



Revista de Endocrinología y Nutrición
Vol. 21, No. 2 • Abril-Junio 2013 • pp 69-73

Artículo original

Asociación del genotipo TT del polimorfismo rs1130214 del gen *AKT1* con obesidad, en población adulta del Occidente de México

Eduardo Becerra-Morales,* Martha Eloísa Ramos-Márquez,** Ma. del Carmen Carrillo-Pérez**

Resumen

La proteína AKT1 es una cinasa de serina/treonina que se expresa en una amplia variedad de tejidos, entre los que se encuentra el tejido adiposo; participa en la vía de señalización de la insulina y en la regulación de la lipólisis. **Material y métodos:** En este estudio, se analizó el polimorfismo rs1130214 del gen *AKT1* en 242 personas no emparentadas del occidente de México, para evaluar su papel en el desarrollo de la obesidad. El polimorfismo rs1130214 se identificó por PCR-RFLP. **Resultados:** De las personas estudiadas, el 30.43% tuvieron un IMC < 25; 45.22%, un IMC $\geq$ 25 y < 30; y 24.25%, un IMC $\geq$ 30. La distribución de genotipos estuvo en equilibrio de Hardy-Weinberg. El genotipo TT fue más frecuente en las personas con un IMC $\geq$ 30 que en personas con un IMC < 25. Para el análisis de asociación se empleó un modelo estadístico aplicado a genética; éste mostró que el alelo T tiene efecto recesivo de predisposición a obesidad ($\chi^2 = 4.87$, $p < 0.03$, OR = 2.95, IC_{95%} [1.09-7.93]). **Conclusión:** Los resultados del presente estudio muestran la existencia de una asociación entre el polimorfismo rs1130214 y obesidad en los individuos analizados. Es importante destacar que este hallazgo constituye el primer antecedente de este polimorfismo en población mexicana.

Palabras clave: *AKT1*, polimorfismo, obesidad, proteína cinasa B.

Abstract

AKT1 protein is a serine/threonine kinase that is expressed in a wide variety of tissues including adipose tissue; it is involved in the insulin signaling pathway and in the regulation of lipolysis. Material and methods: In this study, we examined the AKT1 gene rs1130214 polymorphism in 242 unrelated persons from western Mexico, to evaluate its role in the development of obesity. The rs1130214 polymorphism was identified by PCR-RFLP. Results: Of the people studied, the 30.43% had a BMI < 25, 45.22% with BMI $\geq$ 25 and < 30, and 24.25% with BMI $\geq$ 30. The distribution of genotypes was in Hardy-Weinberg equilibrium. The TT genotype was more frequent in those with a BMI $\geq$ 30 than in those with BMI < 25. For the association analysis, the statistical model applied to genetics used showed that the T allele has a recessive effect of predisposition to obesity ($\chi^2 = 4.87$, $p < 0.03$, OR = 2.95, CI_{95%} [1.09-7.93]). Conclusion: The results of this study show the existence of an association between the rs1130214 polymorphism and obesity in the individuals analyzed. Importantly, this finding is the first record of this polymorphism in Mexican population.

Key words: AKT1, polymorphism, obesity, protein kinase B.

* Médico Interno de Pregrado, Universidad Lamar.

** Profesora Investigadora Titular, Instituto de Enfermedades Crónicas Degenerativas, Departamento de Biología Molecular y Genómica, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, México.

Recibido: 07-October-2013 Aceptado: 09-October-2013

Introducción

El índice de masa corporal (IMC) es una medida antropométrica sencilla, es la más utilizada para cuantificar la adiposidad y ha sido un instrumento en la documentación del aumento mundial de la prevalencia de obesidad presenciado en las últimas décadas. La obesidad es un problema de salud en México, con prevalencia en los adultos de entre el 32.4% (ENSANUT 2012)¹ y el 32.8% (FAO 2013).² En la población mexicana, el sobrepeso y la obesidad se caracterizan por la acumulación de grasa con distribución anómala, acompañada de alteraciones metabólicas que incrementan el riesgo para desarrollar otras enfermedades crónicas como diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial, enfermedad cardiovascular y ciertos tipos de cáncer como el mamario, entre otras.

Aunque se cree que el aumento en la frecuencia de la obesidad se debe principalmente a los cambios ambientales, es decir, a estilos de vida sedentarios y dietas altas en calorías, los factores genéticos documentados por estudios en gemelos de diferentes países europeos y Australia explican el 67% de la varianza del IMC; estos estudios sugieren que la mitad de esta varianza es resultado de un rasgo dominante.³ Para encontrar el componente genético en una población que no tiene posibilidades de realizar estudios en gemelos, como primer paso se realizan estudios de asociación en busca de genes que predisponen al desarrollo de sobrepeso, obesidad y distribución de la grasa y, posteriormente, se realizan estudios de enlace genético. Estudios efectuados en población mexicana reportaron que los genes *PCSK1*,⁴ *PON1*,⁵ *FTO*⁶ y *ABCA1*⁷ se asociaron con obesidad en adultos y, además, *ABCA1* se asoció con la distribución de la grasa.⁸

Por otra parte, los cambios metabólicos involucrados en el desarrollo de las enfermedades crónicas que son comorbilidades de la ganancia de peso involucran a la señalización de la insulina y, con ella, a una gran cantidad de genes candidatos. El gen *AKT1* codifica para una proteína con función de cinasa de serina/treonina que en el interior del adipocito regula las vías metabólicas estimuladas por la insulina,⁹ entre las que se incluyen la lipogénesis y la lipólisis. Se han descrito varios polimorfismos de nucleótido simple en el gen *AKT1*, de los cuales el rs1130214 se ha estudiado con mayor frecuencia en diferentes poblaciones

para analizar su influencia en el metabolismo; se ha reportado que el alelo T se asocia a adiposidad en algunas poblaciones, mientras en otras su asociación se limita al género,¹⁰ con una varianza atribuible al genotipo de 0.3.

Con base en lo anterior, y dado el diferente origen étnico de la población mexicana, el objetivo del presente estudio fue evaluar la posible asociación entre el polimorfismo rs1130214 del gen *AKT1* y la obesidad en población adulta del occidente de México.

Material y métodos

Población analizada

En el presente estudio de tipo casos y controles, participaron 242 adultos de ambos sexos, que acudieron al banco de sangre del Hospital Civil «Fray Antonio Alcalde». El grupo de casos fue conformado por 140 individuos con sobrepeso u obesidad ($\text{IMC} \geq 25 \text{ kg/m}^2$), de los cuales el 45% tuvo sobrepeso ($\text{IMC} \geq 25$ y $< 30 \text{ kg/m}^2$) y el 55% tuvo obesidad ($\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$), el grupo control fue integrado por 60 individuos con peso normal (IMC entre 18 y menos de 25 kg/m^2) y 42 individuos corresponden a la población general, para comparar frecuencias de alelos. A las personas que aceptaron participar en el estudio, se les aplicó un cuestionario sobre historia familiar de enfermedades y antecedentes mórbidos personales; se les determinó peso, talla y presión arterial. Además, se obtuvo muestra de sangre por punción venosa en ayunas, con EDTA para análisis molecular. Todos los individuos que participaron en este estudio firmaron un consentimiento informado por escrito.

Genotipificación del polimorfismo rs1130214 del gen AKT1

El ADN genómico fue extraído a partir de sangre total anticoagulada con EDTA con la técnica de precipitación salina. Para genotipificar el polimorfismo rs1130214, se sintetizó *in vitro* un fragmento de 102 pares de bases (bp) por el método de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en un termociclador GeneAmp 2400 (*Applied Biosystems*); se utilizaron los siguientes iniciadores: sentido 5'- CAG AGG CGC TGT GGT TTA GGA - 3' y antisentido 5'- GAT GCA GGC CAC TGG CGC AGA - 3'. El protocolo de PCR utilizado consideró para cada reacción: 100 pM de cada iniciador, 0.2 nM de dNTPs, 2 mM de MgCl₂, 1 U de Taq DNA

Polimerasa (Fermentas, Lituania), 100 ng de ADN y agua destilada estéril, para un volumen final de 50 μ L. La mezcla de reacción se sometió a una desnaturalización inicial a 94 °C durante tres minutos y 35 ciclos compuestos de desnaturalización a 94 °C, hibridación a 59 °C y polimerización a 72 °C, por 15 segundos cada fase, seguido de una extensión final a 72 °C por 10 segundos. El producto amplificado fue observado en gel de agarosa al 3% teñido con bromuro de etidio.

Posteriormente, los productos amplificados fueron sometidos a digestión enzimática usando la endonucleasa XcmI (New England BioLabs). En presencia del alelo G, se digirió el segmento de 102 bp, lo que produjo dos fragmentos de 46 y 56 bp. En cambio, en presencia del alelo T, no se digirió. Para la restricción enzimática se utilizó una mezcla de reacción compuesta de 10 μ L de producto de PCR, 0.4 μ L de la endonucleasa (concentración 5,000 U/mL), 2 μ L de Buffer NEB2 y 8 μ L de agua destilada estéril; se incubó en baño María a 37 °C durante 60 minutos. Finalmente, los fragmentos obtenidos se separaron por electroforesis en gel de poliacrilamida al 8% con TBE 1X y se observaron por tinción con nitrato de plata.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos fueron analizados con el programa SPSS para Windows, versión 10. Se realizó un análisis descriptivo a todas las variables. Las variables continuas se expresaron como media $\pm$ desviación estándar. Se utilizó la prueba de χ^2 para el análisis de las variables no continuas y para el equilibrio de Hardy-Weinberg. El estudio de asociación se realizó por el método estadístico de dominancia y recesividad. Se calculó la razón de momios (OR) y su respectivo intervalo de confianza de 95%, asociada al alelo T. En este estudio, un valor $p < 0.05$ se consideró como estadísticamente significativo.

Resultados

Análisis de las características clínicas y de laboratorio

Los participantes tuvieron una edad promedio de 31.7 ± 9.8 años; en la población, el 28.2% fueron mujeres y el 71.8% hombres.

Las características clínicas de los participantes se muestran en el *cuadro I*. Los individuos con sobrepeso y obesidad presentaron mayor prevalencia de factores de riesgo cardio y/o cerebrovascular—incluyendo prediabetes, diabetes, colesterol y triglicéridos elevados— y de alto riesgo, según los define la Norma Oficial Mexicana 037 para la prevención, tratamiento y control de las dislipidemias.

Análisis del polimorfismo rs1130214 del gen AKT1

La distribución de genotipos y la frecuencia relativa de los alelos para el polimorfismo rs1130214 del gen *AKT1* se resume en el *cuadro II*. En los grupos investigados, el alelo G fue más frecuente; se observó en el 68% de los controles y en 61% del total de los casos. El genotipo TT se observó con frecuencia de 9% de los controles, 14% del total de los casos y 25% de los casos con obesidad. El análisis de asociación al considerar un comportamiento recesivo del alelo T obtuvo un valor de χ^2 de 4.87 con un valor de $p < 0.03$, por lo que existen diferencias significativas entre los grupos estudiados. La razón de momios (OR) para obesidad relacionada al genotipo TT fue de 2.95, IC_{95%} [1.09 - 7.93].

Discusión

Los resultados del presente estudio indican que la presencia del genotipo TT del polimorfismo rs1130214 del gen *AKT1* confiere susceptibilidad

Cuadro I. Características clínicas de los participantes en el estudio.

Grupo	Edad (años)	IMC (kg/m ²)	TG (mg/dL)	CT (mg/dL)	GLU (mg/dL)	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)
IMC < 25	26.89 $\pm$ 7.58	23.17 $\pm$ 1.3	135.55 $\pm$ 60.8	178.39 $\pm$ 41.1	91.38 $\pm$ 13.8	118.03 $\pm$ 9.1	79.91 $\pm$ 8.6
IMC $\geq$ 25	33.96 $\pm$ 9.48	30.05 $\pm$ 7.0	164.60 $\pm$ 84.1	169.58 $\pm$ 49.3	97.35 $\pm$ 17.1	117.80 $\pm$ 14.2	81.37 $\pm$ 11.2
IMC $\geq$ 25 < 30	33.48 $\pm$ 9.55	27.04 $\pm$ 1.3	162.80 $\pm$ 85.1	172.85 $\pm$ 48.2	95.45 $\pm$ 17.5	117.30 $\pm$ 12.7	81.30 $\pm$ 9.1
IMC $\geq$ 30	34.86 $\pm$ 9.00	35.64 $\pm$ 3.6	168.52 $\pm$ 85.3	162.43 $\pm$ 49.7	101.22 $\pm$ 15.5	118.65 $\pm$ 17.7	81.50 $\pm$ 12.4

Los valores presentados son el promedio y desviación estándar.

IMC: índice de masa corporal; TG: triglicéridos; CT: colesterol total; GLU: glucosa; PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica.

Cuadro II. Distribución de genotipos y frecuencias de alelos para el polimorfismo rs1130214 del gen *AKT1* en población del occidente de México.

Grupo	Genotipos			Alelos	
	GG	GT	TT	G	T
IMC < 25	0.44	0.47	0.09	0.68	0.32
IMC ≥ 25	0.36	0.50	0.14	0.61	0.39
IMC ≥ 25 < 30	0.36	0.56	0.08	0.64	0.36
IMC ≥ 30	0.36	0.39	0.25	0.55	0.45

Se presentan frecuencias relativas.

con influencia recesiva para presentar obesidad. Este polimorfismo se ha estudiado en adultos¹⁰ y adultos mayores^{10,11} de diferentes poblaciones con el objetivo de analizar la influencia metabólica del polimorfismo; entre los datos reportados se ha encontrado asociación positiva con obesidad en mujeres adultas nativas americanas.¹⁰ El polimorfismo rs1130214 se localiza en el exón que codifica para la región 5' no traducida del RNAm del gen *AKT1*,¹² y su asociación con el desarrollo de obesidad de manera diferente entre las poblaciones se fortalece por los resultados que sugieren la presencia de alelos específicos de raza que influyen en la actividad de la proteína; estos resultados se obtuvieron de estudios en líneas celulares provenientes de diferentes poblaciones del mundo que fueron analizadas con haplotipos del gen *AKT1*, del cual el polimorfismo rs1130214 forma parte.¹³ También se ha sugerido la presencia de diversos mecanismos que regulan la adiposidad por estudios de modelos animales en ratón, los cuales muestran que la ausencia de la proteína AKT1 (ratones homocigotos para la delección del gen *AKT1*) protege de la obesidad inducida por la dieta.¹⁴

La asociación observada en el presente estudio se presentó en una población principalmente rural, debido a que el Hospital Civil de Belén «Fray Antonio Alcalde» (HCBFAA) brinda servicios de salud a personas de escasos recursos que no reciben este servicio en otras instituciones del país. Por estudios de la apolipoproteína E4 realizados en población que acude al HCBFAA, se ha documentado que la población tiene mayor influencia amerindia,^{15,16} lo que la hace diferente a la población que recibe atención médica en otras instituciones de esta misma región. Por los resultados obtenidos en el presente trabajo, se sugiere hacer un estudio poblacional que tome en cuenta la subestructura de la población mexicana.

Conclusión

El genotipo TT del polimorfismo rs1130214 localizado en el gen *AKT1* se asocia con obesidad en adultos del occidente de México y su influencia es de tipo recesiva.

Bibliografía

1. Barquera S, Campos-Nonato I, Hernández-Barrera L, Pedroza-Tobías A, Rivera-Dommarco JA. Prevalencia de obesidad en adultos mexicanos, ENSANUT 2012. *Salud Pública Mex.* 2013; 55: 151-160.
2. FAO. Statistical annex. The State of Food and Agriculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. 2012, pp. 77. <http://www.fao.org/docrep/018/i3300e/i3300e.pdf>
3. Maes HH, Neale MC, Eaves LJ. Genetic and environmental factors in relative body weight and human adiposity. *Behav Genet.* 1997; 27: 325-351.
4. Villalobos-Comparán M, Villamil-Ramírez H, Villarreal-Molina T, Larrieta-Carrasco E, León-Mimila P et al. PCSK1 rs6232 is associated with childhood and adult class III obesity in the Mexican population. *PLoS One.* 2012; 7: e39037.
5. Martínez-Salazar MF, Almenares-López D, García-Jiménez S, Sánchez-Alemán MA, Juntorena-Ugás A et al. Relationship between the paraoxonase (PON1) L55M and Q192R polymorphisms and obesity in a Mexican population: a pilot study. *Genes Nutr.* 2011; 6: 361-8.
6. Villalobos-Comparán M, Flores-Dorantes T, Villarreal-Molina T, Rodríguez-Cruz M, García-Ulloa AC et al. The FTO gene is associated with adulthood obesity in the Mexican population. *Obesity (Silver Spring).* 2008; 16: 2296-301.
7. Villarreal-Molina T, Aguilar-Salinas CA, Rodríguez-Cruz M, Riaño D, Villalobos-Comparán M, and the Metabolic Study Group. The ATP-Binding Cassette Transporter A1 R230C Variant Affects HDL Cholesterol Levels and BMI in the Mexican Population. *Diabetes.* 2007; 56: 1881-1887.
8. Villarreal-Molina T, Posadas-Romero C, Romero-Hidalgo S, Antúnez-Argüelles E, Bautista-Grande A et al. The ABCA1 gene R230C variant is associated with decreased risk of premature coronary artery disease: the genetics of atherosclerotic disease (GEA) study. *PLoS One.* 2012; 7(11):e49285. doi: 10.1371/journal.pone.0049285. Epub 2012 Nov 9.
9. Fischer-Posovszky P, Tews D, Horenburg S, Debatin KM, Wabitsch M. Differential function of *AKT1* and *AKT2* in

- human adipocytes. *Mol Cell Endocrinol.* 2012; 358: 135-43. doi: 10.1016/j.mce.2012.03.018.
10. Devaney JM, Gordish-Dressman H, Harmon BT, Bradbury MK, Devaney SA et al. *AKT1* polymorphisms are associated with risk for metabolic syndrome. *Hum Genet.* 2011; 129: 129-39. doi: 10.1007/s00439-010-0910-8.
 11. McKenzie JA, Witkowski S, Ludlow AT, Roth SM, Hagberg JM. *AKT1* G205T genotype influences obesity-related metabolic phenotypes and their responses to aerobic exercise training in older Caucasians. *Exp Physiol.* 2011; 96: 338-47. doi: 10.1113/expphysiol.2010.055400.
 12. Norton N, Williams HJ, Dwyer S, Carroll L, Peirce T et al. Association analysis of *AKT1* and schizophrenia in a UK case control sample. *Schizophr Res.* 2007; 93: 58-65.
 13. Harris SL, Gil G, Robins H, Hu W, Hirshfield K et al. Detection of functional single-nucleotide polymorphisms that affect apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005; 102: 16297-16302.
 14. Wan M, Easton RM, Gleason CE, Monks BR, Ueki K et al. Loss of *AKT1* in mice increases energy expenditure and protects against diet-induced obesity. *Mol Cell Biol.* 2012; 32: 96-106. doi: 10.1128/MCB.05806-11.
 15. Aceves D, Ruiz B, Nuño P, Roman S, Zepeda E, Panduro A. Heterogeneity of apolipoprotein E polymorphism in different Mexican populations. *Hum Biol.* 2006; 78: 65-75.
 16. Santos A, Salguero ML, Gurrola C, Muñoz F, Roig-Melo E, Panduro A. The epsilon4 allele of apolipoprotein E gene is a potential risk factor for the severity of macular edema in type 2 diabetic Mexican patients. *Ophthalmic Genet.* 2002; 23: 13-19.

Correspondencia:

Dra. en C. Ma. del Carmen Carrillo Pérez
 Instituto de Enfermedades Crónicas Degenerativas
 Centro Universitario de Ciencias de la Salud
 Universidad de Guadalajara
 Calle Sierra Mojada Núm. 760, Puerta 7,
 Edificio Q, Segundo Nivel,
 Col. Independencia Oriente, 44340,
 Guadalajara, Jalisco, México
 Tel: (33) 1058-5200, ext. 34010
 E-mail: carmencarrilloperez@gmail.com