

## Variante rs628031 en el gen *SLC22A1* y su asociación con síndrome metabólico en mujeres guerrerenses

### Variant of the rs628031 in the *SLC22A1* gene and its association with metabolic syndrome in Guerrero women

GARCÍA-AGUIRRE, Brenda Lissette\*†, RESENDIZ-ABARCA, Carlos Alberto, ZUBILLAGA-GUERRERO, Ma. Isabel, CAHUA-PABLO, José Ángel y FLORES-ALFARO, Eugenia

Universidad Autónoma de Guerrero

ID 1<sup>er</sup> Autor: *Brenda Lissette, García-Aguirre*

ID 1<sup>er</sup> Coautor: *Carlos Alberto, Resendiz-Abarca*

ID 2<sup>do</sup> Coautor: *Ma. Isabel, Zubillaga-Guerrero*

ID 3<sup>er</sup> Coautor: *José Ángel, Cahua-Pablo*

ID 4<sup>to</sup> Coautor: *Eugenia, Flores-Alfaro*

DOI: 10.35429/JOHS.2019.19.6.26.31

Recibido Marzo 25, 2019; Aceptado Junio 28, 2019

#### Resumen

El síndrome metabólico (SM) es un conjunto de anormalidades metabólicas incrementando el riesgo de desarrollar diabetes y enfermedad coronaria caridaca. El gen *SLC22A1* esta asociado con el metabolismo de carnitina y los niveles en plasma de acilcarnitina asociados con enfermedades metabólicas. Objetivo: Evaluar la variante rs rs628031 en el gen *SLC22A1* y su relacion con el síndrome metabólico en mujeres del estado de Guerrero. Metodología: se realizó un estudio transversal en 438 pacientes. Se realizaron mediciones antropométricas y bioquímicas. Se utilizó la técnica rápida no enzimática para la extracción de ADN de leucocitos aislados de sangre periférica para la genotipificación del polimorfismo mediante PCR en tiempo real, usando sondas TaqMan. Resultados: se identifico la relacion del polimorfismo rs628031 con las concentraciones séricas de colesterol total en los portadores de la variante G/A con respecto a los portadores de las variantes G/G y A/A ( $p=0.0015$ ), ademas de c-LDL elevados en portadores de la variante A/A en comparación con los demás genotipos ( $p=0.0007$ ).

**Síndrome metabólico, Acilcarnitina, Gen *SLC22A1*, rs628031**

#### Abstract

The metabolic syndrome (MS) is a set of metabolic abnormalities increasing the risk of developing diabetes and caridaca coronary disease. The *SLC22A1* gene among different population groups, related to carnitine metabolism and acylcarnitine plasma levels associated with metabolic diseases. Objective: To evaluate the rs rs628031 variant in the *SLC22A1* gene and its relationship with the metabolic syndrome in women from the state of Guerrero. Methodology: A cross-sectional study was conducted in 438 patients. Anthropometric and biochemical measurements were made. The rapid non-enzymatic technique was used for DNA extraction from leukocytes isolated from peripheral blood for genotyping of polymorphism by real-time PCR, using TaqMan probes. Results: a relationship between rs628031 polymorphism and serum total cholesterol proteins was identified in the carriers of the A / A variant with respect to the carriers of the G / G and G / A variant ( $p 0.0015$ ), in addition to LDL-cholesterole. in carriers of the A / A variant compared to the other genotypes ( $p = 0.0007$ ).

**Metabolic syndrome, Acylcarnitine, Gene *SLC22A1*, rs628031**

**Citación:** GARCÍA-AGUIRRE, Brenda Lissette, RESENDIZ-ABARCA, Carlos Alberto, ZUBILLAGA-GUERRERO, Ma. Isabel, CAHUA-PABLO, José Ángel y FLORES-ALFARO, Eugenia. Variante rs628031 en el gen *SLC22A1* y su asociación con síndrome metabólico en mujeres guerrerenses. Revista de Ciencias de la Salud. 2019. 6-19: 26-31

\*Correspondencia al Autor (Correo electrónico: lissettega@gmail.com)

† Investigador contribuyendo como primer Autor

## Introducción

El síndrome metabólico (SM) se define al como un conjunto de anormalidades metabólicas caracterizado por elevación en las concentraciones séricas de triglicéridos ( $\geq 150$  mg/dL) y de glucosa ( $\geq 100$  mg/dL), disminución en el colesterol HDL (en mujeres  $\leq 50$  mg/dL), incremento de la presión arterial ( $\geq 130/85$  mmHg) y obesidad abdominal, factores de riesgo para desarrollar enfermedad cardiovascular (ECV) y diabetes tipo 2 (DT2) (Zimmet, 2005; Rosas, 2010; Gonzalez, et al., 2002).

En las últimas décadas, se ha incrementado el número de personas con SM, la prevalencia a nivel mundial puede variar desde el 10 al 84%, dependiendo de la región estudiada, características sociodemográficas y criterio diagnóstico utilizados. A nivel mundial la prevalencia de SM varía entre 7-56% para las mujeres y hombres del 8-43 %, en el estado de Guerrero la prevalencia de SM reportada en mujeres con base a los criterios de la ATPIII fue de 32.8%, con un promedio de edad de 46 años (Zimmet, 2005; Gonzalez, 2015; Cahua-Pablo *et al.*, 2015).

Actualmente, se ha estudiado en diferentes poblaciones el efecto de las variaciones en el gen *SLC22A1* y su proteína codificada, el transportador de cationes orgánicos 1 (OCT1), sobre la respuesta al tratamiento con metformina en pacientes diabéticos (Mofo, 2018). Sin embargo, estudios de genómica han identificado que el *loci* del gen *SLC22A1* está asociado con el metabolismo de carnitina y los niveles en plasma de acilcarnitina relacionados con enfermedades metabólicas como se ha reportado en población china y europea (Kim *et al.*, 2017).

En México aún no existen estudios publicados sobre el efecto en las variaciones del gen *SLC22A1* con SM, por lo que en la presente investigación se evaluó la relación del polimorfismo rs628031, en el gen *SLC22A1* con SM o alguno de sus componentes en población de mujeres guerrerenses con el fin de determinar el riesgo que confieren las variantes en el gen *SLC22A1* sobre el SM.

## Objetivo general

Evaluar la relación entre el polimorfismo rs628031 en el gen *SLC22A1* y el síndrome metabólico en mujeres guerrerenses.

## Objetivos específicos

Determinar las frecuencias alélicas y genotípicas del polimorfismo rs628031 en el gen *SLC22A1*. Estimar el riesgo que confieren los genotipos del polimorfismo rs628031 en el gen *SLC22A1* en las mujeres del estado de Guerrero.

## Metodología

Se realizó un estudio transversal con un análisis tipo casos y controles, donde participaron personas con y sin SM, de 30 a 65 años de edad que acuden a los servicios de los centros de salud Dr. Guillermo Soberón Acevedo, colonia del PRI e INDECO, ubicados en Chilpancingo Gro. El tamaño de muestra fue de un 438 personas de los cuales 147 que presentaron SM y 291 sin este síndrome. El estudio se realizó en el Laboratorio de Investigación en Epidemiología Clínica y Molecular de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas. Las mujeres que aceptaron participar en el estudio firmaron un consentimiento informado por escrito. De acuerdo con la declaración de Helsinki, las personas que aceptaron participar en el estudio lo hicieron mediante un consentimiento informado.

Se incluyeron en el estudio mujeres eoriginarias y con ancestría de dos generaciones del estado de Guerrero. Se excluyeron mujeres embarazadas, pacientes con parentesco entre sí, personas no originarias del estado de Guerrero y aquellas con alguna enfermedad como infecciones, cáncer e insuficiencia renal o hepática. Se eliminaron a las mujeres con muestras hemolizadas, DNA degradado y datos incompletos de la base de datos.

Las variables dependientes fueron: Síndrome metabólico y sus componentes (obesidad abdominal, presión arterial, c-HDL, triglicéridos, glucosa o diagnóstico previo de DT2). La variable independiente fue el polimorfismo rs628031 en el gen *SLC22A1*. Las covariables fueron: Edad, años de escolaridad.

El material utilizado durante los procedimientos fue tratado con base a la NOM-087-ECOL-SSA1-2002 para su desecho, utilizando contenedores de residuos peligrosos biológicos infecciosos con previa esterilización o inhibición de microorganismos con hipoclorito de sodio.

### Mediciones bioquímicas

De cada una de las participantes, con un ayuno previo de 12 horas, se obtuvo muestra de sangre por punción venosa en condiciones de asepsia y esterilidad, utilizando 2 tubos de extracción al vacío (tipo vacutainer), uno sin anticoagulante para la obtención de suero y otro con EDTA al 5 % para la obtención de sangre total. Con alícuotas de suero fresco se determinaron las concentraciones de glucosa, colesterol total, col-HDL, col-LDL y triglicéridos, utilizando métodos enzimáticos convencionales con kits comerciales estandarizados (Spinreact).

### Extracción de DNA

Se realizó la separación de leucocitos de sangre total y posteriormente se realizó la extracción de DNA por la técnica rápida no enzimática.

### Genotipificación

La genotipificación del SNP rs628031 se realizó por PCR en tiempo real con el sistema 7900 (Applied biosystems), utilizando el método TaqMan, para este procedimiento se preparó una mezcla de reacción con 2.5 µl de Master Mix, 0.037 µl de H<sub>2</sub>O y 0.10 µl de sonda TaqMan 20X específica para el SNP, se colocaron 3 µL de la mezcla de reacción en cada pocillo en una placa de 384 pozos con 2 µl del DNA de cada paciente, para un volumen total de 5 µl. El programa de amplificación constó de un Hold a 95 °C por 10 min, 40 ciclos a 92 °C por 15s y 60 °C por 1 min. Al término de la corrida, se realizó una post lectura de los datos obtenidos durante la PCR

### Análisis estadístico

Se realizó un análisis exploratorio de cada variable y se describieron los resultados, las variables cuantitativas en medianas y rango intercuartil (percentiles: 25-75) y en frecuencias para variables cuantitativas.

Se utilizó la prueba de Mann Whitney o Kruskal-Wallis para comparar medianas, y la prueba de  $\chi^2$  para comparar frecuencias entre las mujeres con SM y sin SM, o entre el genotipo del SNP. El equilibrio de Hardy Weinberg fue determinado en el SNP. Un valor de  $p \leq 0.05$  se consideró significativo. El análisis estadístico se realizó utilizando el programa STATA v.14.

### Resultados

Se realizó un estudio en 438 mujeres originarias del estado de Guerrero con padres y abuelos también nacidos en el estado, sin parentesco entre ellas, de 30 a 65 años. Las mujeres con SM tuvieron incremento significativo en el índice de masa corporal (IMC), presión arterial (PA) sistólica y diastólica, así como también incremento significativo en las concentraciones séricas de glucosa, colesterol, triglicéridos y una disminución de colesterol de las HDL en comparación con las mujeres sin SM ( $p < 0.05$ ) (Tabla 1).

Característica	Total n= 438 (100%)	Controles n= 291(66.4%)	Casos n= 147 (33.56%)	p
Edad (años)	46 (38-53)	43 (36-50)	51 (45-56)	<0.001*
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	27.3 (24.7-30.3)	26.2 (23.8-28.9)	29.7 (27.1-33.6)	< 0.001*
PA. Sistólica (mmHg)	117 (107-127)	113 (105-120)	129 (117-137)	< 0.001*
PA. Diastólica (mmHg)	74.5 (9.5)	72.4 (8.6)	78.5 (9.8)	< 0.001*
Cintura (cm)	90 (84-96)	86 (81-93)	95 (91-100)	< 0.001*
Glucosa (mg/dL)	80 (71.3-89.3)	76.9 (70-83.1)	87 (77.6-107)	< 0.001*
Colesterol total (mg/dL)	171 (145.9-194.9)	164.5(141-191)	179.7 (157.4-200)	0.0002*
c-HDL (mg/dL)	39.35 (32-48.9)	40 (33.2-52)	37.5 (30.5-44.1)	0.0013*
c-LDL (mg/dL)	117.59 (89.8-156)	112.2 (88.4-155)	122.4 (93.6- 160.7)	0.1067*
Triglicéridos (mg/dL)	124 (93-167.6)	109 (80- 140)	163.3 (139.5-208.4)	< 0.001*

**Tabla 1** Características somatométricas y bioquímicas generales

Los datos son presentados en medianas (p25-75). PA: Presión arterial; c-HDL: Colesterol de lipoproteínas de alta densidad; c-LDL: Colesterol de lipoproteínas de baja densidad. El valor de  $p$  fue calculado por la prueba de Mann-Whitney.

En el análisis del SNP rs628031 se identificó el genotipo ancestral (G/G) con mayor frecuencia (72.3%), seguido por el genotipo G/A, con una frecuencia de 25.7%, mientras que el genotipo A/A se encontró en menor frecuencia (1.91%) de mujeres estudiadas. Las frecuencias alélicas del SNP rs628031 presento equilibrio de Hardy-Weinberg ( $p=0.84$ ).

Se identificaron concentraciones séricas de colesterol total ( $p= 0.0015$ ), en donde el genotipo G/A presento concentraciones séricas elevadas respecto a los demás genotipos, lo portadores del genotipo A/A mostro concentraciones elevadas de c-LDL en comparación con los otros genotipos ( $p= 0.0007$ ).

VARIABLES	GENOTIPOS				p
	TOTAL n=419(100%)	G/G n=303 (72.3%)	G/A n=108 (25.7%)	A/A n=8 (1.91%)	
Edad (años)	46 (38-53)	46(38-53)	47.5 (39-53)	41.5 (36-57)	0.7547*
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	27.5 (24.7-30.6)	27.5(24.3-30.6)	27.5 (25.2-30.6)	27.4 (25.7-28.7)	0.7425*
PA. Sistólica (mmHg)	117 (108-127)	116 (108-127)	118 (108-128.5)	115 (108-124.5)	0.8157*
PA. Diastólica (mmHg)	74.7 ± 9.4	74.6 ± 9	75.1 ± 10.8	73.5 ± 5.9	0.8670*
Cintura (cm)	90 (84-97)	89 (83-97)	92 (85-96)	88.5 (77.5-95.5)	0.3099*
Glucosa (mg/dL)	80 (71.7-90)	80 (71.3-90)	81 (72.8-91.2)	77.5 (70.5-81.5)	0.4930*
Colesterol total (mg/dL)	170.6 (145.3-194.9)	165.5(141.4-190.3)	182.1 (159.6-202.4)	154 (120.5-224)	0.0015*
c-HDL (mg/dL)	39.4 (32-48.9)	38.4 (31.5-46.7)	41.1(34.6-49.6)	51.5 (35.4-55.9)	0.0536*
c-LDL (mg/dL)	116 (89.7-156.2)	109.7(86.3-143)	128.5 (98.6-185.3)	142.5 (92.8-185.1)	0.0007*
Triglicéridos (mg/dL)	124 (92.9-167.3)	123.6(91.7-163)	124.5 (93.6-178.3)	140.5 (90.1-185)	0.8678*

**Tabla 2** Relación del SNP rs628031 en el gen SLC22A1 con características bioquímicas y somatométricas en pacientes con y sin síndrome metabólico

Los datos son reportados en medianas (p25-75) o en medias ± desviación estándar. PA: presión arterial; c-HDL: colesterol de lipoproteínas de alta densidad; c-LDL: colesterol de lipoproteínas de baja densidad. El valor de  $p$  fue calculado por la prueba de krustall Wallis.

Por otra parte, a través de un modelo de regresión logística se analizó la asociación entre el genotipo rs628031 con el SM y otros factores de riesgo, identificado que existe 4.61 veces más riesgo de presentar niveles elevados de c-LDL para las personas portadoras del genotipo G/A o A/A en comparación con las portadoras del genotipo G/G independientemente de la edad, años de escolaridad y región de origen.

	Modelo Genético Codominante					
	colesterol			c-LDL		
	OR	95% IC	p	OR	95% IC	p
G/G	Referencia	Referencia		Referencia	Referencia	
G/A	1.55	.89-2.69	0.11	2.48	1.51-4.09	0.00
A/A	2.68	.52-13.59	0.23	4.61	1.10-19.33	0.036

**Tabla 3** Asociación de los genotipos del gen SLC22A1 y el riesgo de síndrome metabólico

## Discusión

El SM es un conjunto de anormalidades metabólicas con características clínicas, antropométricas y bioquímica (Zimmet, 2005; Rosas, 2010; Gonzalez *et al.*, 2002). En este estudio se evaluaron 438 pacientes con y sin SM, con una media de edad de 46 años y una prevalencia de 33.6% de SM, fue analizada la glucosa alterada en ayuno, triglicéridos elevados, c-LDL, IMC, PA. Sistólica, Diastólica y circunferencia de cintura, las cuales fueron las anormalidades metabólicas más frecuentes en los casos en comparación de los controles ( $p<0.001$ ) similares a los reportados por Cahua-Pablo y colaboradores en el 2015.

Existen diversos mecanismos fisiopatológicos conllevan al desarrollo de SM, donde participan los factores genéticos y ambientales, explicando el desarrollo de RI. Así mismo, en la obesidad el tejido adiposo es insulinoresistente, elevando los ácidos grasos libres (AGL) en el plasma, los cuales tienen un efecto directo en los órganos diana de la insulina (Martínez *et al.*, 2009).

En este estudio se analizaron las frecuencia del genotipo rs628031 en población Guerrerense, donde el genotipo más frecuente es el G/G con un 72.3% seguida del G/A con un 25.7% y en menor proporción el genotipo A/A con un 1.91%. En la variante A/A se encontró asociación con los niveles elevados de colesterol total ( $p=0.0015$ ) y c-LDL ( $p=0.0007$ ) a diferencia de los pacientes portadores del genotipo G/G y G/A.

Sin embargo, en colesterol total y triglicéridos no se observaron diferencias significativas entre los genotipos, sin embargo, se observó una tendencia a elevarse en el genotipo A/A a diferencia del G/G y G/A. no se identificaron diferencias entre los demás parámetros bioquímicos y antropométricos.

Así mismo, Kim y colaboradores en el 2017, reporta que el rs628031 en el gen SLC22A1 está asociado con el metabolismo de carnitinas y los niveles en plasma de acilcarnitina relacionadas con enfermedades metabólicas.

La asociación genética del rs628031 con la alteración del metabolismo de los ácidos grasos y lipoproteínas aún se desconoce, sin embargo, Adams y colaboradores en el 2009, han asociado los niveles de acilcarnitina en plasma en personas con DT2 y la incompleta  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos de cadena larga. Por otra parte el rs628031 se ha relacionado con la respuesta terapéutica con metformina en pacientes con DT2 donde el genotipo A/A está asociado con menor respuesta a la terapia con metformina, lo que indica un menor transporte de la proteína OCT1 (Reséndiz *et al.*, 2019).

Por lo anterior en este estudio se relacionó la variante A/A con la tendencia a un aumento de colesterol total y c-LDL los cuales son unos de los componentes característicos del SM, lo que podemos inferir que en presencia del polimorfismo en el gen *SLC22A1* disminuye la capacidad de transporte de acilcarnitina y no llevarse a cabo correctamente la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos.

### Agradecimiento

Este trabajo fue financiado por el laboratorio de investigación en Epidemiología Clínica y Molecular de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero y por la Unidad de Investigación Médica en Bioquímica del Hospital de Especialidades “Bernardo Sepúlveda” del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social.

### Conclusión

El presente trabajo muestra la participación de la variante rs628031 en el gen *SLC22A1* en alteraciones metabólicas relacionadas con el SM o algunas características. Observando que los portadores del genotipo A/A del SNP rs628031 por cada 4.61 veces más riesgo de presentar c-LDL elevado en comparación con los demás genotipos. Sugiriendo que este gen podría estar involucrado en el metabolismo de lípidos y otras alteraciones metabólicas.

### Referencias

Adams, S. H., Hoppel, C. L., Lok, K. H., Zhao, L., Wong, S. W., Minkler, P. E., & Garvey, W. T. (2009). Plasma acylcarnitine profiles suggest incomplete long-chain fatty acid  $\beta$ -oxidation and altered tricarboxylic acid cycle activity in type 2 diabetic African-American women. *The Journal of nutrition*, 139(6), 1073-1081.

Cahua-Pablo, J., Cruz, M., Méndez-Palacios, A., Antúnez-Ortiz, D., Vences-Velázquez, A., del Carmen Alarcón-Romero, L., Flores-Alfaro, E. (2015). Polymorphisms in the LPL and CETP Genes and Haplotype in the ESR1 Gene Are Associated with Metabolic Syndrome in Women from Southwestern Mexico. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(9), 21539–21554.

Gonzales-Chávez, A., *et al.* (2002). Consenso Mexicano sobre el tratamiento integral del síndrome metabólico. *Rev Mex Cardiol*, 13(1), 4-30.

González-Galvis, R. A., & Ramírez-Burgos, S. (2015). Frecuencia de síndrome metabólico en un grupo de adultos mayores en la Fundación Santa Sofía Bogotá, Colombia. *Thesis*.

Kim, HI, Raffler, J., Lu, W., Lee, JJ, Abbey, D., Saleheen, D., & Rader, DJ (2017). El mapeo fino y el análisis funcional revelan un papel de *SLC22A1* en el transporte de acilcarnitina. *The American Journal of Human Genetics*, 101 (4), 489-502.

Martínez, G., Alonso, R., & Novik, V. (2009). Síndrome metabólico: Bases clínicas y fisiopatológicas para un enfoque terapéutico racional. *Revista médica de Chile*, 137(5), 685-694.

Mofo, EM, Guewo-Fokeng, M., Essop, MF y Owira, PMO (2018). Polimorfismos genéticos del transportador de cationes orgánicos 1 (OCT1) y respuestas al tratamiento con metformina en individuos con diabetes tipo 2: una revisión sistemática. *Medicine*. 97 (27), e11349-e11349.

Reséndiz-Abarca, C. A., Flores-Alfaro, E., Suárez-Sánchez, F., Cruz, M., Valladares-Salgado, A., del Carmen Alarcón-Romero, L., & Gómez-Zamudio, J. H. (2019). Altered Glycemic Control Associated With Polymorphisms in the SLC22A1 (OCT1) Gene in a Mexican Population With Type 2 Diabetes Mellitus Treated With Metformin: A Cohort Study. *The Journal of Clinical Pharmacology*.

Rosas J., Gonzalez A., Aschner P., Bastarrachea R. (2010). Epidemiología, Diagnóstico, Control, Prevención y Tratamiento Del Síndrome Metabólico en Adultos, *Consenso Latinoamericano de la Asociación Latinoamericana de Diabetes (ALAD)*. 18:25-44.

Zimmet, P., Alberti, M. M., George, K., & Serrano Ríos, M. (2005). Una nueva definición mundial del síndrome metabólico propuesta por la Federación Internacional de Diabetes: fundamento y resultados. *Revista española de cardiología*, 58(12), 1371-1376.