

Evaluación del riesgo poligénico para el síndrome metabólico en la Comarca Lagunera

*Evaluation of the polygenic genetic risk for metabolic syndrome in
the Comarca Lagunera*

Denisse Prone-Olazabal^a, Andrea Félix-Ceniceros^a, J. Rafael Argüello-
Astorga^{a,b}, Margarita Martínez-Moreno^c, Rubén D. Arellano-Pérez Vertti^a,
Dealmy Delgadillo-Guzmán^a, Faviel F. González-Galarza^{a,*}

^aFacultad de Medicina Unidad Torreón, Universidad Autónoma de Coahuila

^bInstituto de Ciencia y Medicina Genómica, Torreón, Coahuila

^cHospital General ISSSTE “Dr. Francisco Galindo Chávez”

* **Autor de correspondencia:** Faviel F. González-Galarza
faviel.gonzalez@uadec.edu.mx

RESUMEN

El síndrome metabólico (SM) es una condición patológica compleja que incluye la participación de diversos polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) en varios genes, y múltiples factores ambientales. El cálculo de puntajes de riesgo poligénico (PRS) es una estrategia documentada que podría mejorar la predicción de la enfermedad y trasladar su aplicación en población mexicana. El objetivo de este estudio fue evaluar un modelo de PRS para síndrome metabólico en población mexicana. Se analizaron 292 individuos mexicanos mestizos de la Comarca Lagunera. La genotipificación se realizó mediante el microarreglo Precision Medicine Research Array (PMRA) y secuenciación de nueva generación mediante DNBseq Low-Pass (LP). Para la estratificación por componente ancestral se utilizó inferencia de ancestría local incluyendo 5 grupos étnicos de referencia (nativo americano: amr; europeo: eur; africano: afr; asiático del este: eas y asiático del sur: sas). No se observó correlación entre el PRS y el componente étnico-ancestral (amr $p=0.7836$; eur $p=0.7957$; afr $p=0.6243$; eas $p=0.3021$ y sas $p=0.516$). Adicionalmente, los individuos se estratificaron en base a su componente amerindio, sin embargo, no se encontraron diferencias entre estas categorías ($p=0.303$). Interesantemente, al analizar los individuos con mayor PRS (percentil 90), el componente ancestral amerindio fue mayor que el europeo ($51.8\% \pm 7.1\%$ vs $37.5\% \pm 8.3\%$, $p=0.01$).

Palabras clave: Síndrome metabólico, riesgo poligénico, SNPs.

Abstract

Metabolic syndrome (MS) is a complex pathological condition that includes the participation of various single nucleotide polymorphisms (SNPs) in various genes, and multiple environmental factors. The estimation of the polygenic risk (PRS) is a documented strategy that could improve the prediction of the disease and transfer its application in the Mexican population. The objective of this study was to evaluate a PRS model for metabolic syndrome in a Mexican population. Two-hundred and ninety-two Mexican mestizo individuals from the Comarca

Lagunera were analyzed. Genotyping was performed using the Precision Medicine Research Array (PMRA) microarray and next-generation sequencing using DNBseq Low-Pass (LP). For the stratification by ancestral component, local ancestry inference was used including 5 reference ethnic groups (Native American: amr; European: eur; African: afr; East Asian: eas and South Asian: sas). No correlation was observed between the PRS and the ethnic-ancestral component (amr $p=0.7836$; eur $p=0.7957$; afr $p=0.6243$; eas $p=0.3021$ and sas $p=0.516$). Additionally, the individuals were stratified based on their Amerindian component, however, no differences were found between these categories ($p=0.303$). Interestingly, when analyzing the individuals with the highest PRS (90th percentile), the Amerindian ancestral component was greater than the European one ($51.8\% \pm 7.1\%$ vs $37.5\% \pm 8.3\%$, $p=0.01$).

Keywords: Metabolic syndrome, polygenic risk, SNPs.

INTRODUCCIÓN

El síndrome metabólico (SM) es un desorden patológico complejo, conformado por un grupo de factores de riesgo fisiopatológicamente relacionados, que incluyen obesidad abdominal, resistencia a la insulina, hiperglicemia, hiperlipidemia, hipertensión e inflamación (Saklayen, 2018). Su presencia tiene una gran implicación en el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y diabetes tipo 2 (Mendrick et al., 2018), las cuales representan unas de las principales causas de morbilidad y mortalidad a nivel mundial (Roth et al., 2015). Asimismo, el SM se ha asociado además a esteatosis hepática, síndrome de ovario poliquístico, apnea del sueño, demencia vascular, enfermedad de Alzheimer y carcinomas (Han & Lean, 2016).

Actualmente, las definiciones más utilizadas de SM son propuestas por el III Panel estadounidense para el Tratamiento de Adultos del Programa Nacional de Educación sobre el Colesterol (ATP III), la Federación Internacional de Diabetes (IDF), la Asociación Americana del Corazón/Instituto Nacional del Corazón, Pulmón y Sangre (AHA/NHLBI) y la Organización Mundial de la Salud (OMS). A pesar de las diferencias en dichos criterios, todas coinciden en la presencia de al menos tres factores de riesgo para diagnosticar el SM (Aguilar-Salinas & Viveros-Ruiz, 2019).

La prevalencia global de SM alcanza el 20-25% de los adultos, particularmente en sociedades industrializadas, donde alcanza proporciones epidémicas (Saklayen, 2018). En México, se ha reportado una prevalencia combinada de SM de 41% (Gutiérrez-Solis, Datta Banik, & Méndez-González, 2018), cifra elevada en comparación con otros países, incluyendo a Estados Unidos y Latino América. Debido a esto, es necesario contar con estrategias de control y prevención de SM en población mexicana.

Aunque se desconoce la etiología y fisiopatología exacta de este desorden, se tiene evidencia sobre la compleja interacción de factores genéticos, metabólicos y ambientales (Sherling, Perumareddi, & Hennekens, 2017), entre ellos destacan los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) en genes que se asocian a los componentes individuales del SM y que en conjunto pueden determinar gran

parte del componente genético de riesgo para desarrollar la entidad (Abou Ziki & Mani, 2016).

La inclusión de factores genéticos, además de ambientales y fenotípicos podría mejorar el abordaje del SM, ya que existe evidencia sobre su contribución independiente y mediante interacciones gen-ambiente (G x E) (Arya et al., 2018). La construcción de puntajes de riesgo genético (PRS) que incluyen una suma de diversas variantes genéticas, principalmente SNPs, con pequeñas contribuciones por separado, han surgido en la última década. Estos SNPs provienen principalmente de estudios de asociación de genoma completo (GWAS) donde se determinan aquellas variantes genéticas mayormente asociadas en genes relacionados con el desarrollo de la patología. Adicionalmente, se han propuesto incluso PRS para obesidad, diabetes y otros factores de riesgo del SM que se asocian con una mayor susceptibilidad a padecerlo (Arya et al., 2018; Kong & Cho, 2019; Verbeek et al., 2019). El objetivo de este estudio fue evaluar un modelo de PRS para síndrome metabólico en población mexicana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población de estudio

Se analizaron 292 individuos mexicanos mestizos (162 mujeres y 130 hombres) pertenecientes a 16 municipios de la región de la Comarca Lagunera de los Estados de Coahuila y Durango. Este estudio fue aprobado por el comité de Bioética de la Facultad de Medicina Unidad Torreón de la Universidad Autónoma de Coahuila. Cada uno de los participantes firmó una carta de consentimiento informado.

Extracción de ADN

Para el análisis se obtuvieron 4 mL de sangre periférica de los participantes. La extracción de ADN se realizó a partir de 350 μ L de la sangre obtenida con EDTA como anticoagulante en un tubo eppendorf de 1.5 mL. Posteriormente, se agregaron 600 μ L de solución de DTAB al 8%. Se centrifugó a 30 segundos a

10,000 rpm. Después se incubó en intervalos de 1 minuto entre cada grupo a una temperatura de 65°C por 5 minutos. Se retiró del incubador y se agregaron 500 µL de cloroformo por 30 segundos. Se centrifugó a una velocidad de 10,000 rpm por 10 minutos. En un tubo eppendorf de 1.5 mL se agregaron 80 µL de solución de CTAB, después el sobrenadante recuperado y por último se agregaron 730 µL de agua inyectable para mezclar suavemente. Se centrifugó a 10,000 rpm durante 5 minutos. Se agregaron 200 µL de solución NaCl 1.2 M y se agitó para soltar el pellet de ADN formado. Se agregaron 600 µL de etanol absoluto atemperado. Se centrifugó a 10,000 rpm por 5 minutos. Se desechó el sobrenadante y se lavó el pellet con alcohol al 70% a temperatura ambiente de 800 µL. Se centrifugó por 5 minutos a 10,000 rpm. Posteriormente, las muestras fueron sometidas a un proceso de liofilización para retirar el exceso de etanol. Las muestras liofilizadas, se reconstituyeron en 40-100 µL de agua inyectable. Después, se realizó el análisis de calidad por medio de espectrofotometría (Nanodrop NanoDrop® ND-1000 UV-Vis) y de integridad del ADN a través de electroforesis mediante geles de agarosa. Finalmente, las muestras se almacenaron a -20 °C para la genotipificación.

Genotipificación de las muestras

Las muestras fueron genotipificadas mediante dos diferentes tecnologías (microarreglo de ADN y secuenciación de nueva generación). La genotipificación se realizó mediante el microarreglo Axiom™ Precision Medicine Research Array (PMRA) que incluye más de 900,000 marcadores genéticos y secuenciación de nueva generación mediante DNBseq™ Low-Pass Whole Genome Sequencing (LP), de acuerdo a los protocolos del fabricante. Para el análisis, las muestras fueron homogeneizadas a una concentración de 15 ng/µL y posteriormente fueron depositadas en placas de 96 pocillos en formato de 24 o 96 muestras, dependiendo de la plataforma utilizada.

Cálculo del puntaje de riesgo poligénico

La determinación del PRS se realizó utilizando la siguiente fórmula: $(\beta_1 * \text{SNP}_1 + \beta_2 * \text{SNP}_2 + \dots + \beta_n * \text{SNP}_n) / \sum \beta$ (Merino, 2019) implementada en un script en R

utilizando como base un modelo de 92 SNPs previamente asociados a síndrome metabólico (Lind, 2019). Para realizar el cálculo, los datos de entrada fueron obtenidos a partir de los datos crudos (en formato VCF) generados después de la genotipificación. Para examinar la distribución de los PRS se utilizó una función de densidad clasificando en percentiles el riesgo poligénico (bajo riesgo: percentil ≤ 20 , riesgo moderado: 21-79 y riesgo alto: ≥ 80). La estratificación por componente ancestral se realizó mediante inferencia de ancestría local incluyendo 5 grupos étnicos de referencia de bases de datos públicas (1000k genome project: nativo americano: amr; europeo: eur; africano: afr; asiático del este: eas y asiático del sur: sas).

Análisis estadístico

Para examinar la normalidad de los PRS se utilizó la prueba Shapiro-Wilk, mientras que para investigar la relación entre el PRS y el componente étnico se utilizó un análisis de correlación. Para la estratificación por componente ancestral se utilizó el análisis de componentes principales (PCA). El valor de significancia estadística fue establecido como $p < 0.05$.

RESULTADOS

Utilizando la plataforma LP (cobertura del 92%, 82 de 92 SNPs asociados), se calculó el PRS clasificando a los participantes en riesgo bajo, moderado y alto mediante percentiles (Figura 1). En base a su distribución, se observó una normalidad en los PRS calculados ($p=0.561$). Posteriormente, se clasificaron a los participantes de acuerdo a su componente étnico-ancestral (Figura 2A), y se evaluó una posible relación entre el componente étnico-ancestral y el PRS. Como se muestra en las Figuras 2B y 2C, no se observó correlación entre el PRS y el componente étnico-ancestral (amr $p=0.7836$; eur $p=0.7957$). El mismo análisis fue realizado para los otros 3 componente étnicos sin observar significancia estadística (afr $p=0.6243$; eas $p=0.3021$ y sas $p=0.516$). Adicionalmente, los individuos se estratificaron por terciles en base a su componente amerindio (Grupo 1 (G1) 1-36% PRS=2.1, Grupo 2 (G2) 37-50%

PRS=1.6 y Grupo 3 (G3) 51-78% PRS=1.9), sin embargo, no se encontraron diferencias entre estas categorías ($p=0.303$). Interesantemente, al analizar los individuos con mayor PRS (percentil >90), el componente ancestral amerindio fue mayor que el componente ancestral europeo ($51.8\% \pm 7.1\%$ vs $37.5\% \pm 8.3\%$, $p=0.01$) (Figura 3).

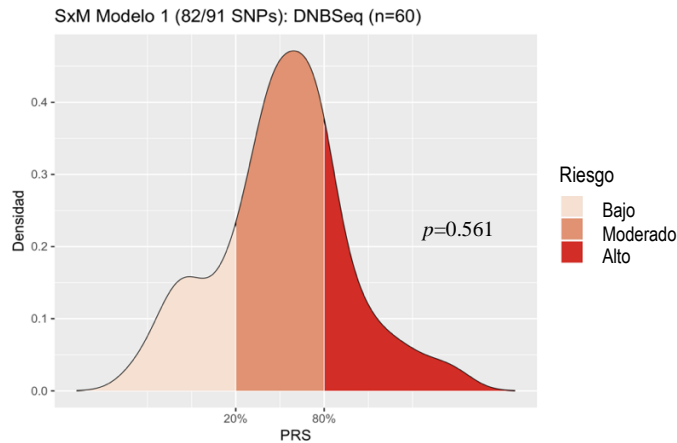


Figura 1. Distribución de densidad del PRS y clasificación de los individuos en bajo (percentil ≤ 20), moderado (21-79) y alto riesgo (≥ 80) para síndrome metabólico (SxM).

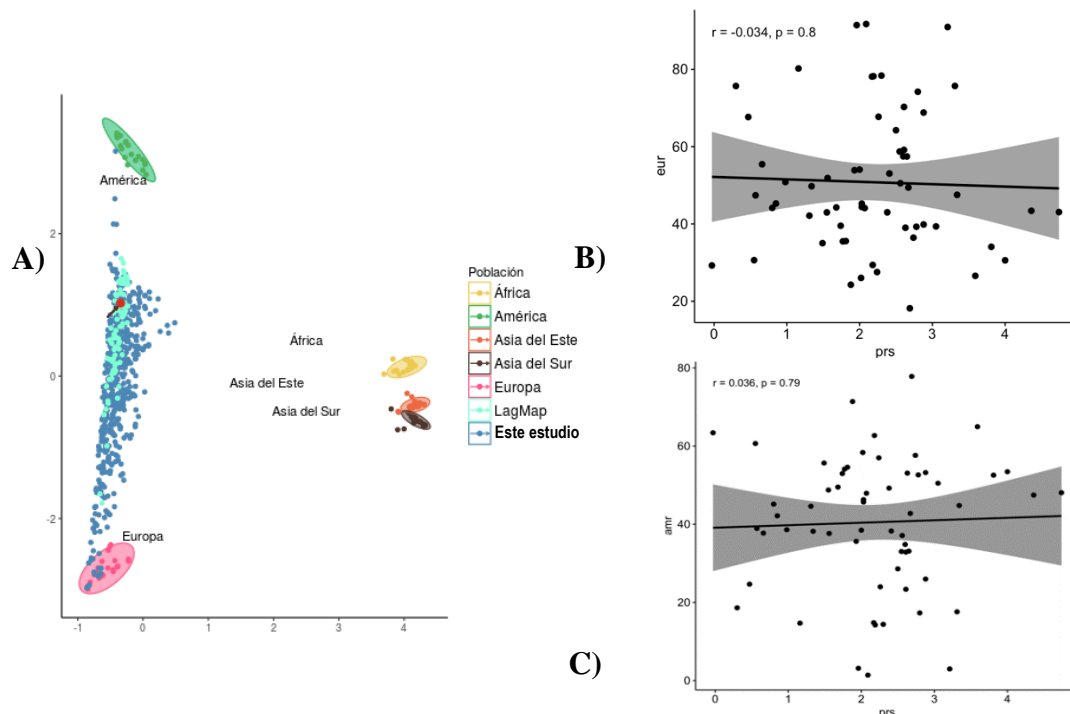
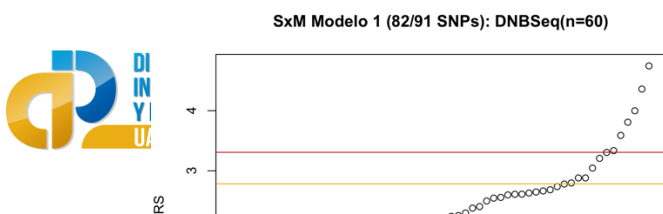


Figura 2. Estratificación de la población de estudio. A) Composición ancestral en base al método de ancestría local. B) Análisis de regresión para la evaluación del PRS y dos componentes étnicos (eur=europeo; amr=amerindio).



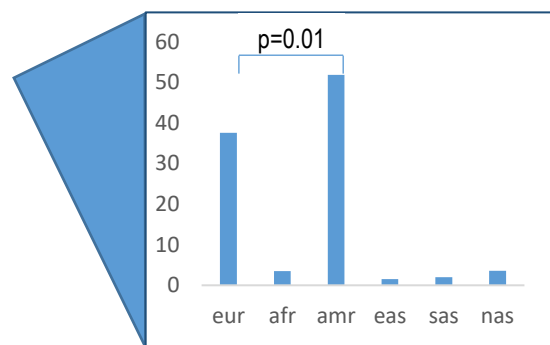


Figura 3. Distribución acumulada de PRS. La línea roja representa el percentil 90 (individuos con mayor riesgo genético para el desarrollo de síndrome metabólico). Componente nativo americano: amr; europeo: eur; africano: afr; asiático del este: eas y asiático del sur: sas.

DISCUSIÓN

A nivel nacional, la atención de enfermedades causadas por la obesidad y el sobrepeso tiene un costo anual elevado, lo que nos lleva a evaluar la importancia de emplear mejores estrategias para su prevención y tratamiento basadas en panoramas de mayor amplitud, que contemplan factores como la genética y el ambiente de los individuos mexicanos para el desarrollo de SM.

En cuanto a los factores genéticos predisponentes a un mayor riesgo de padecer SM, gracias a diversos GWAS de reciente publicación se han descubierto decenas de SNPs asociados al SM y a sus componentes individuales (Lind, 2019; Oh et al., 2020). A raíz de esto, se han propuesto herramientas de mayor eficiencia para el cálculo de la predisposición individual a enfermedades de origen poligénico, como los PRS (Chatterjee, Shi, & García-Closas, 2016), los cuales ofrecen ventajas frente al estudio de asociaciones singulares entre SNPs y fenotipos al lograr explicar una mayor proporción de la variabilidad interindividual.

En el presente estudio, se realizó el cálculo de un PRS de 92 SNPs previamente asociados al SM (Lind, 2019), logrando clasificar a la población con bajo, moderado y alto riesgo a través del percentil al que pertenecen. Esto permite

identificar a las personas con un mayor riesgo genético para desarrollar SM y que podrían beneficiarse de una atención personalizada para la disminución de factores de riesgo no genéticos.

La ancestría de los individuos es un elemento importante a considerar en el cálculo de riesgo poligénico para entidades patológicas tales como el SM, ya que la gran mayoría de los estudios de asociación genética son representativos de la población europea (Popejoy & Fullerton, 2016). Al estudiar una población mestizo-mexicana es importante tomar en consideración a los principales componentes ancestrales que la conforman y que pueden dar origen a diferencias en el desempeño de un modelo de PRS. Adicionalmente, existe evidencia sobre cómo la ancestría es un factor de interacción en la asociación de variantes genéticas y fenotipos asociados al SM (Hardy, Garvin, Mersha, & Racette, 2020; Hardy, Racette, Garvin, Gebrekristos, & Mersha, 2021).

Aunque en nuestros análisis no se encontraron asociaciones significativas entre el PRS y los principales componentes ancestrales de manera individual, existen estudios (Santiago-Torres et al., 2017; Tekola-Ayele et al., 2015) donde se han encontrado asociaciones entre tertiles de ancestría y variables metabólicas individuales. Adicionalmente, estudios que han incluido PRS para enfermedades como el cáncer de mama han demostrado que el poder predictivo de esta herramienta es incrementado al considerar a grupos de ancestría individuales (Fritsche et al., 2021). Es por esto, que consideramos a nuestro estudio como una antesala para estudios posteriores que evalúen a fondo variables adicionales que brinden mayor entendimiento sobre cómo los componentes ancestrales pueden modificar ciertas asociaciones genéticas-ambientales con la presencia de SM.

Al evaluar por separado a las personas con el mayor riesgo poligénico para el desarrollo de SM se encontró una diferencia significativa en cuanto al componente ancestral, donde la mayor proporción fue de origen amerindio. En concordancia con este hallazgo, se ha documentado con anterioridad, que la población con un mayor componente amerindio presenta un prevalencia elevadas de SM (Mendoza-Caamal et al., 2020), apoyando la posible hipótesis

de que una mayor predisposición genética a padecer SM podría verse incrementada en poblaciones con cierto componente ancestral predominante, como el amerindio.

En discrepancia con nuestros resultados, en un estudio transversal de población mestiza de Brasil con diabetes tipo 1 (Barros et al., 2021) se encontró una mayor proporción de ancestría europea en los participantes con SM, sin embargo, dicha asociación perdió significancia tras ajustes multivariados. Por tal motivo, es necesario el desarrollo de más estudios que incluyan una mayor diversidad ancestral, incluyendo a poblaciones mestizas como la mexicana, que ayudan a esclarecer el posible efecto modificador de ciertos componentes en el riesgo genético aumentado de desarrollar SM.

AGRADECIMIENTOS

Al Fondo Destinado a Promover el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología en el Estado de Coahuila (FONCYT COAH-2020-C14-C022 asignado a FFGG) y al Instituto de Ciencia y Medicina Genómica.

REFERENCIAS

- Abou Ziki, M. D., & Mani, A. (2016). Metabolic syndrome: genetic insights into disease pathogenesis. *Curr Opin Lipidol*, 27(2), 162-171. doi: 10.1097/mol.0000000000000276
- Aguilar-Salinas, C. A., & Viveros-Ruiz, T. (2019). Recent advances in managing/understanding the metabolic syndrome. *F1000Research*, 8, F1000 Faculty Rev-1370. doi: 10.12688/f1000research.17122.1
- Arya, R., Farook, V. S., Fowler, S. P., Puppala, S., Chittoor, G., Resendez, R. G., . . . Diego, V. P. (2018). Genetic and environmental (physical fitness and sedentary activity) interaction effects on cardiometabolic risk factors in Mexican American children and adolescents. *Genet Epidemiol*, 42(4), 378-393. doi: 10.1002/gepi.22114
- Barros, B. S. V., Santos, D. C., Melo, L. G. N., Pizarro, M. H., Muniz, L. H., Silva, D. A., . . . Gomes, M. B. (2021). Genomic ancestry and metabolic syndrome in individuals with type 1 diabetes from an admixed population: a multicentre, cross-sectional study in Brazil. *Diabet Med*, 38(2), e14400. doi: 10.1111/dme.14400
- Chatterjee, N., Shi, J., & García-Closas, M. (2016). Developing and evaluating polygenic risk prediction models for stratified disease prevention. *Nat Rev Genet*, 17(7), 392-406. doi: 10.1038/nrg.2016.27

- Fritsche, L. G., Ma, Y., Zhang, D., Salvatore, M., Lee, S., Zhou, X., & Mukherjee, B. (2021). On cross-ancestry cancer polygenic risk scores. *PLoS Genet*, *17*(9), e1009670. doi: 10.1371/journal.pgen.1009670
- Gutiérrez-Solis, A. L., Datta Banik, S., & Méndez-González, R. M. (2018). Prevalence of Metabolic Syndrome in Mexico: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Metab Syndr Relat Disord*, *16*(8), 395-405. doi: 10.1089/met.2017.0157
- Han, T. S., & Lean, M. E. (2016). A clinical perspective of obesity, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *JRSM cardiovascular disease*, *5*, 2048004016633371-2048004016633371. doi: 10.1177/2048004016633371
- Hardy, D. S., Garvin, J. T., Mersha, T. B., & Racette, S. B. (2020). Ancestry specific associations of FTO gene variant and metabolic syndrome: A longitudinal ARIC study. *Medicine*, *99*(6), e18820-e18820. doi: 10.1097/MD.00000000000018820
- Hardy, D. S., Racette, S. B., Garvin, J. T., Gebrekristos, H. T., & Mersha, T. B. (2021). Ancestry specific associations of a genetic risk score, dietary patterns and metabolic syndrome: a longitudinal ARIC study. *BMC Medical Genomics*, *14*(1), 118-118. doi: 10.1186/s12920-021-00961-8
- Kong, S., & Cho, Y. S. (2019). Identification of female-specific genetic variants for metabolic syndrome and its component traits to improve the prediction of metabolic syndrome in females. *BMC Medical Genetics*, *20*(1), 99. doi: 10.1186/s12881-019-0830-y
- Lind, L. (2019). Genome-Wide Association Study of the Metabolic Syndrome in UK Biobank. *Metab Syndr Relat Disord*, *17*(10), 505-511. doi: 10.1089/met.2019.0070
- Mendoza-Caamal, E. C., Barajas-Olmos, F., García-Ortiz, H., Cicerón-Arellano, I., Martínez-Hernández, A., Córdova, E. J., . . . Orozco, L. (2020). Metabolic syndrome in indigenous communities in Mexico: a descriptive and cross-sectional study. *BMC Public Health*, *20*(1), 339-339. doi: 10.1186/s12889-020-8378-5
- Mendrick, D. L., Diehl, A. M., Topor, L. S., Dietert, R. R., Will, Y., La Merrill, M. A., . . . Burleson, F. G. (2018). Metabolic Syndrome and Associated Diseases: From the Bench to the Clinic. *Toxicol Sci*, *162*(1), 36-42. doi: 10.1093/toxsci/kfx233
- Oh, S.-W., Lee, J.-E., Shin, E., Kwon, H., Choe, E. K., Choi, S.-Y., . . . Choi, S. H. (2020). Genome-wide association study of metabolic syndrome in Korean populations. *PLoS One*, *15*(1), e0227357-e0227357. doi: 10.1371/journal.pone.0227357
- Popejoy, A. B., & Fullerton, S. M. (2016). Genomics is failing on diversity. *Nature*, *538*(7624), 161-164. doi: 10.1038/538161a
- Roth, G. A., Forouzanfar, M. H., Moran, A. E., Barber, R., Nguyen, G., Feigin, V. L., . . . Murray, C. J. (2015). Demographic and epidemiologic drivers of global cardiovascular mortality. *N Engl J Med*, *372*(14), 1333-1341. doi: 10.1056/NEJMoa1406656

- Saklayen, M. G. (2018). The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. *Current hypertension reports*, 20(2), 12-12. doi: 10.1007/s11906-018-0812-z
- Santiago-Torres, M., De Dieu Tapsoba, J., Kratz, M., Lampe, J. W., Brey Meyer, K. L., Levy, L., . . . Carlson, C. S. (2017). Genetic ancestry in relation to the metabolic response to a US versus traditional Mexican diet: a randomized crossover feeding trial among women of Mexican descent. *Eur J Clin Nutr*, 71(3), 395-401. doi: 10.1038/ejcn.2016.211
- Sherling, D. H., Perumareddi, P., & Hennekens, C. H. (2017). Metabolic Syndrome. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 22(4), 365-367. doi: 10.1177/1074248416686187
- Tekola-Ayele, F., Doumatey, A. P., Shriner, D., Bentley, A. R., Chen, G., Zhou, J., . . . Rotimi, C. N. (2015). Genome-wide association study identifies African-ancestry specific variants for metabolic syndrome. *Mol Genet Metab*, 116(4), 305-313. doi: 10.1016/j.ymgme.2015.10.008
- Verbeek, R., Oldoni, F., Surendran, R. P., Zwinderman, A. H., Khaw, K. T., Stroes, E. S. G., . . . Dallinga-Thie, G. M. (2019). A 3-SNP gene risk score and a metabolic risk score both predict hypertriglyceridemia and cardiovascular disease risk. *J Clin Lipidol*, 13(3), 492-501. doi: 10.1016/j.jacl.2019.02.005