor Fernando Serrano**



**2. Dr. Federico Centeno Cruz**



**3. Dr. Humberto García Ortiz**



**4. Dra. Elsa Cervantes Ríos**



## **Comité tutorial**

### **Codirectora interna:**

Dra. Alda Rocío Ortiz Muñiz.

Profesor Investigador Titular "C" de tiempo completo.

Departamento: Ciencias de la Salud (CBS).

Adscripción: Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa.

Email: arom@xanum.uam.mx

### **Codirectora externa:**

Dra. Angélica G. Martínez Hernández.

Investigador en Ciencias Médicas C.

Adscripción: Instituto Nacional de Medicina Genómica.

Email: amartinez@inmegen.gob.mx

### **Asesor:**

Dr. Federico Centeno Cruz

Investigador en Ciencias Médicas C

Adscripción: Instituto Nacional de Medicina Genómica.

Email: fcenteno@inmegen.gob.mx

## Agradecimientos

Primeramente, agradezco al **Posgrado en Biología Experimental**, por darme la oportunidad de continuar mis estudios en una de las mejores universidades del país. Además, al **CONAcYT** por la beca otorgada durante mi estadía.

Gracias a la **Dra. Angélica Martínez**, por su apoyo incondicional desde la licenciatura. Le agradezco mucho la oportunidad de unirme a su equipo, su paciencia y su retroalimentación en todos los aspectos.

A la **Dra. Alda Ortíz**, por el tiempo que me dedicó como docente y como parte de éste comité, su calidez de persona me ayudó a confrontar los retos de la maestría.

Al **Dr. Federico Centeno**, le agradezco sus valiosos comentarios y enseñanzas tanto en el laboratorio como parte de este jurado.

Al **Dr. Humberto García**, le agradezco los comentarios hechos en este trabajo, me han servido mucho para mejorarlo. A su vez, le agradezco su motivación e inspiración en el laboratorio.

Le agradezco a la **Dra. Elsa Cervantes**, por su participación en este estudio y la amabilidad otorgada todo el tiempo.

Al **Dr. Héctor Serrano**, por apoyo durante la maestría; asimismo, por el tiempo dedicado a retroalimentar este trabajo.

Agradezco, especialmente a la **Dra. Lorena Orozco**, por brindarme la oportunidad de ser parte de su equipo de investigación; además, de ser una mujer digna de admirar.

A los **investigadores** y **estudiantes** del laboratorio de inmunogenómica y enfermedades metabólicas, ya que, durante estos dos años, aprendí mucho de cada uno de ellos. Especialmente al **Maestro Miguel Cid**, quien me enseñó los principios básicos de programación con mucha paciencia. A mis amigos del laboratorio: **Elahe, Fabi, Julieta, David, Karla, Jacqueline, Lupita** y **Eira**. También les agradezco a la **Maye** y **Jenny** del laboratorio de Laboratorio de Genómica de Enfermedades Óseas, quienes me ayudaron y enseñaron los principios básicos de las técnicas empleadas en este estudio.

A **Dios**, por toda la fuerza en estos años, la familia que me ha brindado y siempre elegir el camino correcto para mí.

Agradezco a mi **mamá Irene**, por ser la mujer que más admiro, todo su amor y apoyo en todas las etapas de mi vida. A mis abuelos **Leonado** y **Candy**, por todo su cariño incondicional y mi formación personal. A su vez, les agradezco a mis tíos, **Leonardo, Toñita, Bety** y **Luis**, cada uno de ustedes siempre ha brindado apoyo

en todo este trayecto y hemos estado unidos en todo momento. A **Simona**, por ser quien me ha otorgado mucha alegría, inspiración y sobre todo la mejor compañía cuando la necesité.

Le agradezco especialmente a la Dra. **Ana Cañas**, por ser mi mamá de la ciencia, su formación académica desde mis 18 años y todos los consejos personales. Su guía ha sido esencial en el camino que he elegido y no tengo palabras suficientes para agradecerle. También les agradezco a **Renata, Sofía y Dani**, por todo su cariño a lo largo de estos años.

A la familia que hice durante el posgrado, quienes me ayudaron y brindaron confianza desde el primer día. Les agradezco a mis amigos y colegas: **Mario, Lis, Pepe, Isa, Ara, Carlo, Zuly, Oscar e Itzel**.

A mis amigos de la licenciatura **Vanessa y Tomás**, estoy agradecida con Dios por tenerlos en mi camino, su sincera amistad y tener una meta juntos.

A **Moisés, Josué y Migue**, mis amigos desde la preparatoria, quienes, a pesar de la distancia, siempre hemos estado muy cerca el uno del otro.

A **David**, mi compañero de laboratorio y amigo personal, le agradezco todo el apoyo y la amistad brindada en tan corto tiempo. También, a **Roman**, por su amistad y motivación.

A mis amigos **Ale, Martha, Gaby y Paco**, quienes siempre están ahí de una y otra forma apoyándome.

Por último, quiero agradecer a mis pequeños amigos **Leito, Sofi y Bety**. Ellos son quienes me han motivado e inspirado más, espero que algún día yo pueda motivarlos de igual manera.

## Resumen

Las entidades metabólicas (EM), son aquellas que afectan directamente el metabolismo. Tanto la obesidad (OB), como la hipertensión (HTA) son graves problemas de salud pública, ya que, en México, la OB tiene una prevalencia de mayor al 34% y de HTA del 44.9%. La etiología de ambas enfermedades es multifactorial, sin embargo, el factor genético tiene un gran peso para el desarrollo de EM. Dentro del genoma humano tenemos variaciones, estas pueden ser de un solo nucleótido (SNVs) o variantes en el número de copias (CNVs). Las CNVs son segmentos de  $\geq 50$ pb, se presentan tanto como ganancias o como pérdidas, están presentes en todas las personas, no obstante, se ha evidenciado que algunas están asociadas al riesgo o protección a padecer OB e HTA. En este trabajo se buscó identificar a CNVs (esv3586400 (región que abarca al gen *NEGR1*), esv27061 (región que contiene a los genes *LRP8*, *CAPZA1*, *CTTNBP2NL*, *DKFZp547A023*, *MOV10*, *RHOC*, *ST7L*, *WNT2B*, *SnoU13*, *MIR4256*) y esv2758781 (región que abarca a los genes *AL050403.2*, *AL158042.1*, *C20orf187*)) en amerindios mexicanos y establecer su asociación al riesgo/protección de desarrollar OB o HTA. Se encontró que 99.01% (n=200) de los individuos presentó 2 copias en la CNV esv3586400 (región que abarca el gen *NEGR1*) y 0.99% deleciones (n=2). El análisis de copias relativas evidenció que la mediana de copias relativas en los individuos con HTA y TA sistólica/diastólica elevada, fue significativamente más elevada (p=0.008, p=0.007, p=0.01, respectivamente), por lo que se sugiere que esta CNV puede jugar un papel en el desarrollo de HTA. En el caso de la CNV esv27061 (en los genes: *LRP8*, *CAPZA1*, *CTTNBP2NL*, *DKFZp547A023*, *MOV10*,

*RHOC, ST7L, WNT2B*) se encontró que 99.5% (n=201) de la población presentó 2 CNVs en esta región, mientras que 0.5% (n=1) presentó 3CNVs, no se encontró evidencia de que esta región pudiera ser de riesgo o protección a desarrollar OB o HTA. Por último, se observó que el 92.42% (n=122) de la población presentó 2 copias en la CNV esv2758781 (que abarca los genes: *AL050403.2, AL158042.1, C20orf18*) y 7.57% (n=10) duplicaciones. En este estudio se encontró que los individuos sin HTA y con duplicaciones en esta región presentaron una mediana más baja de Índice de Masa Corporal (IMC) que los individuos con 2 copias (21.81kg/m<sup>2</sup> vs 28.02 kg/m<sup>2</sup>, p=0.02), lo que sugiere que esta región pueda asociarse a la protección de OB. Con base a los resultados obtenidos, sugerimos que la CNV esv3586400 podría estar relacionada con el aumento de la TA, la CNV esv27061 no tiene efecto ni en el fenotipo de SP/OB ni en el de HTA en la población amerindia mexicana y la CNV esv2758781 tiene una relación protectora a OB, por lo que se sugiere a seguir estudiando el papel que ejercen las CNVs en la etiología de EM en la población mexicana.

## Abstract

Metabolic diseases are those which affect the metabolism in a direct manner. Both obesity and hypertension are a major concern in public health due to its high prevalence in Mexico, said prevalence being calculated to be a 34.6% which suffer from obesity and 44.9% hypertension. The etiology of both diseases is multifactorial; however, the genetic factor has a considerable influence in the development of metabolic diseases. Within the human genome there are many types of variants, such as, SNVs (single nucleotide variations) or CNVs (copy number variations). CNVs are segments of  $\geq 50\text{kb}$ , they can be gains or losses that are present throughout the human genome. However, evidence suggests CNVs are associated with the risk or protection to have obesity and hypertension. The aim of this work was to find three different CNVs (esv3586400, esv27061 and esv2758781) in Mexican Amerindians in order to investigate their association for risk or protection with obesity and/or hypertension.

We found that 99% (n=200) of our population had 2 copies in the CNV esv3586400 (regions that covers the *NEGR1* gene) and 1% presented losses (n=2). The relative copies analysis showed that the median of relative copies in people with hypertension and high systolic/diastolic blood pressure was significantly higher (p=0.008, p=0.007, p=0.01, respectively); consequently, we suggest that CNV esv3586400 might play a role in HTA develop. In the case of the CNV esv2706 (a region that covers the genes: *LRP8*, *CAPZA1*, *CTTNBP2NL*, *DKFZp547A023*, *MOV10*, *RHOC*, *ST7L*, *WNT2B*). We found that 99% (n=201) of our population had 2CNVs in this region, while 1% (n=1) presented duplications (3CNVs). Finally, we

found that 92% (n=122) of the Mexican Amerindians had 2 copies in the CNV esv2758781 (regions that covers the genes: *AL050403.2*, *AL158042.1*, *C20orf18*) and 8% (n=10) presented gains. One major observation in this study was the relationship of lower median body mass index (BMI) with no hypertension and duplications as compared with individuals who presented 2 copies of this CNV (21.81kg/m<sup>2</sup> vs 28.02 kg/m<sup>2</sup>, p=0.02). These results suggest this variant might be associated with the protection for obesity. Based on the obtained results, we suggest that the CNV esv3586400 is related with the raise of blood pressure, the CNV esv27061 does not show association in either obesity or hypertension and the CNV esv2758781 has a protector effect in obesity. These results clearly indicate the association of CNVs and metabolic disease in Mexican population. Further studies are needed to elucidate the role of this CNVs in the etiology of metabolic diseases in Mexican population.

## Índice

Resumen .....	viii
Abstract .....	x
Lista de abreviaturas .....	1
I. Introducción.....	2
II. Antecedentes .....	9
III. Justificación.....	14
IV. Hipótesis .....	14
V. Objetivos .....	15
5.1 Objetivo General .....	15
5.2 Objetivos Particulares .....	15
VI. Material y Métodos.....	16
6.1 Tipo de estudio.....	16
6.2 Extracción de DNA.....	16
6.3 Criterios de inclusión y exclusión .....	17
6.4 Diagnóstico de obesidad (OB) .....	18
6.5 Diagnóstico de hipertensión arterial (HTA) .....	18
6.6 Identificación de las CNVs .....	18
6.7 Análisis estadístico.....	20
VII. Resultados .....	21
7.1 Obesidad (OB) e hipertensión (HTA) .....	22
7.2 CNV esv3586400 que contiene al gen <i>NEGR1</i> en la población amerindia mexicana.....	22
7.3 CNV esv27061, región que contiene a los genes: <i>LRP8</i> , <i>CAPZA1</i> , <i>CTTNBP2NL</i> , <i>DKFZp547A023</i> , <i>MOV10</i> , <i>RHOC</i> , <i>ST7L</i> , <i>WNT2B</i> en la población amerindia mexicana .....	25
7.4 CNV esv2758781, región que contiene a los genes <i>AL050403.2</i> , <i>AL158042.1</i> , <i>C20orf187</i> en la población amerindia mexicana .....	27
VIII. Discusión .....	33
8.1 CNV esv3586400 (región que abarca al gen <i>NEGR1</i> ).....	34
8.2 CNV esv27061 (región que abarca a los genes: <i>LRP8</i> , <i>CAPZA1</i> , <i>CTTNBP2NL</i> , <i>DKFZp547A023</i> , <i>MOV10</i> , <i>RHOC</i> , <i>ST7L</i> , <i>WNT2B</i> , <i>SnoU13</i> y <i>MIR4256</i> ) .....	37

8.3 CNV esv2758781 (región que abarca a los genes: <i>AL050403.2</i> , <i>AL158042.1</i> , <i>C20orf187</i> ).....	38
IX. Conclusiones .....	42
X. Referencias.....	43

## **Lista de abreviaturas**

AHA: Asociación Americana del Corazón; del inglés: *American Heart Association*.

CNV: Variantes en el Número de Copias; del inglés: *Copy Variant Number*.

DGV: Base de datos de Variantes Genómicas; del inglés *Database of Genomic Variants*.

EM: Enfermedades Metabólicas.

GWAS: Estudios de Asociación del Genoma Completo, del inglés: *Genome Wide Association Studies*).

HTA: Hipertensión Arterial.

HVI: Hipertrofia Ventricular Izquierda.

IMC: Índice de Masa Corporal.

OB: Obesidad.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

PIB: Producto Interno Bruto.

PT: Población Total.

SMet: Síndrome Metabólico

SNV: Variantes de un Solo Nucleótido, del inglés: *single nucleotide variant*.

SP: Sobrepeso.

TAD: Tensión Arterial Diastólica.

TAS: Tensión Arterial Sistólica.

## I. Introducción

Las entidades metabólicas (EM) comprenden aquellas enfermedades con alteraciones en el metabolismo, tales como: obesidad (OB), hipertensión (HTA), diabetes, dislipidemia, síndrome metabólico, etc. (Orozco et al., 2014). Dentro de estas EM, la OB es de gran importancia y se define como la acumulación excesiva de tejido adiposo, originado por un desequilibrio energético en donde se consumen más calorías de las que se gastan (Dommarco-Rivera et al., 2018). El diagnóstico de OB en adultos, se realiza mediante el Índice de Masa Corporal (IMC) donde, el  $IMC = \text{peso (kg)} / \text{altura (m}^2\text{)}$ , por lo que si un individuo tiene un  $IMC \geq 25$  es considerado con sobrepeso (SP) y  $\geq 30$  con OB (OMS, 2018c).

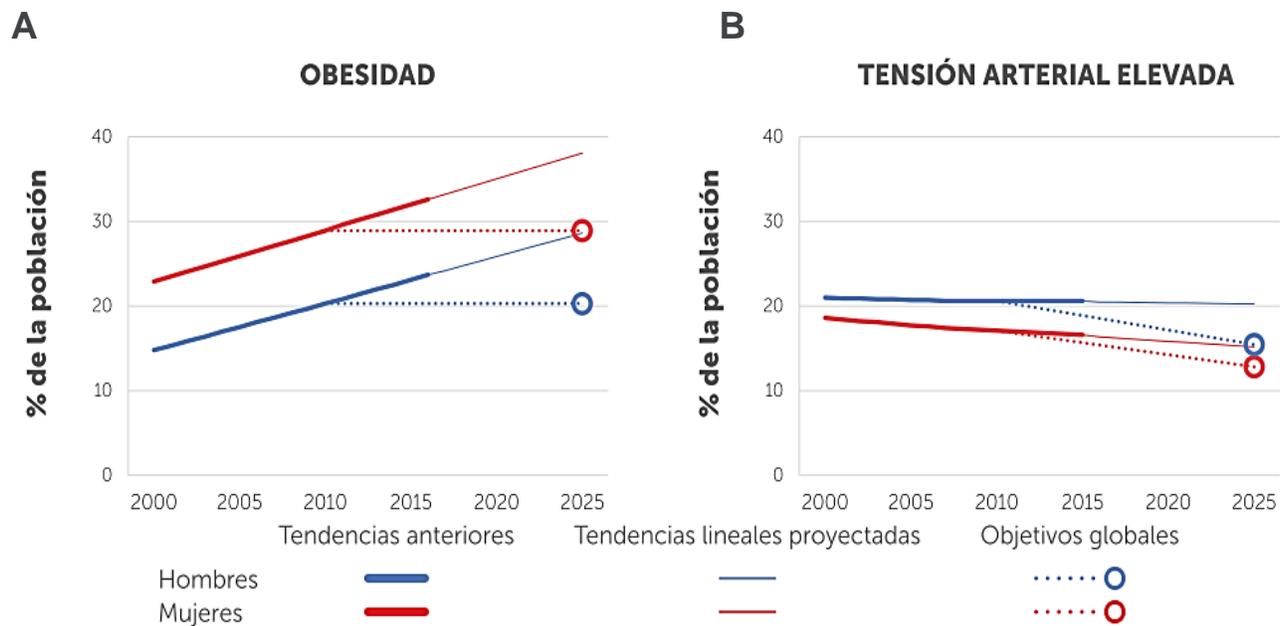
A nivel mundial, la OMS (Organización Mundial de la Salud, 2018c) calcula que 39% de los adultos ( $\geq 18$  años) tiene sobrepeso (SP) y 13% OB. Los datos a futuro señalan que, si se continúa con estos incrementos, para el año 2030, 2.16 billones de individuos padecerán SP y 1.12 billones OB, lo cual representaría que más del 60% de la población padeciera alguna de estas dos EM (Malo-Serrano et al., 2017). En México las cifras son alarmantes ya que, en el 2020, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) dio a conocer que en población adulta ( $\geq 20$  años) el 39.5% de los individuos tienen SP y el 35.3% cursan con OB (Shamah-Levy, Vielma-Orozco, et al., 2019). Interesantemente, la población indígena, una población vulnerable y con un gran retraso económico, también se ve afectada por la OB, ya que 36.4% de ellos tienen SP y 34.6% de OB (Shamah-Levy, Campos-Nonato, et al., 2019). Recientemente, nuestro grupo de trabajo publicó el primer estudio descriptivo de componentes de Síndrome Metabólico (SMet) en población con un

elevado porcentaje de ancestría amerindia mexicana. En este estudio se observó que, 60% de las mujeres padecen obesidad central y 16.5% en varones (Mendoza-Caamal et al., 2020).

Por otro lado, tanto el SP y la OB son factores de riesgo para desarrollar otras enfermedades de tipo no transmisibles como: enfermedades cardiovasculares (ECV), diabetes mellitus tipo 2 (DT2), HTA y/o dislipidemia (OMS, 2018c). Estos datos son de gran importancia si se considera que, en el 2016, la OMS reportó que las 3 principales causas de muerte a nivel mundial fueron las enfermedades no transmisibles (ENT) (enfermedad isquémica del corazón, infarto y enfermedad pulmonar obstructiva) y en México, se calculó que un cuarto de las defunciones fueron por ECV y un 15% por complicaciones de DT2 (Organización Mundial de la Salud, 2018b).

La HTA se define como la presión elevada de la sangre ejercida en contra de las paredes arteriales por encima de sus valores normales ( $\geq 130$  mmHg sistólica y  $\geq 80$  mmHg diastólica) (Asociación Americana del Corazón, 2017). La HTA es considerada como el principal factor de riesgo de las enfermedades cardiovasculares (ECV) y a nivel mundial se calcula que aproximadamente 31% de los adultos la padecen, lo que representa 1.38 billones de individuos (Mills et al., 2020). En México, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT, 2018-19) reportó que el 34.1% de los adultos  $\geq 20$  años tienen HTA. En población indígena mexicana, el problema es aún más grave, ya que el recientemente se evidenció que en esta población las mujeres tienen una prevalencia mayor de HTA que los varones (48.8% vs 40%) (Mendoza-Caamal et al., 2020).

De acuerdo con la OMS (2018b), en México el 80% (653,000 de individuos aproximadamente) de las defunciones se debe a ENT, entre ellas las ECV y la DT2. Se estima que para el año 2025, si se profundiza en la fisiopatología de estas entidades e implementando la medicina de precisión, se podrían salvar muchas vidas y contribuir a la disminución de la prevalencia de estos padecimientos en nuestra población (**Figura 1**).

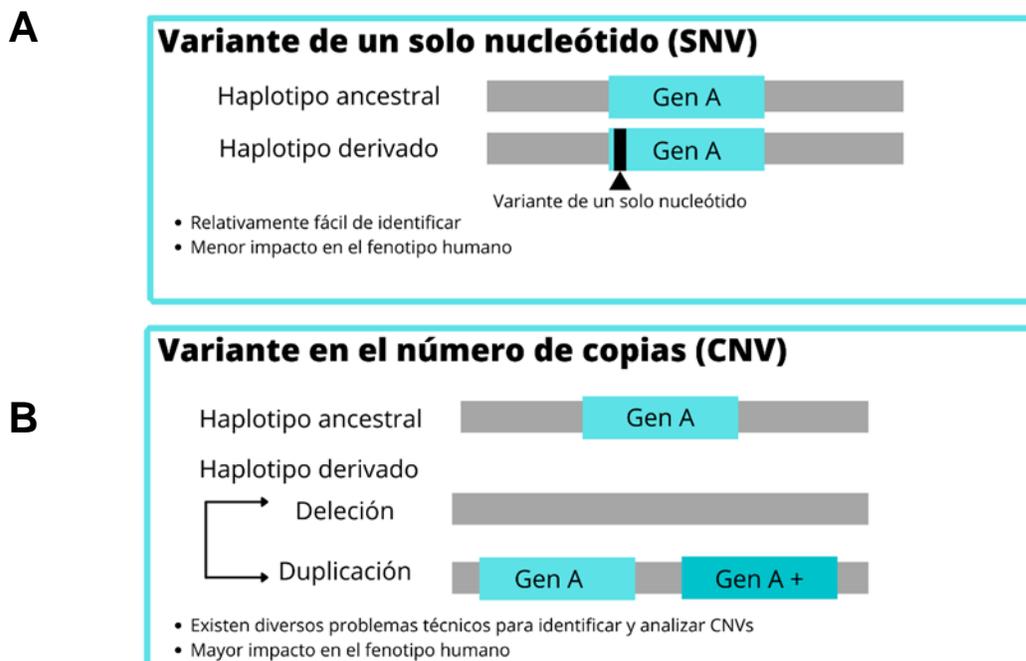


**Figura 1.** Tendencias de prevalencia futura de enfermedades metabólicas en adultos mexicanos. A: obesidad y B: tensión arterial elevada. Tomado de (Organización Mundial de la Salud, 2018a).

La etiología de la OB e HTA es multifactorial, en donde la edad, etnia, dieta, sexo, actividad física, consumo de alcohol, etc., contribuyen a su desarrollo, no obstante, el factor genético juega un papel muy importante.

En la OB, estudios con gemelos idénticos han revelado que, cuando sus papás padecen SP/OB, la heredabilidad de que desarrollen alguna de estas EM es de hasta un 80% (Albuquerque et al., 2017). Por otro lado, en lo que concierne a la HTA, se ha reportado que su heredabilidad es del 39-50% (Kayima et al., 2017).

Con relación a los factores genéticos, en el genoma humano existen variaciones en el DNA (patogénicas y no patogénicas), que pueden conferir un riesgo o protección a padecer ciertas enfermedades como la OB e HTA (Cid-Soto et al., 2018; Saldaña-Alvarez et al., 2016). Estas variantes pueden ser únicamente un cambio de un solo nucleótido (SNV, del inglés: *single nucleotide variant*) o cambios en número de copias (CNV, del inglés: *copy number variant*) (**Figura 2**) (Dunnen et al., 2016).



**Figura 2.** Variantes en el genoma humano. A: Variantes de un solo nucleótido (SNV). B: Variantes en el número de copias (CNV). Tomado de (Saitou & Gokcumen, 2020).

Las CNVs son segmentos mayores a 50 pb, afectan el contenido del DNA presentándose como ganancias o duplicaciones y pérdidas o deleciones (Eichler, 2019). Se estima que aproximadamente 9.5% de nuestro genoma tiene CNVs, su distribución no es azarosa pero comúnmente se encuentran en sitios palindrómicos (Hovhannisyán et al., 2019). Las CNVs son variantes estructurales presentes en todas las personas (variantes no patogénicas), no obstante, se ha evidenciado que algunas están asociadas al riesgo o protección a padecer enfermedades como: esquizofrenia, Alzheimer, defectos congénitos del corazón, entre otros (Saitou & Gokcumen, 2020; Savory et al., 2020).

Diversos artículos han reportado CNVs y su asociación al desarrollo de OB e HTA (Marques et al., 2014; Zhang et al., 2015). En población europea, se han identificado CNVs en 22q11.21 (duplicación), 1q21.1 y 16p11.2 (deleciones) en individuos con OB (Pettersson et al., 2017). Otro estudio, también en población europea, reveló que el aumento de 220kb en la banda 16p11.2 incrementa el IMC ( $\beta=3.07$ ,  $p=5.3 \times 10^{-8}$ ), además, deleciones de 600kb en la misma banda, se asociaron al aumento de peso ( $\beta=6.57$ ,  $p=5.3 \times 10^{-5}$ ) (Macé et al., 2017). Finalmente, en población infantil estadounidense, se reportó que las duplicaciones en el gen *AMY1* (alfa-amilasa 1) se asociaron a la disminución de IMC y la circunferencia de cintura ( $\beta=-0.42$ ,  $IC95\%=-1.11-0.36$ ,  $p<0.001$ ;  $\beta= -0.36$ ,  $IC95\%= -1.73-0.41$ ,  $p<0.01$ , respectivamente) (Selvaraju et al., 2020).

En cuanto a HTA, se ha reportado que, en población europea, pérdidas de la CNV esv27061 están asociadas a una TA elevada ( $\beta=0.05$ ;  $IC95\%= 0.005-0.53$ ,  $p=0.013$ ) y que los individuos con ganancias de la CNV dgv1306e1 mostraron una TA

diastólica menor que los individuos con 2 copias, lo que sugiere que esta CNV podría estar actuando como protectora contra TA (Marques et al., 2014).

En población asiática, se detectó la presencia de 208 CNVs (35 ganancias y 173 pérdidas) en individuos con hipertensión e hipertrofia ventricular izquierda (HVI) (Boon-Peng et al., 2016).

En México, los estudios son escasos y la mayoría de ellos se han enfocado en determinar la asociación de CNVs con el riesgo a padecer OB. Un trabajo realizado en niños mestizos mexicanos mostró, que las ganancias en el gen *NEGR1* (Regulador de crecimiento neuronal 1) conllevan a una protección a obesidad abdominal (OR=0.76, IC95%= 0.59–0.97, p=0.029) y las ganancias en los genes *ARHGEF4* (Factor de intercambio de nucleótidos de guanina de Rho 4) y *CPCXR1* (Región cromosómica CPX, candidato 1) y pérdidas en *INS* (Insulina), son un factor de riesgo para obesidad abdominal (OR=1.35, IC95%=1.02–1.89, p=0.025, OR=1.57, IC95%= 1.27–1.95, p=0.0001; OR= 1.63, IC95%= 1.29–2.06, p= 0.0001, respectivamente) (Antúñez-Ortiz et al., 2017). Otro estudio realizado en niños y adultos mexicanos evidenció que una disminución de CNVs en el locus 11q11 (<2 copias) se asocia con protección de OB en niños (OR=0.77, IC95%=0.63–0.94, p= 0.047) y en adultos, los individuos con  $\leq 4$  copias en el gen *AMY1* presentaron un riesgo a desarrollar OB (OR= 1.53; IC95%= 1.01–2.31, p=0.04) (León-Mimila et al., 2018).

En México, actualmente viven aproximadamente 119,938,473 habitantes, de los cuales 7,382,785 son indígenas (INEGI, 2015). La población indígena es la más vulnerable de nuestro país y de acuerdo con el CONEVAL y la ONU (Consejo

Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social, 2018; Organización de las Naciones Unidas, 2014) únicamente 15.4% de ellos tienen acceso a servicios de salud y su esperanza de vida es 6 años menor en comparación al resto de la población.

Debido a que los indígenas forman parte de nuestro componente mestizo y a que la OB y la HTA son problemas importantes de salud es necesario estudiar la etiología de estas dos entidades metabólicas en la población indígena, para profundizar en su fisiopatología en la población mexicana.

## II. Antecedentes

Diversas investigaciones han evidenciado la necesidad de estudiar a diferentes poblaciones, ya que la susceptibilidad genética es diferente en cada grupo étnico.

Recientemente, se realizó un estudio en niños estadounidenses, en donde se evaluó la presencia de CNVs en el gen *AMY1* y su relación con OB. El estudio evidenció, que el grupo de normopeso posee una media más elevada del número de copias en este gen en comparación al grupo con SP y OB (7.98 vs 6.6,  $p < 0.01$ ). También se encontró que ganancias en *AMY1* disminuyen significativamente el IMC y la circunferencia de cintura ( $\beta = -0.42$ , IC95% =  $-1.11 - 0.36$ ,  $p < 0.001$ ;  $\beta = -0.36$ , IC95% =  $-1.73 - -0.41$ ,  $p < 0.01$ , respectivamente), lo que sugiere que las ganancias en este gen podrían estar relacionadas con la protección a desarrollar OB en población infantil en esta población (Selvaraju et al., 2020).

En la **tabla 1** se muestran los resultados de un meta-análisis realizado en población europea. Se reveló que las CNVs tipo deleciones de 220kb presentes en 6p11.2 incrementan el IMC y deleciones de 600kb en la misma región se asociaron con una disminución de altura y el aumento de peso. En el mismo estudio se encontró que pérdidas (145-145.9 Mb) en el cromosoma 1q21.1 y la región 3q29 tienen un efecto en el aumento de peso, en 7q11.23 se encontraron duplicaciones (72.6–73.58 Mb) que mostraron una correlación positiva con el índice cintura-cadera. Por último, también se evidenció que duplicaciones de 300kb en el gen *MC4R* (receptor de melanocortina) tienen un efecto protector a OB, ya que se asoció con la disminución de IMC y peso (Macé et al., 2017).

<b>Tabla 1.</b> CNVs asociadas a fenotipos antropométricos en población europea.				
Región/gen	Tipo de CNV	Fenotipo	OR/ $\beta$	<i>P</i>
6p11.2	Pérdidas (220kb)	IMC	$\beta = 3.07$	$5.3 \times 10^{-8}$
6p11.2	Pérdidas (600kb)	Altura Peso	$\beta = -5.21$ $\beta = 6.57$	$1.1 \times 10^{-14}$ $5.3 \times 10^{-5}$
1q21.1	Pérdidas (145-145.9Mb)	Peso	$\beta = 6.66$	$1.7 \times 10^{-6}$
3q29	Pérdidas (145-145.9Mb)	Peso	$\beta = 22.55$	$1.6 \times 10^{-6}$
7q11.23	Ganancias (72.6-73.58Mb)	Índice cintura-cadera	$\beta = 0.11$	$1.5 \times 10^{-6}$
<i>MC4R</i>	Ganancias (300kb)	IMC Peso	$\beta = -5.06$ $\beta = -15.94$	$2 \times 10^{-7}$ $1.4 \times 10^{-8}$
CNV: Variantes en el número de copias; IMC: índice de masa corporal. Adaptado de Macé et al., (2017).				

Otro estudio realizado también en población europea, detectó pérdidas en el gen *AMY1* asociadas con el riesgo a desarrollar OB (OR=1.19, IC95%=1.13-1.26,  $p=1.46 \times 10^{-10}$ ) y aumento en el IMC ( $\beta=0.15$ , error estándar (ES)=0.02,  $p=6.93 \times 10^{-10}$ ) (Falchi et al., 2014).

Los estudios de CNVs y su asociación con OB se han realizado en diferentes poblaciones. En el 2015 se reportó en niños chinos que deleciones en 4q25, 10q11.22 y 11q11 presentaron un riesgo al desarrollo de esta entidad (OR= 3.77, IC95%= 1.52-9.36,  $p=0.004$ ; OR= 2.40, IC95%= 1.43-4.00  $p= 9.1 \times 10^{-4}$  y OR= 1.43, IC95%= 1.03-1.98,  $p=0.03$ , respectivamente) (Zhang et al., 2015). Otro estudio mostró, que varones con deleciones en el gen *LEPR* (receptor de leptina) presentaron una media más elevada de circunferencia de cadera, porcentaje de grasa corporal y grasa visceral que los varones con duplicaciones en el mismo gen (93.9cm $\pm$  5.6 vs 92.2cm $\pm$  6.2,  $p= 1.76 \times 10^{-02}$ ; 20.5% $\pm$  4.9 vs 19.4% $\pm$  4.5,  $p= 2.99 \times 10^{-02}$ ; 0.89%  $\pm$  0.04 vs 0.88% $\pm$  0.0,  $p= 2.95 \times 10^{-05}$ , respectivamente), lo que sugiere que

para población coreana, deleciones en este gen podrían ser un factor de riesgo para desarrollar OB (Jeon et al., 2010).

En cuanto CNVs y su asociación con HTA, los estudios son escasos. En población europea, se encontró que la frecuencia de individuos (n=12) con TA extremadamente alta y con deleciones en la CNV esv27061 (localizada en el cromosoma 1: 112,692,629-113,246,263, hg 19) fue significativamente más elevada (p=0.013) que la encontrada en personas con esta misma CNV y TA extremadamente baja (n=2), además se encontró una asociación de deleciones en esta región con el aumento de TA ( $\beta = 0.05$ ; IC95%= 0.005– 0.53, p= 0.013), por lo que se concluyó que esta CNV pudiera estar relacionada con el desarrollo de HTA en población europea. Por otro lado, también se observó que individuos con ganancias (3 copias) en la CNV dgv1306e1 (localizada en el cromosoma 20: 10,892,138-11,116,725, hg 19), presentaron una mediana de TA-D (tensión arterial diastólica) significativamente menor en comparación con aquellos individuos que presentaron 2 copias (p=0.024), lo que sugiere que esta CNV pueda fungir como protección a HTA (Marques et al., 2014). Otro estudio realizado en población asiática reveló la presencia de 208 CNVs (35 ganancias y 173 pérdidas) en individuos con HTA e hipertrofia ventricular izquierda (HVI). Estas CNVs fueron localizadas en genes como: *LOC348021*, *CDH15* (caderina-15) y *KCNIP4* (proteína 4 que interactúa con el canal kv), etc., (Boon-Peng et al., 2016).

Debido a que la OB y la HTA son un problema grave de salud pública mundial y México no es la excepción, se han realizado diversos estudios para tratar de entender y profundizar en la fisiopatología de estas enfermedades.

En niños mayas, se realizó un estudio de CNVs en la región intrónica y exónica del gen *FTO* (alfa-cetoglutarato dependiente dioxigenasa), donde se evidenció que el grupo de varones con sobrepeso (SP) presentó una media más elevada de copias relativas en ambas regiones del gen *FTO* en comparación con los niños con normopeso ( $2.30 \pm 0.49$  vs  $2.07 \pm 0.40$ ,  $p=0.0001$ ;  $2.38 \pm 0.66$  vs  $2.07 \pm 0.73$ ,  $p=0.0002$ , respectivamente), por lo que es probable que el incremento de copias en estas regiones pudiera incidir en el IMC en población infantil maya (González-Herrera et al., 2018).

Otro trabajo realizado en mexicanos, reveló que deleciones en 11q11 se asociaron con protección para desarrollar OB en niños, mientras que las duplicaciones (3-4 copias) en el gen *AMY1* se asociaron con el riesgo a padecer obesidad en población adulta (León-Mimila et al., 2018) (**Tabla 2**). Por último, se realizó un estudio con CNVs en población infantil mexicana con 1,423 niños entre 6-12 años de edad. Los resultados revelaron que las ganancias (3-6 copias) en el gen *NEGR1* se asociaron con protección de obesidad abdominal, mientras que las ganancias en los genes *ARHGEF4* y *CPXCR1*, y las pérdidas en *INS* se asociaron al riesgo de padecer obesidad abdominal (Antúñez-Ortiz et al., 2017) (**Tabla 2**).

<b>Tabla 2.</b> CNVs asociadas a obesidad en población mexicana.						
Autores	Región/gen	Tipo de CNV	Fenotipo	OR/ $\beta$	IC 95%	<i>P</i>
Antúnez-Ortiz et al., (2017)	<i>NEGR1</i>	Ganancias	OB CC	OR=0.76, $\beta$ =-2.03	0.59-0.97 -3.24;- 0.83	0.029 0.001
Antúnez-Ortiz et al., (2017)	<i>ARHGEF4</i>	Ganancias	OB CC	OR=1.35 $\beta$ =1.45	1.02-1.89 0.09-2.81	0.025 0.03
Antúnez-Ortiz et al., (2017)	<i>CPXCR1</i>	Ganancias	OB CC	OR=1.57 $\beta$ =2.10	1.27-1.95 0.89-3.30	0.0001 0.001
Antúnez-Ortiz et al., (2017)	<i>INS</i>	Pérdidas	OB CC	OR= 1.63 $\beta$ =2.20	1.29-2.06 0.94-3.45	0.0001 0.001
León-Mimila et al., (2018)	11q11	Pérdidas	OB	OR= 0.77	0.63-0.94	0.047
León-Mimila et al., (2018)	<i>AMY1</i>	Ganancias	OB	OR= 1.5	1.01-2.31	0.04

CNV: variantes en el número de copias; OB: obesidad; CC: circunferencia de cintura.

Hasta la fecha no existen reportes de asociación con CNVs e HTA en población mexicana y los estudios con obesidad son relativamente escasos. La carga genética de los mestizos mexicanos forma parte de una mezcla donde el componente indígena está presente (Lisker et al., 1986), por lo que estudiar la genómica de la fisiopatología de entidades metabólicas como la obesidad e HTA en población amerindia mexicana es importante para profundizar en la etiología de estas dos entidades y contribuir con su conocimiento en la población mexicana.

### **III. Justificación**

Tanto la OB como la HTA son problemas graves de salud en México, ambas entidades son factores de riesgo para ECV, siendo estas la primera causa de muerte en nuestro país (OMS, 2018b).

Tanto la OB como la HTA son problemas de salud pública en México, ambas entidades son factores de riesgo para ECV y éstas están enlistadas como las primeras causas de muerte en nuestro país (OMS, 2018b), tan solo, en el último año, el INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía, 2021) registró 141,873 muertes causadas por ECV.

De acuerdo con el INEGI, en México viven más de 126 mil millones de personas, la composición genética de los mexicanos es: 56% amerindio, 41% caucásico y 3% africano (Cid-Soto et al., 2018; Lisker et al., 1986), es por ello que es necesario profundizar en la fisiopatología de estas enfermedades enfocándonos en la población indígena, para que en un futuro se pueda incidir en la prevención y diagnóstico temprano de estas entidades en todos los mexicanos.

### **IV. Hipótesis**

Si existen CNVs propias para obesidad e hipertensión en población amerindia mexicana, entonces es probable que estén asociadas con el riesgo a padecer estas entidades metabólicas.

## **V. Objetivos**

### **5.1 Objetivo General**

- Identificar variantes en el número de copias (CNV) y su asociación con obesidad e hipertensión en población amerindia mexicana.

### **5.2 Objetivos Particulares**

- Identificar CNV en población indígena mexicana.
- Establecer la asociación de las CNV con el riesgo y/o protección para desarrollar obesidad y/o hipertensión.

## **VI. Material y Métodos**

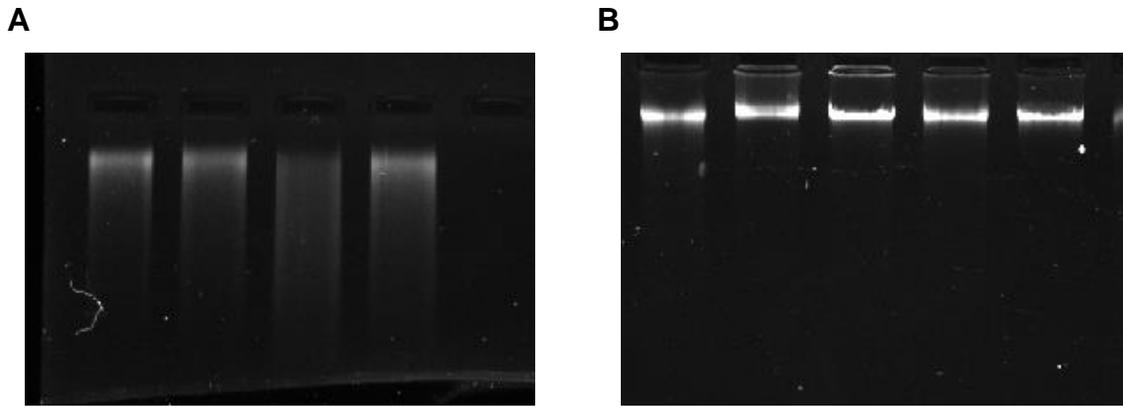
### **6.1 Tipo de estudio**

El estudio realizado fue observacional, retrospectivo, transversal y comparativo. La población forma parte de la cohorte MAIS (análisis metabólico en muestras indígenas) (Cid-Soto et al., 2018) y participaron 202 adultos amerindios mexicanos (129 mujeres y 73 hombres), voluntarios pertenecientes a 57 grupos indígenas de 73 comunidades diferentes. Todos firmaron un consentimiento informado y se obtuvieron sus datos: clínicos, demográficos y antropométricos.

Este proyecto fue aprobado por el comité de ética del Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN) y se llevó a cabo en el laboratorio de inmunogenómica y enfermedades metabólicas del INMEGEN.

### **6.2 Extracción de DNA**

La extracción de DNA se realizó a partir de leucocitos en sangre periférica con el kit QIAamp ® DNA blood maxi kit (QIAGEN™), siguiendo las instrucciones del fabricante. La integridad del DNA fue evaluada en geles mediante electroforesis en geles de agarosa al 1%. Durante la electroforesis, el DNA se separa de acuerdo con su tamaño y carga, la muestra migra hacia el polo positivo debido a que el DNA tiene carga negativa que le otorga el grupo fosfato. Las muestras que se observaron con degradación fueron eliminadas del estudio (**Figuras 3A y 3B**).



**Figura 3.** Muestras de DNA en un gel de agarosa al 1%. A) muestras degradadas; B) muestras con el DNA integro, es decir sin degradación.

Para determinar la concentración y pureza de las muestras, se utilizó el equipo Nanodrop® (Thermo Fisher™). Los ácidos nucleicos absorben a 260 nm, mientras que las proteínas lo hacen a 280 nm y los alcoholes a 230 nm. El equipo Nanodrop realiza un índice entre el los ácidos nucleicos y las proteínas/alcoholes presentes en la muestra. Un índice de absorbancia de 260/280 ~1.8 y 260/230 entre 1.8-2.2 indica que la muestra contiene mayor parte de DNA; por lo tanto, tiene un alto nivel de pureza. Por el contrario, un índice <1.8 es indicativo de contaminación por proteínas, fenoles, carbohidratos, etc. (Thermo Fisher Scientific, 2010).

### **6.3 Criterios de inclusión y exclusión**

A partir de la cohorte MAIS, se incluyeron participantes al azar que presentaron historia clínica, demográfica y antropométrica completa. Se excluyeron a los individuos sin datos clínicos y antropométricos completos y con muestras de DNA degradadas.

#### **6.4 Diagnóstico de obesidad (OB)**

El diagnóstico de OB fue realizado con el Índice de Masa Corporal (IMC) mediante la fórmula: peso (kg)/altura (m<sup>2</sup>). Se tomó como referencia los parámetros recomendados por la OMS (Organización Mundial de la Salud, 2018c), en donde un IMC  $\geq 25$  se consideró a individuos con SP, un IMC  $\geq 30$  con OB (casos) y los individuos controles (sin SP u OB) presentaron un IMC  $\leq 25$ .

#### **6.5 Diagnóstico de hipertensión arterial (HTA)**

Para la detección de HTA se utilizaron los parámetros recomendados por la AHA (Asociación Americana del Corazón, 2017), en donde  $\geq 130$  mm de Hg en presión sistólica y/o  $\geq 80$  mm de Hg en presión diastólica se consideraron individuos con HTA (casos). Los individuos con  $< 130$  mm de Hg en presión sistólica y/o  $< 80$  mm de Hg en diastólica se consideraron controles. Se realizó un promedio de tres mediciones de tensión arterial (diastólica y sistólica) en cada individuo.

#### **6.6 Identificación de las CNVs**

Las CNV se identificaron mediante sondas tipo TaqMan, este tipo de sondas permite la amplificación del fragmento de DNA mediante PCR en tiempo real (Reacción en Cadena de la Polimerasa). Para la detección de CNV se amplificó una sonda de la región/gen de interés y otra como referencia (*RNAsaP*). En general, cada sonda Taqman contiene un fluoróforo (que actúa como marcador) en el extremo 5' y un quencher (molécula que bloquea la emisión de fluorescencia) en el extremo 3'. La enzima polimerasa con actividad 5'-3' nucleasa permite que, al encontrarse con la sonda, la hidrolice, lo que provoca la separación del quencher y el fluoróforo. En ensayos tipo TaqMan para CNV, se utilizaran dos sondas, una específica a la región

de interés y la otra como control interno *RNAasaP* (Applied Biosystems, 2011a), que tiene 2 CNVs. Los ensayos se llevaron a cabo en el equipo QuantStudio 7 (QuantStudio™ Real-Time PCR) bajo las condiciones recomendadas por el distribuidor.

Los datos obtenidos de las amplificaciones se analizaron en el software CopyCaller® v2.1 (Thermo Fisher Scientific). Este programa brinda dos tipos de resultados. El primer resultado nos arroja información del número de copias relativas, el cual es dado por la multiplicación de las copias de nuestro control endógeno (2) y el RQ. El RQ se define como la cantidad relativa de muestra asociada y está dado por  $2^{-\Delta\Delta CT}$ . El CT (del inglés *cycle threshold*) es el ciclo de amplificación en el cual se alcanza el umbral de fluorescencia estimado (Applied Biosystems, 2011b). Consecutivamente, el segundo resultado nos indica las copias absolutas. El programa realiza el método de curva estándar, donde compara las amplificaciones de la sonda control (*RNAasaP*) y la desconocida para brindar un valor absoluto (Thermo Fisher Scientific, 2020). Este último valor, nos representa como organismos diploides ya que es el número entero de copias que tenemos en una región (Passarge, 2007).

Para este estudio se seleccionaron 3 regiones que han mostrado asociación previa para HTA y OB en otras poblaciones (Antúñez-Ortiz et al., 2017; Marques et al., 2014) **(Tabla 3)**.

<b>Tabla 3.</b> Regiones y variantes en el número de copias (CNV) seleccionadas para el presente estudio.			
ID CNV	Localización	Tamaño (pb)	Genes
esv3586400	Chr.1: 71,402,942 – 72,282,850	879,908	<i>NEGR1</i>
esv27061	Chr.1: 112,150,007 – 112,703,641	553,634	<i>LRP8, CAPZA1, CTTNBP2NL, DKFZp547A023, MOV10, RHOC, ST7L, WNT2B, SnoU13, MIR4256</i>
esv2758781	Chr.20: 10,911,490 – 11,136,077	224,587	<i>AL050403.2, AL158042.1, C20orf187</i>
Basado en la base de datos DGV (Base de datos para variantes genómicas del inglés: <i>Database for Genomic Variants</i> ) y Genome Browser (GRCh38/hg38), búsqueda realizada en marzo de 2021.			

## 6.7 Análisis estadístico

Para el análisis del número de copias relativas, se realizó la prueba Kolmogorov-Smirnov para conocer la distribución de cada variable. Con base en esos resultados, se aplicaron pruebas paramétricas (diferencia entre medias mediante T-test) para las normales y no paramétricas (diferencia entre mediantes mediante Wilcoxon) para las que no presentaron normalidad. En el caso del número de copias absolutas, para estimar el riesgo/protección a padecer OB y/o HTA, se estimaron análisis de regresión logística y lineal. Tanto el análisis como la graficación, se llevó a cabo en el software R versión 3.6.0 y se consideró una significancia cuando la *P* fue <0.05.

## VII. Resultados

En la **tabla 4** se muestran las características clínicas y antropométricas de la población estudiada. Participaron un total de 202 individuos. La población se conformó en su mayor parte de individuos del sexo femenino (64% mujeres y 36% hombres). Se observó que el 20% (n=40) de la población presentó un peso normal, el 35% (n=71) sobrepeso y el 45% (n=91) OB, para el fenotipo de HTA se encontró que el 62% (n=126) presenta esta entidad y 38% (n=76) es control.

En el grupo del fenotipo de OB, se observaron diferencias significativas en la edad, peso, IMC y TA-S. Mientras que en el grupo de HTA, se presentaron diferencias en el peso, TA-S y TA-D (**Tabla 4**).

<b>Tabla 4.</b> Descripción clínica y antropométrica de la población amerindia.						
	<b>PT</b>	<b>NP</b>	<b>SP</b>	<b>OB</b>	<b>Sin HTA</b>	<b>HTA</b>
<b>N</b>	<b>202</b>	<b>40</b>	<b>71</b>	<b>91</b>	<b>76</b>	<b>126</b>
<b>Edad (años)</b>	57.53 (±12.15)	61.28 (±12.48)*	60.06 (±12.32)*	53.92 (±10.93)*	56.20 (±10.11)	58.34 (±13.20)
<b>Talla (m)</b>	1.51 (±0.09)	1.51 (±0.08)	1.52 (±0.09)	1.50 (±0.08)	1.50 (±0.08)	1.52 (±0.09)
<b>Peso (kg)</b>	67.67 (±13.20)	53.42 (±7.92)*	64.18 (±8.10)*	76.66 (±11.38+)	65.02 (±14.08) <sup>†</sup>	69.27 (±12.42) <sup>†</sup>
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	29.45 (±4.80)	23.03 (±1.68)*	27.68 (±1.44)*	33.65 (±3.17)*	28.72 (±5.19)	29.89 (±4.51)
<b>TA-S (mm Hg)</b>	145.38 (±25.91)	139.98 (±26.48)*	152.1 (±27.28)*	142.52 (±23.65)*	121.34 (±5.99) <sup>†</sup>	159.88 (±22.24) <sup>†</sup>
<b>TA-D (mm Hg)</b>	83.59 (±12.41)	82.15 (±12.37)	87.17 (±12.45)	81.43 (±11.90)	74.08 (±3.51) <sup>†</sup>	89.33 (±12.34) <sup>†</sup>

PT: población total; NP: normopeso; SP: sobrepeso, OB: obesidad; M: masculino; F: femenino; Ctrl: control; IMC: índice de masa corporal; TA-S: tensión arterial sistólica; TA-D: tensión arterial diastólica; \*:  $p < 0.05$  ANOVA de un factor; <sup>†</sup>:  $p < 0.05$  T-Student para muestras independientes.

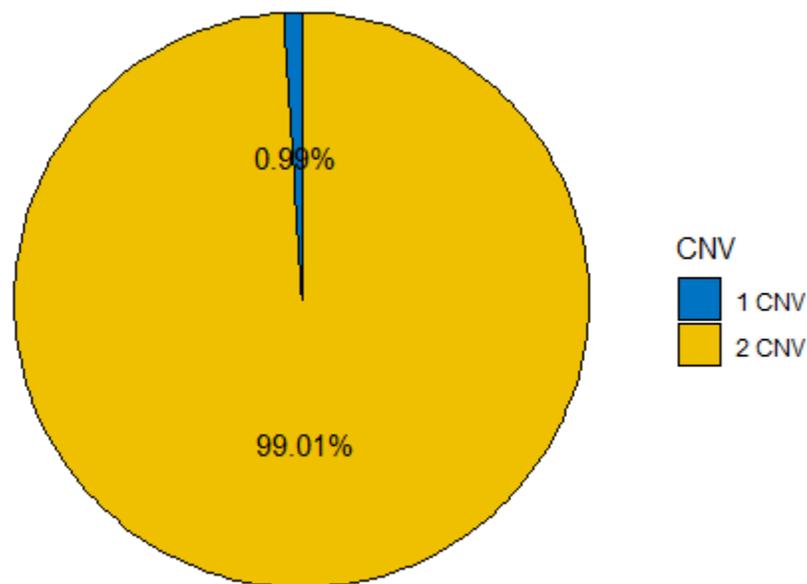
### 7.1 Obesidad (OB) e hipertensión (HTA)

En el análisis de IMC, se encontró que tanto la población con SP como la de OB se compone en su mayor parte de mujeres que de hombres (n=40 vs n=31; n=68 vs n=23).

En lo referente a la HTA, se observó este fenotipo con mayor frecuencia en las mujeres (60% femeninas vs 40% masculinos).

### 7.2 CNV esv3586400 que contiene al gen *NEGR1* en la población amerindia mexicana

En nuestra población, se observó que el 99.01% (200 individuos) de los individuos poseen 2 copias para la región esv3586400 y únicamente dos individuos, ambos del sexo femenino, pertenecientes a la etnia otomí y mixe, presentaron una sola copia (0.99%) (**Figura 4**).



**Figura 4.** Frecuencia de la CNV esv3586400 en la población amerindia mexicana.

Las dos mujeres con la presencia de la delección en esta región presentaron HTA, una de ellas con sobrepeso y una edad de 37 años y la otra con peso normal con 73 años (**Tabla 5**).

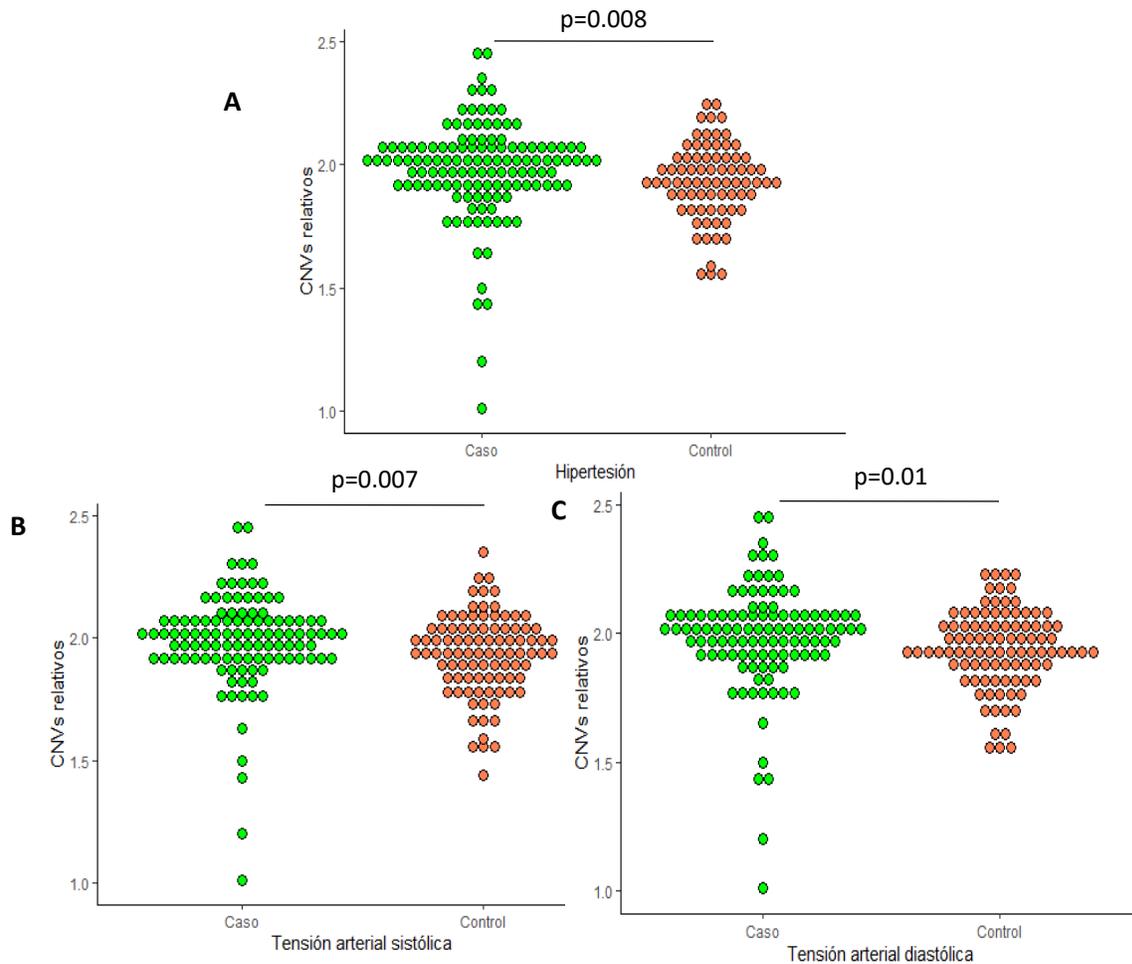
<b>Tabla 5.</b> Frecuencia de la CNV esv3586400 en población amerindia mexicana con obesidad e hipertensión.				
<i>Sobrepeso y obesidad</i>				
CNV	Controles (%)	SP (%)	OB (%)	Total (%)
1	1 (2.5)	1 (1.4)	0	2 (0.99)
2	39 (97.5)	70 (98.6)	91 (100)	200 (99.01)
Total	40	71	91	202
<i>Hipertensión</i>				
CNV	Controles (%)	Casos HTA (%)	Total (%)	
1	0	2 (1.6)	2 (0.99)	
2	76 (100)	124 (98.4)	200 (99.01)	
Total	76	126	202	
CNV: variantes en el número de copias; SP: sobrepeso; OB: obesidad; HTA: hipertensión.				

La comparación entre el número relativo de copias entre controles y casos (de OB e HTA) tanto en la población total, masculinos y femeninas, evidenció que la mediana de copias relativas en mujeres con SP u OB fue más alta en comparación con las de peso normal (1.99 vs 1.93,  $p=0.04$ ), lo que sugiere que un aumento de copias en esta región pudiera ser un factor de riesgo a desarrollar SP u OB en mujeres.

Interesantemente, para HTA, se observó que la mediana de copias relativas en la población total de los individuos con HTA, tanto en la TA sistólica y la TA diastólica,

fue significativamente más elevada ( $p=0.008$ ,  $p=0.007$ ,  $p=0.01$ , respectivamente) (**Figura 5**). Al estratificar por sexo, únicamente el grupo de los varones presentó una diferencia significativa en la TA diastólica ( $p=0.03$ ) (**Tabla 6**).

<b>Tabla 6.</b> Número relativo de copias de la CNV esv3586400 en relación al sobrepeso, obesidad y presión arterial en población amerindia mexicana.							
<i>Sobrepeso y obesidad</i>							
Sexo	PT	Peso normal	SP	OB	SP+OB		
H + M	1.98 (n=202)	1.95 (n=40)	2.01 (n=71)	1.97 (n=91)	1.99 (n=162)		
H	1.99 (n=73)	2.02 (n=19)	2 (n=31)	1.93 (n=23)	1.95 (n=54)		
M	1.98 (n=129)	1.93 (n=21)	2.01 (n=40)	1.98 (n=68)	1.99 (n=108)*		
<i>Hipertensión</i>							
Sexo	PT	Sin HTA	HTA	Sin TAS	TAS	Sin TAD	TAD
H + M	1.98 (n=202)	1.94 (n=76)	2 (n=126)*	1.95 (n=93)	2 (n=109)*	1.94 (n=95)	2 (n=107)*
H	1.99 (n=73)	2 (n=23)	2 (n=50)	1.93 (n=30)	2 (n=43)*	1.94 (n=30)	2 (n=43)
M	1.98 (n=129)	2 (n=53)	2 (n=76)	1.96 (n=63)	2 (n=66)	1.94 (n=65)	2 (n=64)
PT: población total; SP: sobrepeso; OB: obesidad; SP+OB: sobrepeso y obesidad aunada; H: hombres; M: mujeres; HTA: hipertensión; TAS: tensión arterial sistólica; TAD: tensión arterial diastólica; *: $p<0.05$ de acuerdo a su grupo control.							



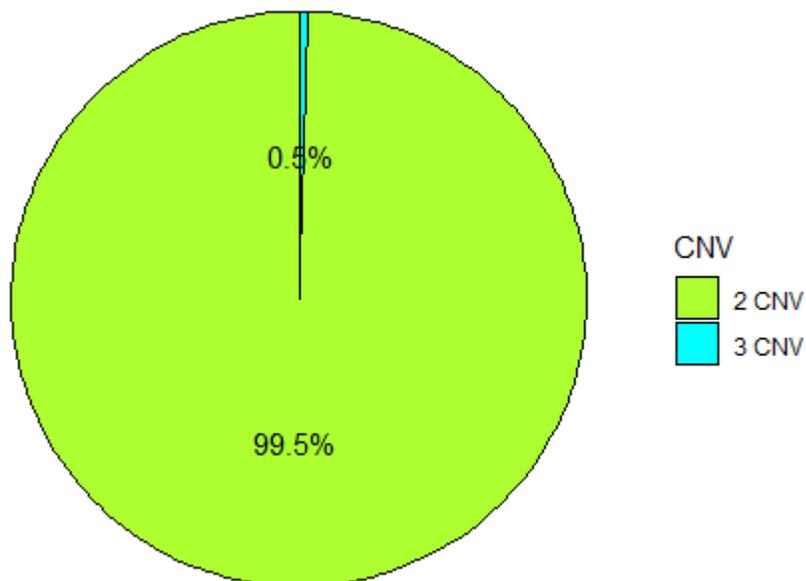
**Figura 5.** Asociación entre el número de copias relativo de la región esv3586400 y el riesgo a desarrollar hipertensión. A: hipertensión B: tensión arterial sistólica elevada y C: tensión arterial diastólica elevada.  $p < 0.05$  (Wilcoxon).

### 7.3 CNV esv27061, región que contiene a los genes: *LRP8*, *CAPZA1*, *CTTNBP2NL*, *DKFZp547A023*, *MOV10*, *RHOC*, *ST7L*, *WNT2B* en la población amerindia mexicana

De manera general, se encontró que 201/200 (99.5%) individuos presentaron 2 copias en esta región y únicamente un individuo (0.5%) presentó 3 copias (**Figura 6**), no se encontraron deleciones. Al estratificar por sexo, el 99% (n=72) de los

hombres presentaron 2CNVs y solo un individuo con 3 copias, en cuanto a la población femenina todas presentaron 2 copias en esta región (n=129). El hombre con 3 CNVs, pertenece a la etnia náhuatl, tiene 51 años, no presenta ni OB, ni HTA, sin embargo, tiene otras alteraciones metabólicas como dislipidemia y glucosa elevada.

En relación a la distribución de las copias relativas de esta región, no se observaron diferencias significativas con OB ni HAT en la población total, ni estratificando por sexo (**Tabla 7**).

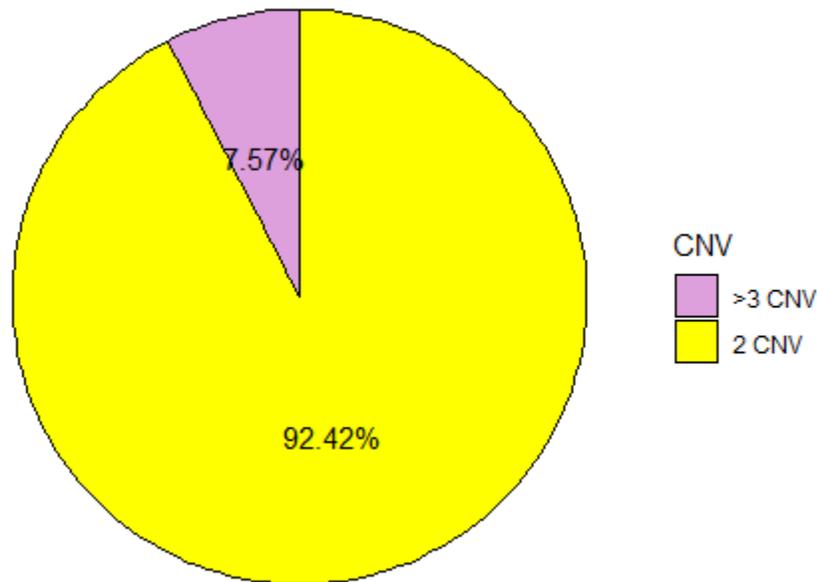


**Figura 6.** Frecuencia de la CNV esv27061 en población amerindia mexicana.

<b>Tabla 7.</b> Número relativo de copias de la CNV esv27061 en población amerindia mexicana.							
<i>Sobrepeso y obesidad</i>							
	PT	Peso normal	SP	OB	SP+OB		
H + M	1.97 (±0.16)	2.01 (±0.18)	1.96 (±0.16)	1.96 (±0.15)	1.96 (±0.15)	1.96 (±0.15)	1.96 (±0.15)
H	1.98 (±0.18)	2.02 (±0.21)	1.95 (±0.18)	2 (±0.15)	2 (±0.15)	1.97 (±0.17)	1.97 (±0.17)
M	1.96 (±0.15)	1.99 (±0.16)	1.97 (±0.14)	1.94 (±0.15)	1.94 (±0.15)	1.95 (±0.15)	1.95 (±0.15)
<i>Hipertensión</i>							
Sexo	PT	Sin HTA	HTA	Sin TAS	TAS	Sin TAD	TAD
H + M	1.97 (±0.16)	1.97 (±0.17)	1.96 (±0.16)	1.97 (±0.17)	1.96 (±0.15)	1.97 (±0.16)	0.16 (±0.16)
H	1.98 (±0.18)	1.99 (±0.19)	1.98 (±0.17)	2.01 (±0.19)	1.96 (±0.17)	1.97 (±0.19)	1.99 (±0.17)
M	1.96 (±0.15)	1.97 (±0.16)	1.95 (±0.14)	1.95 (±0.17)	1.96 (±0.13)	1.98 (±0.15)	1.94 (±0.15)
PT: población total; SB: sobrepeso; OB: obesidad; SP u OB: sobrepeso y obesidad aunada; H: hombres; M: mujeres; HTA: hipertensión; TAS: tensión arterial sistólica; TAD: tensión arterial diastólica. Remarcado en negritas: diferencia significativa.							

#### **7.4 CNV esv2758781, región que contiene a los genes *AL050403.2*, *AL158042.1*, *C20orf187* en la población amerindia mexicana**

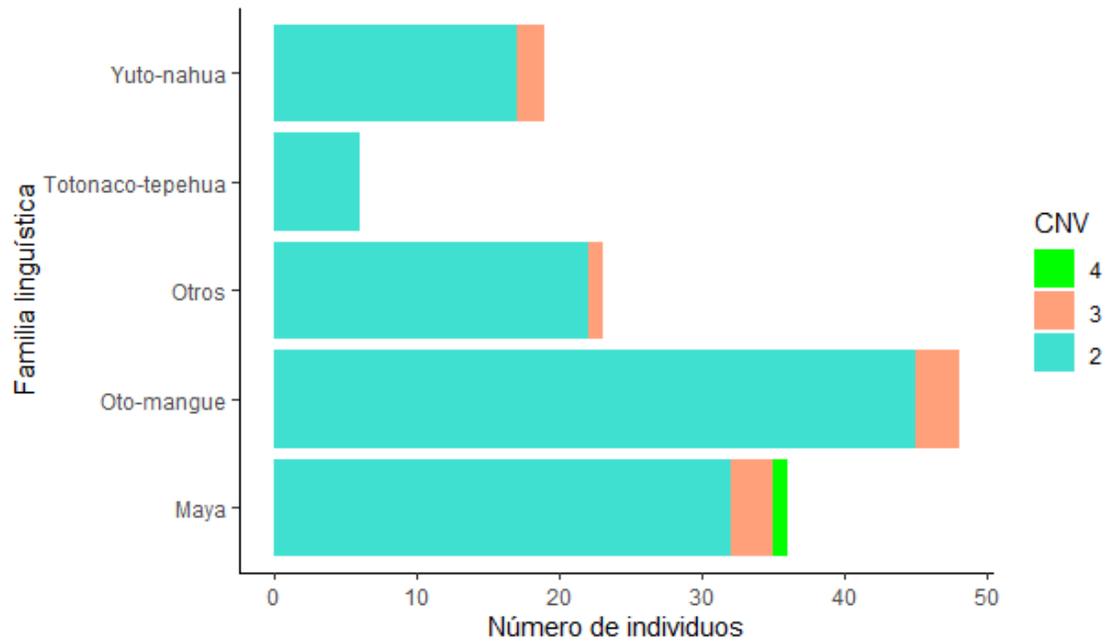
Esta región demostró tener una mayor variabilidad en la población amerindia, ya que encontramos que el 92.42% de todos los individuos tuvieron dos copias; mientras que el 7.57% (n=10) presentaron duplicaciones, de los cuales, se detectaron 9 individuos con 3 CNVs y solamente uno con 4 copias (**Figura 7**).



**Figura 7.** Frecuencia de la CNV esv27061 en población indígena mexicana.

De los individuos con  $\geq 3$  CNVs, 4 pertenecieron a la rama lingüística Maya, seguido por Oto-mangue ( $n=3$ ), Yuto-nahua ( $n=2$ ) y Seri ( $n=1$ ) (**Figura 8**); 6/10 individuos presentaron tanto alteraciones en el peso (SP= 5 y OB= 1) como HTA mientras que los otros 4 fueron controles para SP u OB e HTA (**Tabla 8**). También se observó la presencia de otros fenotipos, todos los individuos con duplicaciones presentaron al menos un factor de dislipidemia (triglicéridos/colesterol total/LDL elevados y/o colesterol-HDL bajo), además, 4 presentaron glucosa sérica elevada.

Estratificando a la población por sexo, se encontró que, en los varones, el 13% ( $n=6$ ) posee duplicaciones y en la población femenina, el 5% ( $n= 4$ ) presentó más de 3 CNVs.



**Figura 8.** Frecuencia de la CNV esv2758781 en población amerindia mexicana estratificado por rama lingüística. Otros: Chontal de Oaxaca, Huave, Mixe-zoque, NAT\_MA (declarado mestizo), Seri, Tarasca.

<b>Tabla 8.</b> Frecuencia de la CNV esv2758781 en la población amerindia mexicana.				
<i>Sobrepeso y obesidad</i>				
CNV	Controles (%)	SP (%)	OB (%)	Total (%)
2	31 (88.57)	53 (91.38)	38 (97.44)	122 (92.42)
≥3	4 (11.43)	5 (8.62)	1 (2.56)	10 (7.58)
Total	35	58	39	132
<i>Hipertensión</i>				
CNV	Controles (%)	HTA (%)	Total (%)	
2	56 (93.34)	66 (91.67)	122 (92.42)	
≥3	4 (6.66)	6 (8.33)	10 (7.58)	
Total	60	72	132	
CNV: variantes en el número de copias; SP: sobrepeso; OB: obesidad; HTA: hipertensión.				

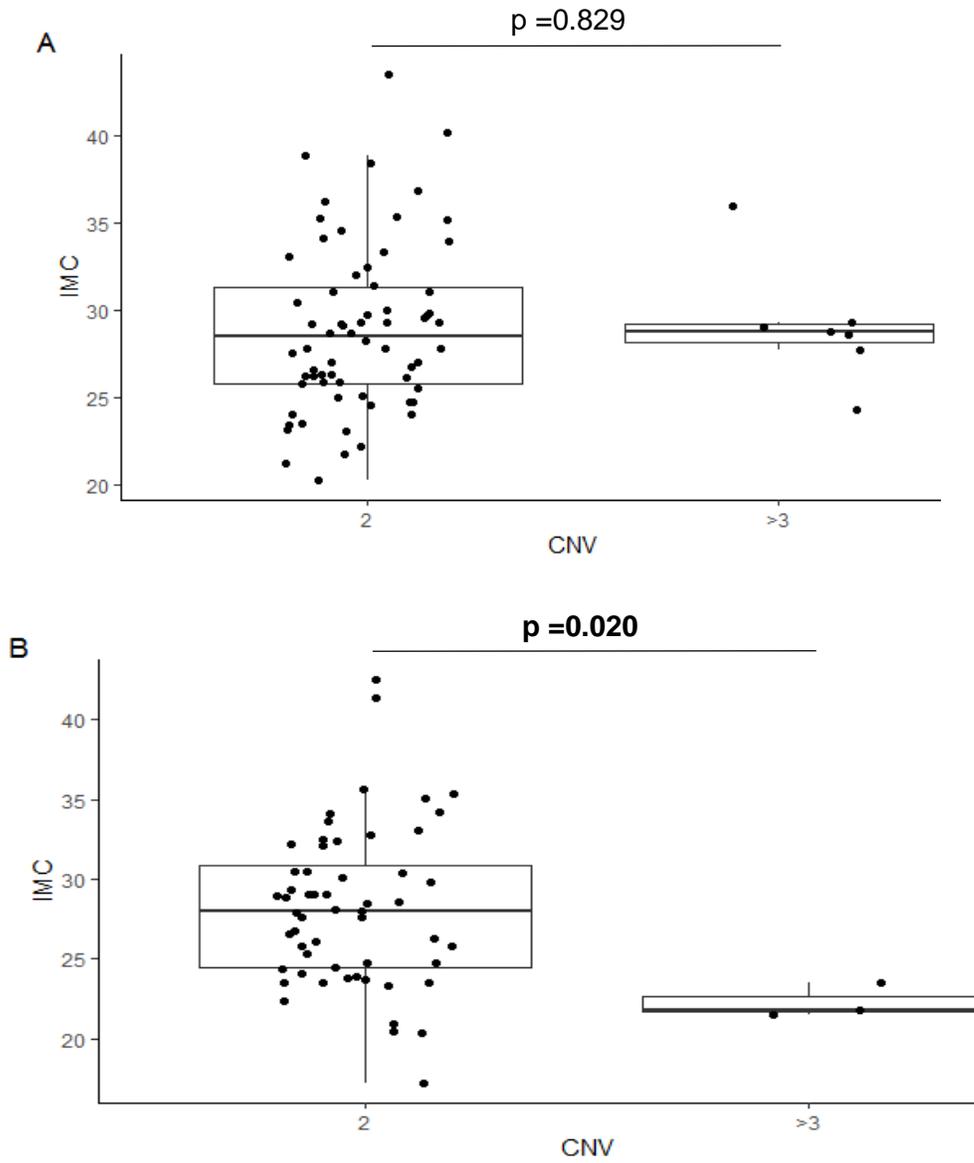
El análisis de asociación reveló que esta variante no tiene impacto en los fenotipos de SP u OB (OR=0.73, IC95%=0.16-3.99, p= 0.72, OR=0.21, IC95%=0.01-2.24, p=0.18, respectivamente), ni de HTA (OR=1.97, IC95%=0.42-12.36, p=0.51, OR=2.73, IC95%=0.60-17.11, p=0.19, OR=1.27, IC95%=0.28-6.44, p=0.75, respectivamente) (**Tabla 9**). Al realizar el análisis de copias relativas tampoco se encontró relación entre éstas y la etiología de OB e HTA.

En un segundo estudio, se analizó la población con ambas enfermedades metabólicas, es decir, los que presentaron HTA y SP/OB. Sin embargo, bajo este análisis, no se observó asociación (OR=0.49, IC95%= 0.09-2.22, p=0.33).

<b>Tabla 9.</b> Asociación de la CNV esv2758781 en obesidad e hipertensión en la población amerindia.					
Fenotipo	Tipo de CNV	Obesidad		OR/ $\beta$ (IC95%)	<i>p</i>
		Controles (n)	Casos (n)		
Sobrepeso	Ganancia	4	5	OR=0.73 (0.16-3.99)	0.72
Obesidad		4	1	OR=0.21 (0.01-2.24)	0.18
SP + OB		4	6	OR=0.51 (0.11-2.64)	0.46
IMC (kg/m <sup>2</sup> )		-	-	$\beta$ = -1.56 (-4.71-1.60)	0.33
Fenotipo	Tipo de CNV	Hipertensión		OR/ $\beta$ (IC95%)	<i>p</i>
		Controles (n)	Casos (n)		
HTA Total	Ganancia	2	8	OR=1.97 (0.42-12.36)	0.51
TA-S elevada		2	8	OR=2.73 (0.60-17.11)	0.19
TA-D elevada		4	6	OR=1.27 (0.28-6.44)	0.75
TA-S (mmHg)		-	-	$\beta$ =6.84 (-10.92-24.61)	0.45
TA-D(mmHg)		-	-	$\beta$ =1.96 (-5.82-9.75)	0.62
SP: sobrepeso, OB: obesidad; IMC: índice de masa corporal; HTA: hipertensión; TA-S: tensión arterial sistólica; TA-D: tensión arterial diastólica.					

Al comparar el número de copias (2CNV vs  $\geq 3$ CNV) entre individuos con y sin HTA, se encontró que en el grupo sin HTA que los individuos con  $\geq 3$ CNVs presentaban una mediana de IMC significativamente menor que los que poseen 2CNVs ( $21.81 \text{ kg/m}^2$  vs  $28.02 \text{ kg/m}^2$ ,  $p= 0.02$ , (**Figura 9B**), esto no se observó en los individuos controles (**Figura 9A**), lo que sugiere que el incremento en el número de copias de esta región podría estar relacionada con una disminución en el IMC únicamente en los individuos sin HTA.

Esta misma tendencia se observó en los individuos controles de TA-S y TA-D, es decir, la población con más de 3CNVs presentaba también un IMC menor a los del genotipo 2 CNVs ( $21.81 \text{ kg/m}^2$  vs  $27.93 \text{ kg/m}^2$ ,  $p= 0.02$ ;  $22.67 \text{ kg/m}^2$  vs  $28.02 \text{ kg/m}^2$ ,  $p= 0.015$ , respectivamente).



**Figura 9.** Análisis del número de CNVs en función al IMC en población amerindia. A: población con hipertensión; B: población sin hipertensión.  $P < 0.05$ , Wilcoxon test.

## VIII. Discusión

Las EM tales como la OB e HTA son problemas de salud pública a nivel mundial, por su elevada prevalencia y porque son factores de riesgo para ECV, que, de acuerdo con la OMS, son la principal causa de muerte en el mundo. Se estima que el costo para el tratamiento de ECV es anualmente de 863 mil millones de dólares al año y en México, se calcula que tan solo entre el año 2010 y 2030 se prevé un gasto de 30 billones de dólares para el tratamiento de enfermedades no transmisibles, lo cual representaría el 48% del PIB (producto interno bruto) (Narro-Robles, 2018).

Tanto la OB como la HTA son enfermedades multifactoriales, donde los factores genéticos juegan un papel muy importante en su desarrollo y gracias a los avances tecnológicos se han logrado identificar variantes genéticas estrechamente relacionadas con la susceptibilidad de estas entidades. Por mencionar algunos ejemplos, el estudio del genoma completo (GWAS, del inglés: *genome wide association studies*) ha permitido asociar variantes como los SNVs con el riesgo o protección de EM como la OB e HTA y actualmente se han caracterizado aproximadamente 750 loci asociados a OB y 120 a HTA (Loscalzo, 2019; Sun et al., 2020). A pesar del amplio conocimiento genético que se ha generado en relación a los SNVs, las CNVs tienen un mayor impacto en el fenotipo, ya que al ser segmentos largos (>1kb) conllevan a una mayor probabilidad de afectar la expresión de un gen (Saitou & Gokcumen, 2020).

### **8.1 CNV esv3586400 (región que abarca al gen *NEGR1*)**

Dentro de los genes que se han caracterizado que pueden tener un papel en la etiología de EM está *NEGR1*, este gen se encuentra en el cromosoma 1, codifica para el regulador de crecimiento neuronal 1, que es un miembro de la súper familia de inmunoglobulinas relacionada con adhesión celular (Singh et al., 2018). Se expresa principalmente en tejidos del cerebro (corteza frontal, corteza cingulada anterior, hipotálamo, etc.); pero también en otros tejidos como son en el adiposo visceral/subcutáneo, las arterias (aorta, coronaria y tibial) y del riñón (GTEx Portal, 2021).

El gen *NEGR1* se encuentra contenido en la CNV esv3586400 que mide aproximadamente 879,908 pb. De acuerdo a la base de datos de variantes genómicas (DGV, del inglés *Database of Genomic Variants*), en población europea, se ha reportado una frecuencia del 0.03% de ganancias en esta región; mientras que, en población infantil mexicana, Antúnez-Ortiz et al., (2017) reporta que el 21.3% presenta deleciones y 29.5% duplicaciones. Ambas frecuencias fueron muy diferentes a lo observado en este estudio, ya que nosotros no observamos duplicaciones, pero sí deleciones. A pesar de que solo en 2 individuos indígenas observamos estas deleciones, estas diferencias posiblemente están dadas por el diferente origen genético de la población mexicana, por lo que es necesario incrementar el número de individuos estudiados con la finalidad de conocer la presencia y la frecuencia de esta deleción en la población indígena mexicana.

*NEGR1* al ser un gen que se expresa principalmente en el tejido neural, influye directamente en el control de la ingesta de alimentos y gasto energético. Un estudio

que apoya la importancia de *NEGR1* en la etiología de la obesidad, fue el realizado en niños ingleses, donde se observó que las deleciones de aproximadamente 8kb río arriba de *NEGR1* se asociaron con a la protección de obesidad a una edad temprana (OR=0.70, IC95%= 0.60–0.82; p= 6.93x10<sup>-6</sup>) (Wheeler et al., 2013). Esta misma región fue estudiada en niños mexicanos, en este trabajo se encontraron tanto deleciones como duplicaciones y únicamente las ganancias en esta región demostraron tener un efecto sobre el fenotipo, ya que esta variante fungió como protectora para obesidad central (OR=0.76, IC95%= 0.59–0.97, p= 0.029), para disminución en el IMC ( $\beta$ =-0.64kg/m<sup>2</sup>, IC95%= -1.10--0.19, p=0.006) y circunferencia de cintura ( $\beta$ =-2.03cm, IC95%= -3.24--0.83, p=0.001) (Antúñez-Ortiz et al., 2017). El estudio anterior, fue realizado en población infantil residente en la CDMX y el nuestro en adultos amerindios, lo que podría explicar las diferencias en los resultados, ya que la población infantil seguramente es principalmente mestiza y es probable que aquellos niños sin OB la puedan desarrollar en la vida adulta. En nuestro trabajo se incluyeron únicamente individuos adultos, se encontraron dos mujeres con deleciones en esta región y solo una de ellas tenía SP, lo que indica que el rol de esta CNV en el desarrollo de OB en población amerindia no es certero y es necesario realizar más estudios para corroborarlo.

Interesantemente, en este trabajo se observó que esta región presentó diferencias significativas entre las medianas de copias relativas de los individuos con HTA, TA sistólica y TA diastólica (2 vs 1.94, p=0.008; 2 vs 1.95, p=0.007; 2 vs 1.94, p=0.01, respectivamente), lo que sugiere que esta región podría estar involucrada en la etiología de la HTA y es necesario profundizar en este conocimiento.

Con relación a la SNV rs3101336 en el gen *NEGR1*, existe un estudio realizado en adultos con alto riesgo cardiovascular. Se encontró que los participantes con los genotipos GG o GA presentaron una media de TA sistólica ( $147\pm 20$  y  $147\pm 20$ ) y diastólica encima de los valores de referencia ( $84\pm 11$  y  $82\pm 11$ ) (Godoy et al., 2012). Actualmente no se han reportado más estudios donde relacionen variantes de *NEGR1* con TA, sin embargo, su papel biológico se encuentra ligado a la vasoconstricción. El regulador de crecimiento neuronal 1, está altamente expresado en las dendritas de las neuronas magnocelulares hipotalámicas, las cuales sintetizan a la arginina vasopresina (AVP) y oxitocina (Joo et al., 2019). La AVP, también conocida como hormona antidiurética, al ser liberada al plasma se une a sus receptores V1a, V1b y V2, los receptores V1a se encuentran principalmente en las paredes de los vasos sanguíneos, la unión de la AVP a este receptor provoca vasoconstricción, por lo que la TA aumenta. En condiciones normales, este mecanismo se activa cuando la TA es baja, debido a su propiedad vasoconstrictora y es un mecanismo hábil para elevar la TA rápidamente (Demiselle et al., 2020).

Nuestros resultados sugieren que deleciones de una CNV en la región que incluye *NEGR1* pudieran alterar la función del gen y este a su vez influir en la tensión arterial de los individuos, por lo que es necesario realizar y profundizar en este gen y su relación con HTA en la población mexicana.

## **8.2 CNV esv27061 (región que abarca a los genes: *LRP8*, *CAPZA1*, *CTTNBP2NL*, *DKFZp547A023*, *MOV10*, *RHOC*, *ST7L*, *WNT2B*, *SnoU13* y *MIR4256*)**

En este trabajo, también investigamos el rol de la CNV esv27061 con OB e HTA. Esta región incluye varios genes como son: *LRP8*, *CAPZA1*, *CTTNBP2NL*, *DKFZp547A023*, *MOV10*, *RHOC*, *ST7L*, *WNT2B*, *SnoU13* y *MIR4256*. Se encontró que la mayoría de la población indígena posee 2 CNVs (99.5%), con excepción de un individuo que presentó 3 CNVs (0.5%). Las frecuencias observadas fueron diferentes a las reportadas para la población europea, ya que, en esta población, la mayoría de los individuos presentan  $\geq 3$  CNVs, lo que representa un 65%, seguido por el 28% con 2 CNVs y un 7% con deleciones (1CNV). Hasta la fecha, esta región no ha sido estudiada en población mexicana.

El rol de esta CNV no ha sido estudiado en OB en otras poblaciones y nuestros resultados no mostraron que esta CNV estuviera implicada con obesidad en la población amerindia mexicana.

Por otro lado, esta región fue previamente estudiada en población con ancestría europea, donde se reportó que la mayor frecuencia de deleciones estuvieron presentes el grupo de TA extremadamente alta a diferencia de los individuos con TA extremadamente baja (n=12, 12.6% y n=2, 2.2%), además, esta variante demostró tener influencia en el fenotipo, incrementando la TA ( $\beta=0.05$ , IC95%= 0.005–0.53,  $p=0.01$ ) (Marques et al., 2014). Dado que en nuestro estudio solo un individuo mostró 3 CNVs y no presentaba ni OB ni HTA, es difícil obtener

conclusiones, por lo que sugerimos incrementar la muestra para obtener más información sobre la frecuencia de esta CNV en nuestra población.

Estudios con SNV en adolescentes africanos, reveló que los individuos con el alelo de riesgo (A) en la SNV rs2932538 (la cual es parte de la CNV esv27061), se asoció con una TA sistólica elevada ( $\beta=0.15$ , error estándar= 0.80,  $p= 8.6 \times 10^{-1}$ ) y TA diastólica baja ( $\beta=-0.25$ , error estándar= 0.70,  $p=3.6 \times 10^{-1}$ ) (Lule et al., 2019). Por nuestra parte, al analizar las medias de copias relativas en población con HTA o con TA sistólica/diastólica elevada, no encontramos diferencia entre estos grupos, por lo que no se encontró evidencia que esta CNV pueda influir en la TA en la población indígena mexicana.

### **8.3 CNV esv2758781 (región que abarca a los genes: *AL050403.2*, *AL158042.1*, *C20orf187*)**

Finalmente, en este trabajo también analizamos a la CNV esv2758781, esta CNV mide 224,587pb y abarca a los genes *AL050403.2*, *AL158042.1*, *C20orf187*. En este trabajo, se encontró que la mayoría de los participantes tienen 2 copias en esta región (92.42%,  $n=122$ ), mientras que el 7.57% presentó duplicaciones (3CNVs=9 y 4CNVs=1), lo que difiere de la población europea, ya que en ella se ha reportado que el 2.2% de esta población presenta deleciones y no reportan individuos con duplicaciones. Esta región no ha sido reportada en ninguna otra población más que la europea.

En el análisis de asociación y el número de copias relativo no evidenció una correlación con OB e HTA. De acuerdo con el único reporte de CNVs y su relación con HTA, en población europea esta CNV tampoco se asoció al riesgo/protección

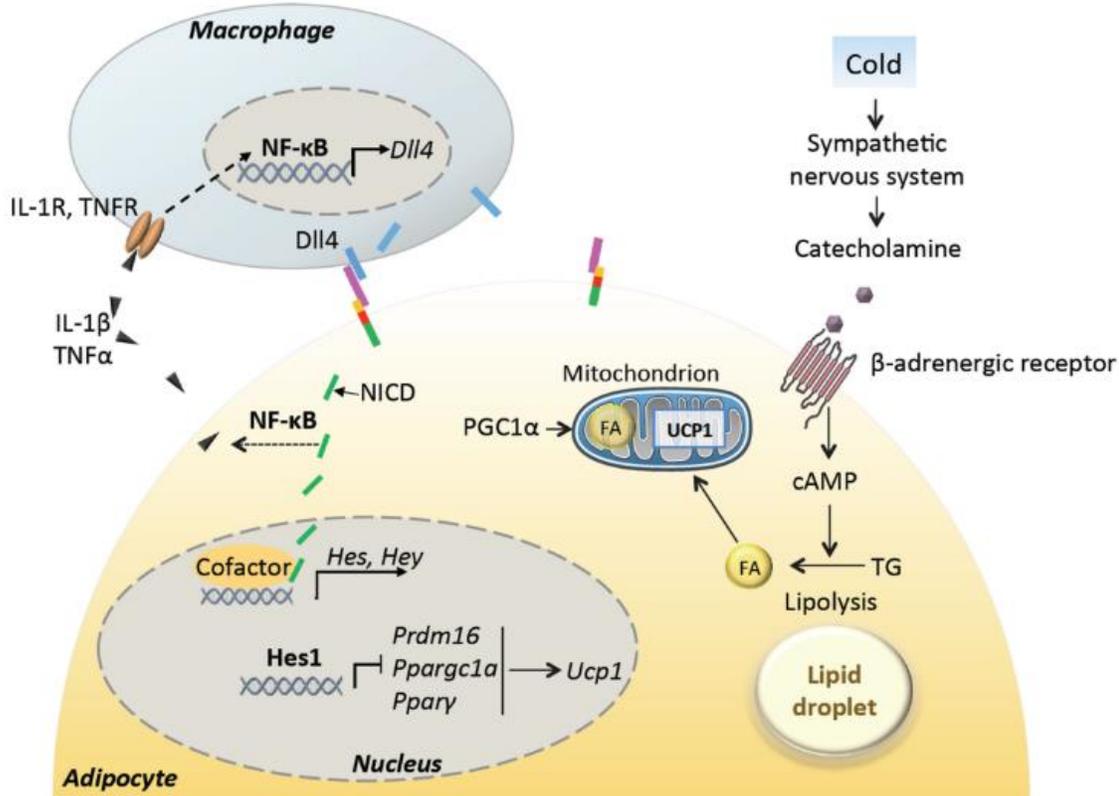
de desarrollar esta entidad metabólica (Marques et al., 2014). Esta región pudiera estar implicada con HTA, ya que se han encontrado variantes de riesgo en esta región, por ejemplo, en un estudio de GWAS en adolescentes con ascendencia africana, se demostró que el alelo de riesgo (A) de la SNV rs1327235 (el cuál se encuentra dentro de la CNV esv2758781), se relaciona a una TA-S baja ( $\beta=-0.03$ , error estándar= 0.59,  $p=9.6 \times 10^{-1}$ ) (Lule et al., 2019).

En un segundo análisis, dividimos a nuestra población por casos y controles de HTA, de acuerdo a su genotipo (2CNVs vs  $\geq 3$ CNV). Interesantemente, en el grupo control de HTA, TA-S y TA-D, los individuos con duplicaciones ( $\geq 3$  CNVs) presentaron un IMC menor que los individuos con 2 copias (21.81 kg/m<sup>2</sup> vs 28.02 kg/m<sup>2</sup>,  $p= 0.02$ ; 21.81 kg/m<sup>2</sup> vs 27.93 kg/m<sup>2</sup>,  $p= 0.02$ ; 22.67 kg/m<sup>2</sup> vs 28.02 kg/m<sup>2</sup>,  $p= 0.015$ , respectivamente). Dado lo anterior, es importante continuar con estudios de esta región en población amerindia mexicana, ya que por el número de individuos que estudiamos es probable que no estemos observando estas asociaciones.

Hasta la fecha, se sabe que *C20orf18* puede estar involucrado en la expresión de otros genes como son: *JAG1* (proteína jag 1), *LINC02871*, *ENSG00000270792*, *Inc-MKKS-12*, *Inc-SLX4IP-1*, *Inc-SLX4IP-3* y *SLX4IP* (proteína SLX4IP) (<https://www.genecards.org>). De estos, la mayoría no se han descrito que tengan alguna relación con la etiología de EM, se ha estudiado el papel de *JAG1* con el desarrollo de HTA y OB. El gen *JAG1* se localiza en el cromosoma 20, codifica para la proteína jag 1 y sirve como ligando de diferentes receptores Notch. La vía de señalización Notch tiene un rol importante en diferentes procesos, especialmente

en desarrollo embrionario, diferenciación, morfogénesis vascular, angiogénesis, remodelación vascular después de una lesión y transducción de señales célula-célula (Kopan & Ilagan, 2010).

El papel de la vía Notch en la OB se origina en que esta vía regula la termogénesis en adipocitos. En un ambiente frío, dentro del adipocitos, los ácidos grasos activan a la proteína desacoplante 1 (UCP1) para la producción de calor. El blanco de Notch en este caso es el gen *HES1*, el cual se une a la región promotora de *PRDM16*, *PRGC1* y *PPARγ* e inhibe su transcripción, esto provoca la reducción mitocondrias en el adipocito y la expresión de *UCP1*. Notch también estimula tanto la activación como la producción de citosinas proinflamatorias mediadas por el factor nuclear kappa B (NF-KB), este atrae macrófagos, lo cual deriva a un proceso inflamatorio (el cual condice a OB) y exagera la resistencia a la insulina (**Figura 10**).



**Figura 10.** Vía de señalización Notch y su relación con la termogénesis en adipocitos. Tomado de (Bi & Kuang, 2015)

En cuanto a HTA, recientemente se estudió a la SNV rs1327235 en población europea con apnea del sueño y se encontró que los individuos con el genotipo homocigoto para el riesgo (AA) tenían una TA sistólica y diastólica más elevadas en comparación al grupo con el genotipo GG/AG (132mm Hg± 19 vs 129 mm Hg ± 18, p=0.009; 85 mm Hg ± 11 vs 83 mm Hg ± 10, p=0.004, respectivamente) (Paraničova et al., 2019).

## IX. Conclusiones

- Las frecuencias de las 3 CNVs estudiadas son diferentes a las reportadas en europeos, muy probablemente por diferencias en el componente genético.
- El incremento de las copias relativas de la CNV esv3586400 (región que involucra al gen *NEGR1*), sugiere que esta región podría estar relacionada con el incremento de la TA en amerindios mexicanos.
- La CNV esv27061, la cual abarca los genes: *LRP8*, *CAPZA1*, *CTTNBP2NL*, *DKFZp547A023*, *MOV10*, *RHOC*, *ST7L*, *WNT2B*, no tiene asociación con OB e HTA en población indígena mexicana.
- En la CNV esv2758781 (la cual incluye a los genes *AL050403.2*, *AL158042.1*, *C20orf187*), la población maya presentó mayor número de individuos con duplicaciones, lo que sugiere que posiblemente esta variante se originó en este grupo indígena.
- Las duplicaciones de la CNV esv2758781 (la cual incluye a los genes *AL050403.2*, *AL158042.1*, *C20orf187*), observadas en individuos sin HTA sugieren que esta CNV pudiera tener una relación con obesidad en individuos sin HTA.

## X. Referencias

- Albuquerque, D., Nóbrega, C., Manco, L., & Padez, C. (2017). The contribution of genetics and environment to obesity. *Br. Med. Bull.*, 123(1), 159–173. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldx022>
- Antúnez-Ortiz, D. L., Flores-Alfaro, E., Burguete-García, A. I., Bonnefond, A., Peralta-Romero, J., & et al. (2017). Copy Number Variations in Candidate Genes and Intergenic Regions Affect Body Mass Index and Abdominal Obesity in Mexican Children. *Biomed Res. Int*, 2017, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2017/2432957>
- Applied Biosystems. (2011a). *CopyCaller® Software User Guide*. 4400042.
- Applied Biosystems. (2011b). *CopyCaller® Software User Guide* (Issue 4400042).
- Asociación Americana del Corazón. (2017). *Understanding Blood Pressure Readings*. <https://www.heart.org/en/health-topics/high-blood-pressure/understanding-blood-pressure-readings>
- Bi, P., & Kuang, S. (2015). Notch signaling as a novel regulator of metabolism. *Trends Endocrinol. Metab.*, 26(5), 248–255. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2015.02.006>
- Boon-Peng, H., Jusoh, J. A. M., Marshall, C. R., Majid, F., Danuri, N., & et al. (2016). Rare copy number variants identified suggest the regulating pathways in hypertension-related left ventricular hypertrophy. *PLoS ONE*, 11(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148755>
- Cid-Soto, M. A., Martínez-Hernández, A., García-Ortíz, H., Córdova, E. J., Barajas-Olmos, F., & et al. (2018). Gene variants in AKT1, GCKR and SOCS3 are differentially associated with metabolic traits in Mexican Amerindians and Mestizos. *Gene*, 679, 160–171. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.08.076>
- Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social. (2018). *Pobreza en la Población Indígena*. [https://www.coneval.org.mx/Medicion/MP/Paginas/Pobreza\\_Indigena.aspx](https://www.coneval.org.mx/Medicion/MP/Paginas/Pobreza_Indigena.aspx)
- Demiselle, J., Fage, N., Radermacher, P., & Asfar, P. (2020). Vasopressin and its analogues in shock states: a review. *Ann. Intensive Care*, 10(9), 1–7. <https://doi.org/10.1186/s13613-020-0628-2>
- Dommarco-Rivera, J., Colchero, A., Fuentes, M. L., Gonzales, T., Aguilar-Salinas, C. A., Hernandez-Licona, G., & Barquera, S. (2018). Obesidad en México. In *Obesity in Mexico. State Public Policy and Recommendations for Prevention and Control*. (Vol. 27, Issue 43).
- Dunnen, J. T., Dalgleish, R., Maglott, D. R., Hart, R. K., Greenblatt, M. S., & et al. (2016). HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants: 2016 Update. *Hum. Mutat.*, 37(6), 564–569. <https://doi.org/10.1002/humu.22981>

- Eichler, E. E. (2019). Genetic Variation, Comparative Genomics, and the Diagnosis of Disease. *N Engl J Med*, 381(1), 64–74. <https://doi.org/10.1056/nejmra1809315>
- Falchi, M., Moustafa, J. S. E., Takousis, P., Pesce, F., Bonnefond, A., & et al. (2014). Low copy number of the salivary amylase gene predisposes to obesity. *Nat Genet*, 46(5), 492–497. <https://doi.org/10.1038/ng.2939>
- Godoy, D., Sorlí, J., Coltell, O., Portelés, O., & Corella, D. (2012). Modulation by the mediterranean diet of the associations between RAPGEF1 and NEGR1 polymorphisms and blood pressure in a high cardiovascular risk mediterranean population. *J. Hypertens*, 37–38. <https://doi.org/10.1097/01.hjh.0000419946.47688.ee>
- González-Herrera, L., Zavala-Castro, J., Ayala-Cáceres, C., Pérez-Mendoza, G., López-González, M. J., & et al. (2018). Genetic variation of FTO: rs1421085 T>C, rs8057044 G>A, rs9939609 T>A, and copy number (CNV) in Mexican Mayan school-aged children with obesity/overweight and with normal weight. *Am J Hum Biol.*, 31(1), 1–13. <https://doi.org/10.1002/ajhb.23192>
- GTEx Portal. (2021). *Gene Page: NEGR1*. <https://www.gtexportal.org/home/gene/NEGR1>
- Hovhannisyan, G., Harutyunyan, T., Aroutiounian, R., & Liehr, T. (2019). DNA Copy Number Variations as Markers of Mutagenic Impact. *Int. J. Mol. Sci.*, 20(19), 4723. <https://doi.org/10.3390/ijms20194723>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2015). *Población en México*. <https://www.inegi.org.mx/temas/estructura/>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2020). *Resultados del censo de población y vivienda 2020 Nacional*. <http://censo2020.mx/>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2021). *Comunicado de prensa núm. 61*. <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2016/2016-cha-epidemiological-calendar.pdf>
- Jeon, J. P., Shim, S. M., Nam, H. Y., Ryu, G. M., Hong, E. J., & et al. (2010). Copy number variation at leptin receptor gene locus associated with metabolic traits and the risk of type 2 diabetes mellitus. *BMC Genom.*, 11(1), 2–10. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-426>
- Joo, Y., Kim, H., Lee, S., & Lee, S. (2019). Neuronal growth regulator 1-deficient mice show increased adiposity and decreased muscle mass. *Int. J. Obes.*, 43(9), 1769–1782. <https://doi.org/10.1038/s41366-019-0376-2>
- Kayima, J., Liang, J., Natanzon, Y., Nankabirwa, J., Ssinabulya, I., & et al. (2017). Association of genetic variation with blood pressure traits among east africans. *Clin. Genet.*, 92(5), 487–494. <https://doi.org/10.1111/cge.12974>
- Kopan, R., & Ilagan, M. X. G. (2010). The Canonical Notch Signaling Pathway: Unfolding the Activation Mechanism. *Cell*, 137(2), 216–233.

<https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.03.045>

- León-Mimila, P., Villamil-Ramírez, H., López-Contreras, B. E., Morán-Ramos, S., Macias-Kauffer, L. R., Acuña-Alonzo, V., & et al. (2018). Low Salivary Amylase Gene (AMY1) Copy Number Is Associated with Obesity and Gut Prevotella Abundance in Mexican Children and Adults. *Nutrients*, 10(11), 1–12. <https://doi.org/10.3390/nu10111607>
- Lisker, R., Perez-Briceño, R., Granados, J., Babinsky, V., de Rubens, J., & et al. (1986). Gene frequencies and admixture estimates in a Mexico City population. *Am. J. Phys. Anthropol.*, 71(2), 203–207. <https://doi.org/10.1002/ajpa.1330710207>
- Loscalzo, J. (2019). A New Paradigm for Diagnosis and Management of Hypertension. *Circ. Res.*, 124(7), 987–989. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.119.314403>
- Lule, S. A., Mentzer, A. J., Namara, B., Muwenzi, A. G., Nassanga, B., & et al. (2019). A genome-wide association and replication study of blood pressure in Ugandan early adolescents. *Mol. Genet. Genomic. Med.*, 7(10), 1–18. <https://doi.org/10.1002/mgg3.950>
- Macé, A., Tuke, M. A., Deelen, P., Kristiansson, K., Mattsson, H., & et al. (2017). CNV-association meta-analysis in 191,161 European adults reveals new loci associated with anthropometric traits. *Nat. Commun.*, 8(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00556-x>
- Malo-Serrano, M., Castillo-M., N., & Pajita-D., D. (2017). La obesidad en el mundo. *An. Fac. Med.*, 78(2), 173–178. <https://doi.org/10.15381/anales.v78i2.13213>
- Marques, F. Z., Prestes, P. R., Pinheiro, L. B., Scurrah, K., Emslie, K. R., & et al. (2014). Measurement of absolute copy number variation reveals association with essential hypertension. *BMC Med. Genomics.*, 7(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/1755-8794-7-44>
- Mendoza-Caamal, E. C., Barajas-Olmos, F., Garcíá-Ortiz, H., Cicerón-Arellano, I., Martínez-Hernández, A., & et al. (2020). Metabolic syndrome in indigenous communities in Mexico: A descriptive and cross-sectional study. *BMC Public Health*, 20(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12889-020-8378-5>
- Mills, K. T., Stefanescu, A., & He, J. (2020). The global epidemiology of hypertension. *Nat. Rev. Nephrol.*, 16(4), 223–237. <https://doi.org/10.1038/s41581-019-0244-2>
- Narro-Robles, J. (2018). *Enfermedades No Transmisibles Situación y Propuestas de Acción: Una Perspectiva desde la Experiencia de México* (Primera Ed). Secretaría de Salud.
- Organización de las Naciones Unidas. (2014). *Departamento de Asuntos Económicos y Sociales Pueblos Indígenas: Salud*. <https://www.un.org/development/desa/indigenous-peoples-es/areas-de->

trabajo/salud.html

- Organización Mundial de la Salud. (2018a). *ENT Perfiles de países, México*. [https://www.who.int/nmh/countries/mex\\_es.pdf?ua=1%0A](https://www.who.int/nmh/countries/mex_es.pdf?ua=1%0A)
- Organización Mundial de la Salud. (2018b). *Las 10 principales causas de defunción*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
- Organización Mundial de la Salud. (2018c). *Obesidad y sobrepeso*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- Orozco, L., Martínez-Hernández, A. G., & Barajas-Olmos, F. (2014). Genómica de las enfermedades metabólicas. *Rev. Dig. Univ.*, 15, 1–15.
- Paraničova, I., Habalová, V., Klimčakova, L., Trojova, I., Židzik, J., & et al. (2019). Association of JAG1 gene polymorphism with systemic blood pressure in patients with obstructive sleep apnea: A prospective cohort study. *Croat. Med. J.*, 60(5), 421–430. <https://doi.org/10.3325/cmj.2019.60.421>
- Passarge. (2007). *Genética: texto y atlas* (3ra ed.). Panamericana.
- Pettersson, M., Viljakainen, H., Loid, P., Mustila, T., Pekkinen, M., & et al. (2017). Copy number variants are enriched in individuals with early-onset obesity and highlight novel pathogenic pathways. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 102(8), 3029–3039. <https://doi.org/10.1210/jc.2017-00565>
- Saitou, M., & Gokcumen, O. (2020). An Evolutionary Perspective on the Impact of Genomic Copy Number Variation on Human Health. *J. Mol. Evol.*, 88(1), 104–119. <https://doi.org/10.1007/s00239-019-09911-6>
- Saldaña-Alvarez, Y., Salas-Martínez, M. G., García-Ortiz, H., Luckie-Duque, A., García-Cárdenas, G., & et al. (2016). Gender-dependent association of FTO polymorphisms with body mass index in Mexicans. *PLoS ONE*, 11(1), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145984>
- Savory, K., Manivannan, S., Zaben, M., Uzun, O., & Syed, Y. A. (2020). Impact of copy number variation on human neurocognitive deficits and congenital heart defects: A systematic review. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, 108, 83–93. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.10.020>
- Selvaraju, V., Venkatapoorna, C. M. K., Babu, J. R., & Geetha, T. (2020). Salivary Amylase Gene Copy Number Is Associated with the Obesity and Inflammatory Markers in Children. *Diabet. Metab. Syndr. Ob.*, Volume 13, 1695–1701. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S251359>
- Shamah-Levy, T., Campos-Nonato, I., Cuevas-Nasu, L., Hernández-Barrera, L., Morales-Ruán, M. del C., & et al. (2019). Sobrepeso y obesidad en población mexicana en condición de vulnerabilidad. Resultados de la Ensanut 100k. *Salud Publ. Mex.*, 61(6), 852–865. <https://doi.org/10.21149/10585>
- Shamah-Levy, T., Vielma-Orozco, E., Heredia-Hernández, O., Romero-Martínez,

- M., Mojica-Cuevas, J., & et al. (2019). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018-19: Resultados Nacionales* (Vol. 53). Instituto Nacional de Salud Pública, 2020.
- Singh, K., Loreth, D., Pöttker, B., Hefti, K., Innos, J., & et al. (2018). Neuronal growth and behavioral alterations in mice deficient for the psychiatric disease-associated *negr1* gene. *Front. Mol. Neurosci.*, *11*(30), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00030>
- Sun, C., Kovacs, P., & Guiu-Jurado, E. (2020). Genetics of Obesity in East Asians. *Front. Genet.*, *11*(575049), 1–16. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.575049>
- Thermo Fisher Scientific. (2010). *NanoDrop Nucleic Acid Handbook*.
- Thermo Fisher Scientific. (2020). *Absolute vs. Relative Quantification for qPCR*. <https://www.thermofisher.com/mx/es/home/life-science/pcr/real-time-pcr/real-time-pcr-learning-center/real-time-pcr-basics/absolute-vs-relative-quantification-real-time-pcr.html>
- Wheeler, E., Huang, N., Bochukova, E. G., Keogh, J. M., Lindsay, S., & et al. (2013). Genome-wide SNP and CNV analysis identifies common and low-frequency variants associated with severe early-onset obesity. *Nat. Genet.*, *45*(5), 513–517. <https://doi.org/10.1038/ng.2607>
- Zhang, D., Li, Z., Wang, H., Yang, M., Liang, L., & et al. (2015). Interactions between Obesity-Related Copy Number Variants and Dietary Behaviors in Childhood Obesity. *Nutrients*, *7*(4), 3054–3066. <https://doi.org/10.3390/nu7043054>



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

# ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00224

Matrícula: 2183801525

Variantes en el número de copias (CNVs) y su asociación con entidades metabólicas en población amerindia mexicana



DIANA CRISTINA MORENO ENTZIN  
ALUMNA

REVISÓ

MTRA. ROSALIA SERRANO DE LA PAZ  
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

Con base en la Legislación de la Universidad Autónoma Metropolitana, en la Ciudad de México se presentaron a las 18:00 horas del día 19 del mes de abril del año 2021 POR VÍA REMOTA ELECTRÓNICA, los suscritos miembros del jurado designado por la Comisión del Posgrado:

DR. HECTOR FERNANDO SERRANO  
DRA. ELSA CERVANTES RIOS  
DR. HUMBERTO GARCIA ORTIZ  
DR. FEDERICO CENTENO CRUZ

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretario el último, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRA EN BIOLOGIA EXPERIMENTAL

DE: DIANA CRISTINA MORENO ENTZIN

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

## Aprobar

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CBS

DRA. SARA LUCIA CAMARGO RICALDE

PRESIDENTE

DR. HECTOR FERNANDO SERRANO

VOCAL

DRA. ELSA CERVANTES RIOS

VOCAL

DR. HUMBERTO GARCIA ORTIZ

SECRETARIO

DR. FEDERICO CENTENO CRUZ

El presente documento cuenta con la firma –auténtica, escaneada o digital, según corresponda- del funcionario universitario competente, que certifica que las firmas que aparecen en esta acta – Temporal, digital o dictamen- son auténticas y las mismas que usan los c.c. profesores mencionados en ella