

# Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP): implicaciones funcionales de los SNP reguladores (rSNP) y de los SNP-ARN estructurales (srSNP) en enfermedades complejas

Julián Ramírez-Bello<sup>1</sup>, Gilberto Vargas-Alarcón<sup>2</sup>, Carlos Tovilla-Zárate<sup>3</sup> y José Manuel Fragoso<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Inmunogenómica y Enfermedades Metabólicas, Instituto Nacional de Medicina Genómica. México, D.F.; <sup>2</sup>Departamento de Biología Molecular, Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez. México, D.F.; <sup>3</sup>División Académica Multidisciplinaria de Comacalco, Universidad Juárez Autónoma. Tabasco, Tab., México

## Resumen

Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) representan a las variantes genéticas más comúnmente encontradas en el genoma humano. Debido a su amplia distribución, estos polimorfismos se localizan en cualquier parte de la estructura de los genes y el genoma. Los SNP que tienen implicaciones funcionales sobre los niveles de expresión génica se denominan SNP reguladores (rSNP), mientras que los que alteran la traducción de los ARN mensajeros (ARNm), el corte y empalme, la eficiencia para potenciar o inhibir el corte y empalme, la estabilidad de los ARNm y la función de las proteínas (sin alterar su estructura) se denominan SNP ARN estructurales (srSNP). Diversos estudios han documentado la importancia funcional de los rSNP y srSNP en el desarrollo de enfermedades comunes como hipertensión arterial (HTA), obesidad, artritis reumatoide, enfermedad arterial coronaria, entre otras. El objetivo de este artículo es hacer una revisión bibliográfica actualizada de los SNP funcionales (rSNP y srSNP) que tiene efecto en la función del gen, ARNm, proteínas y que se asocian con diversas enfermedades complejas.

**PALABRAS CLAVE:** Polimorfismo. rSNP. srSNP. Susceptibilidad.

## Abstract

Single nucleotide polymorphisms (SNPs) represent to the genetics variant most common founded in the human genome. These polymorphisms have a wide distribution and can found in any region of gene or mRNA, the SNPs that have functional implications on the levels of gene expression are called regulatory SNPs (rSNPs), while those that affect translation, splicing, efficiency to enhance or inhibit the alternative, mRNA stability and protein function (without altering its structure), they are called structural RNA SNPs (srSNPs). Several studies have identified to these polymorphisms associated with different common diseases e.g. hypertension, obesity, rheumatoid arthritis and coronary artery disease. The aim of this review is to discuss the functional implication of rSNPs and srSNPs in the common diseases.

**KEY WORDS:** Polymorphism. rSNPs. srSNPs. Susceptibility.

## Correspondencia:

\*José Manuel Fragoso  
Departamento de Biología Molecular  
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez  
Juan Badiano, 1  
Col. Sección XVI, Del. Tlalpan, C.P. 14080, México, D.F.  
E-mail: mfragoso1275@yahoo.com.mx

Fecha de recepción en versión modificada: 03-12-2012

Fecha de aceptación: 12-12-2012

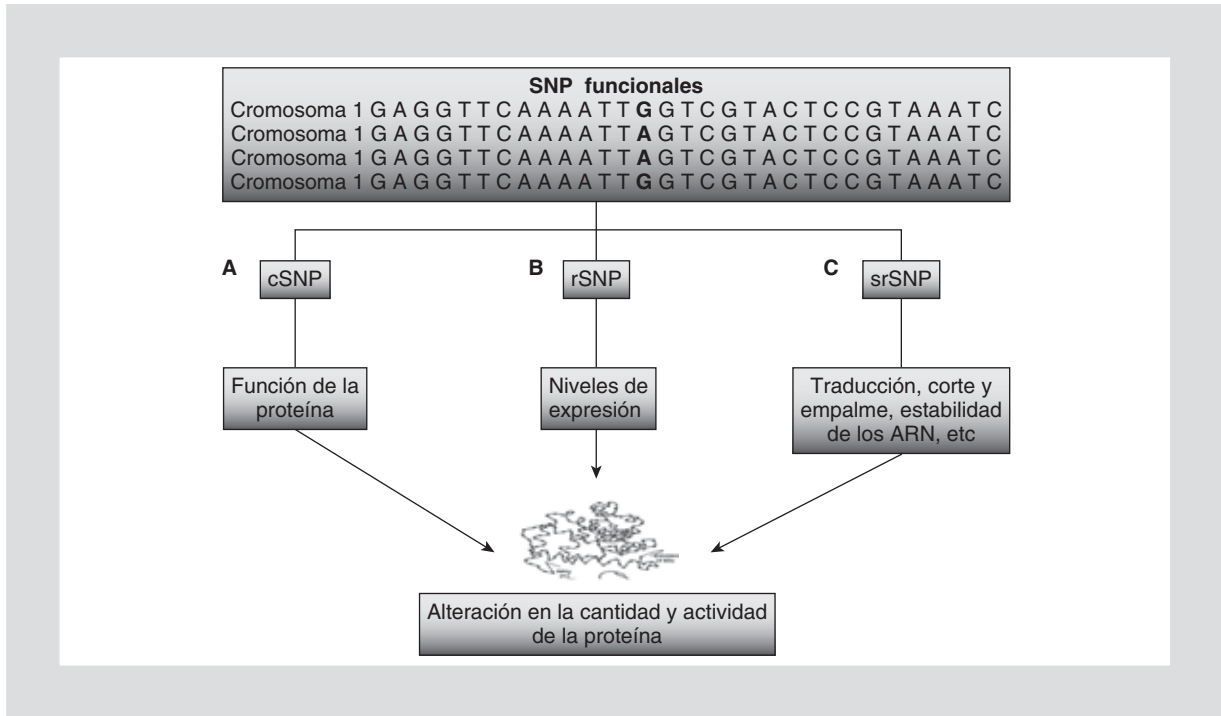
## Introducción

Las enfermedades comunes como la HTA, síndrome metabólico, obesidad, diabetes *mellitus* tipo 2 (DMT2), asma y las enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso generalizado (LEG), artritis reumatoide (AR), entre otras, tienen un origen multifactorial, es decir, que para que se desarrollen se requiere de la participación e interacción de múltiples genes de baja penetrancia y factores ambientales encontrados en cada población<sup>1-5</sup>. Estas patologías complejas no tienen un patrón de herencia definido como sí lo tienen las enfermedades mendelianas<sup>6</sup>. A pesar de esto, se sabe que el componente genético y variantes comunes tipo SNP desempeñan un papel determinante en el desarrollo de estas patologías multifactoriales<sup>1-5</sup>. El primer borrador de la secuencia del genoma humano publicado por dos grupos independientes en 2001, no solo puso de manifiesto la secuencia de pares de bases que componen al ADN, la cartografía y un número reducido de genes, sino que también reportó una gran cantidad de variantes genéticas comunes. Por un lado, el consorcio público reportó 1.4 millones, mientras que el privado un poco más de 2 millones de variantes tipo SNP<sup>7-9</sup>. Un hallazgo sorprendente fue encontrar una gran similitud entre dos genomas humanos; cualquiera de estos comparten un 99.9% de identidad en su secuencia, mientras que el resto constituye la variabilidad genética y fenotípica entre individuos. La variabilidad genética se ha relacionado principalmente con los SNP, y estos con la susceptibilidad a padecer diversas enfermedades comunes<sup>10-14</sup>. Así, estos polimorfismos representan a los marcadores genéticos más ampliamente distribuidos en el genoma humano. Actualmente se han descrito más de 10 millones de SNP, aunque se ha estimado que existen aproximadamente 20 millones de ellos, alcanzando una distribución de aproximadamente un SNP por cada 100-300 nucleótidos<sup>14-16</sup>. La base de datos de SNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>) constantemente se actualiza con nuevos genomas secuenciados, como los de J. Watson y C. Venter, entre otros. Dicha base de datos muestra el número de SNP ubicados en el genoma humano, el cambio de alelo de cada polimorfismo, su distribución alélica y genotípica en las diferentes poblaciones (caucásica, africana, asiática, mexicana residente de Los Ángeles, CA, entre otras), así como también la ubicación de estos SNP dentro y fuera de la estructura de los genes<sup>16</sup>. Algunos SNP desempeñan un papel biológico

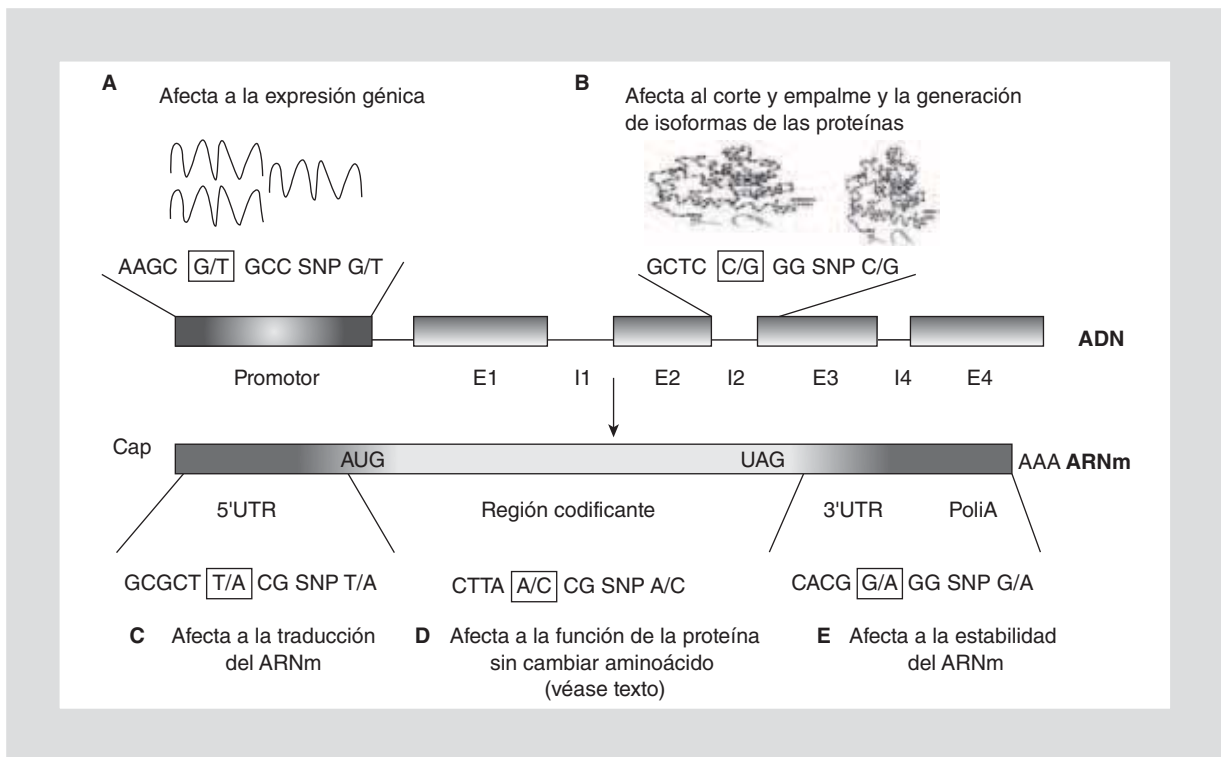
importante en el desarrollo de enfermedades comunes debido a que constituyen SNP funcionales, los cuales pueden afectar al gen, al ARNm de genes que sintetizan proteínas y a las mismas proteínas. El objetivo del artículo es revisar el efecto de los SNP funcionales encontrados en el promotor de los genes y en la estructura de los ARNm de genes que sintetizan proteínas y como estos se asocian con patologías complejas.

### Clasificación de los polimorfismos de un solo nucleótido funcionales, localización genética y su asociación con enfermedades complejas

De acuerdo con su importancia funcional y su amplia localización, ya sea en la estructura del gen o del ARNm de los genes que sintetizan proteínas, los SNP funcionales se han dividido en rSNP, srSNP y SNP codificantes (cSNP). Cada uno de ellos puede afectar, en último término, a la cantidad y actividad de las proteínas codificadas en los respectivos genes (Fig. 1)<sup>17,18</sup>. Los rSNP se encuentran en los promotores de los genes que sintetizan proteínas y afectan a los niveles de expresión génica (Fig. 2)<sup>4,17-20</sup>, mientras que los srSNP se encuentran tanto en los ARNm primarios (transcritos que contienen intrones) como en los secundarios (transcritos que ya no contienen intrones), esto incluye a las regiones no traducidas (5'UTR y 3'UTR), regiones intrónicas y codificantes (sin que ocurra un cambio de aminoácido), llegando a afectar a la estructura y función de los ARN, incluyendo el corte y empalme, la regulación de la traducción de los ARNm a proteínas, la funcionalidad de las proteínas y la estabilidad de los ARNm, la poliadenilación de los ARNm (Fig. 2), entre otros procesos biológicos normales de las células-tejidos<sup>4,17,18</sup>. Finalmente, los cSNP se encuentran en los exones y se subdividen en sinónimos (si el cambio de nucleótido no cambia aminoácido)<sup>21</sup> y no sinónimos (si el cambio de nucleótido cambia un aminoácido). De estos últimos no se hablará en esta revisión, aunque existen varios ejemplos del impacto que representa cambiar un aminoácido a otro y como estos participan en el desarrollo de patologías multifactoriales<sup>22,23</sup>. De esta manera, los polimorfismos funcionalmente importantes se han empleado como marcadores genéticos para evaluar su papel biológico en el desarrollo de diversas enfermedades complejas u otros rasgos complejos que incluyen al asma, DMT2, HTA, AR, LEG, dislipemias y respuesta a tratamiento<sup>1-5,17-24</sup>.



**Figura 1.** Clasificación de los SNP funcionales. Los SNP funcionales se dividen en tres grupos: a) los cSNP sinónimos (el nucleótido no cambia aminoácido) y no sinónimos (el nucleótido cambia aminoácido) que se encuentran en los exones (véase texto); b) en rSNP si afectan a la expresión génica, y c) los srSNP si afectan a la estructura y función de los ARNm de genes que sintetizan proteínas.



**Figura 2.** Efecto funcional de los rSNP. Los rSNP ubicados en el ADN pueden afectar a los niveles de expresión si están en el promotor (A). Si los SNP funcionales se encuentran en la estructura de los ARNm pueden afectar al corte y empalme si se encuentran en los intrones-exones (B), la traducción del ARNm a proteínas (C) si se encuentran en la región 5'UTR, y aunque existen pocos reportes se ha observado que SNP funcionales ubicados en regiones codificantes y que no cambian aminoácidos tienen un papel importante en la función de la proteína (D); finalmente, SNP ubicados en la región 3'UTR pueden afectar a la estructura y estabilidad del ARNm (E). UTR: región no traducida; E: exón; I: intrón; AUG: sitio de inicio de la traducción; UAG: codón de paro.

## Implicaciones de los reguladores de polimorfismos de un solo nucleótido que afectan a los niveles de expresión génica y su asociación con enfermedades complejas

La expresión génica es un fenómeno biológico de vital importancia para el crecimiento, diferenciación, apoptosis y desarrollo de cada una de las células y de los organismos en un determinado espacio y tiempo. Dicho proceso depende de elementos *cis* reguladores encontrados en las regiones promotoras de los genes, específicamente en el núcleo y en los elementos próximos del promotor<sup>25</sup>. Además de las diversas secuencias consenso *cis* ubicadas en el promotor, existen también diversas proteínas que actúan en *trans* tales como factores de transcripción, proteínas reguladoras de la transcripción que no se unen al ADN, ARN polimerasa II, y otros elementos que modulan la expresión génica de manera tejida específica<sup>26,27</sup>. Diversos reportes han documentado que las diferencias en la expresión génica entre un sujeto y otro pueden modificar el fenotipo en enfermedades complejas<sup>20</sup>. Así, los rSNP encontrados en estas regiones pueden modificar, destruir o crear sitios de unión y reconocimiento para factores de transcripción, alterando de esta manera los niveles de expresión génica y llevando a una sobre o subexpresión de los mismos (Tabla 1). Un ejemplo de esto lo representa el rSNP-169T/C ubicado en el promotor del gen que codifica para la proteína 3, parecida a la fracción cristalizable  $\gamma$  (*FC $\gamma$ RL3*); esta variante fue identificada a través de microarreglos de diseño de Illumina, Inc, y fue asociada a AR, LEG y tiroiditis autoinmune (TA)<sup>28</sup>. Estudios *in silico* y funcionales evidenciaron que el alelo C de este rSNP modifica la afinidad de unión al factor de transcripción NF- $\kappa$ B, llevando a una mayor expresión de este gen que regula la inmunidad innata y adaptativa; de esta manera, una mayor expresión de este gen relacionado con el sistema inmune puede contribuir a la génesis de estas tres patologías autoinmunes<sup>28</sup>. Esta variante también está asociada a artritis reumatoide juvenil (ARJ) en la población mexicana (datos no publicados). Por otro lado, el rSNP-376G/A del gen que codifica al factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) crea un sitio de unión al factor de transcripción Oct1 que afecta a los niveles de expresión en monocitos e incrementa el riesgo a padecer malaria cerebral en africanos<sup>29</sup>. Otro SNP ubicado en la posición -63T/A del inhibidor del factor de transcripción  $\kappa$ B (*NFKBIL1*) que afecta a la expresión génica ha sido asociado con

infarto agudo al miocardio<sup>30</sup>. Otro rSNP de TNF- $\alpha$  (-308 G/A) ha sido asociado no solo con susceptibilidad, sino también con gravedad y respuesta al tratamiento en varias enfermedades autoinmunes, inflamatorias, tumorales e infecciosas<sup>31-34</sup>. Aunque no se ha documentado qué factor de transcripción se une a alguno de estos alelos (G/A) de este rSNP *in vitro*, sí se ha documentado que la actividad transcripcional aumenta varias veces e incrementa la secreción de esta citocina cuando está presente el alelo A<sup>35,36</sup>. De hecho, en humanos, el genotipo G/A se ha asociado con mayores niveles de ARNm y concentraciones altas de TNF- $\alpha$  en suero en comparación con los individuos que presentan el genotipo G/G<sup>37,38</sup>. Por otro lado, en artritis idiopática juvenil (AIJ) y AR se ha evaluado el impacto de los genotipos de este rSNP -308G/A en respuesta al tratamiento con anticuerpos dirigidos contra esta citocina, encontrándose que los individuos que presentan el genotipo G/G responden mejor a esta terapia en comparación con los individuos que presentan los genotipos G/A y A/A<sup>39,40</sup>. Además, datos en la población mexicana han demostrado una asociación del alelo -308A de TNF- $\alpha$  con la gravedad de AR, y con susceptibilidad a ARJ, asma y lupus pediátrico<sup>31,41</sup>. Otro rSNP con implicaciones funcionales sobre los niveles de expresión es el -173G/C del gen que codifica al factor inhibidor de migración de macrófagos (MIF), una proteína involucrada con inflamación que ha sido asociada con enfermedades como AR y cáncer de próstata. El alelo C de este rSNP se ha involucrado con mayores niveles de ARNm de MIF y de proteína en suero, y con susceptibilidad y gravedad a ambas patologías<sup>42</sup>. Otros rSNP ubicados en regiones promotoras de genes que codifican citocinas inflamatorias de forma individual o en forma de haplotipos han sido asociados con un aumento en los niveles de expresión génica, que en última instancia conllevan una susceptibilidad y/o gravedad de diversas patologías inflamatorias, tumorales, infecciosas y obesidad<sup>43-45</sup>.

## Implicaciones de los polimorfismos de un solo nucleótido ARN estructurales encontrados en las regiones 5' y 3'UTR que afectan a la traducción y estabilidad de los ARNm y su asociación con enfermedades complejas

Los transcritos primarios de los ARNm que contienen varios exones generalmente están constituidos por una estructura Cap ubicada en el extremo 5', una región 5'UTR, la región codificante; intrones y exones, la

Tabla 1. Ejemplo de algunos rSNP, haplotipos y srSNP con efecto funcional asociados a diversas enfermedades complejas

Gen	Localización	Sitio polimórfico	Alelo o haplotipo	Efecto funcional del rSNP o srSNP	Patología asociada
<i>FCRL3</i>	Promotor	-169T/C	C	Crea una mayor afinidad de unión al factor de transcripción NF- $\kappa$ B, conlleva una sobreexpresión del gen	AR, LEG, AITD <sup>28</sup>
<i>TNF-<math>\alpha</math></i>	Promotor	-376G/A	A	Crea un sitio de unión para el factor de transcripción Oct1, conlleva una sobreexpresión del gen	MC <sup>29</sup>
		-308G/A	A	Sin función conocida, pero está relacionado con mayores niveles de expresión génica y de proteína en suero y respuesta a tratamiento	AR, ARJ, LEG, asma, enfermedades infecciosas, etc. <sup>31-41</sup>
<i>MIF</i>	Promotor	-173G/C	C	Sin función conocida, pero está relacionado con mayores niveles de expresión génica y de proteína en suero	ARJ, cáncer <sup>42</sup>
<i>CRTH2</i>	3'UTR	1544G/C 1651G/A	GG	Aumenta la vida media del ARNm del gen <i>CRTH2</i>	Asma <sup>51</sup>
<i>TNFR2</i>	3'UTR	593A/G 598T/G 620 T/C	ATC	Aumenta la degradación del ARNm de <i>TNFR2</i>	Obesidad <sup>52-53</sup>
<i>HMGCR</i>	Intrón 13	*rs3846662A/G	G	Afecta a la eficiencia del corte y empalme y genera un transcrito que carece del exón 13	Dislipemia <sup>61</sup>
<i>CR2</i>	5'UTR	+21A/G	A	Aumenta la actividad transcripcional de <i>CR2</i>	LEG <sup>62</sup>
	Exón10	L592L G/A	GGA	Disminuye la eficiencia del corte y empalme y genera un transcrito que incluye al exón 11 de <i>CR2</i>	
	Exón11	S639N G/A S663P A/G			

\*rs = referencia del SNP.

AITD: enfermedad tiroidea autoinmune; MC: malaria cerebral.

región 3'UTR y la cola de poliA. Después del corte y empalme que sufren los transcritos primarios, los ARNm que resultan son ARNm secundarios; estas moléculas ya no llevan intrones, pero siguen formadas por la estructura Cap ubicada en el extremo 5', el 5'UTR, exones, 3'UTR y la cola de poliA. La función de los 5'UTR es regular el proceso de la traducción a través de varias estructuras secundarias que se encuentran en los ARNm; estas incluyen a los sitios de entrada a los ribosomas (IRES) y el único o los múltiples codones de inicio de la traducción AUG que contienen algunos genes, y que también regulan el inicio de la traducción. El ARNm, una vez unido a la subunidad 40S del ribosoma y a proteínas de inicio de la traducción, comienza a recorrer el ribosoma; cuando el ribosoma tiene contacto con el codón de inicio de la traducción, la subunidad ribosomal 60S se ensambla y la traducción de la proteína comienza<sup>46,47</sup>. Por otro lado, después de terminar la síntesis de diversos ARNm, un fragmento de aproximadamente 100-250 nucleótidos

de adeninas (cola de poliA) se agregan al extremo 3'UTR; esta poliadenilación está mediada por una señal de poliadenilación y es importante para proporcionarle estabilidad a los ARNm, evitando, así, que el ARNm sea degradado por ARNasas<sup>46,48</sup>. Algunos elementos ricos en uridilato y adenilato (ARE) encontrados en las regiones 3'UTR se han asociado con inestabilidad de los mensajeros, decaimiento de la vida media y procesos de deadenilación<sup>46,48</sup>. Así, la presencia de srSNP ubicados en estas regiones puede afectar a la traducción y estabilidad de los ARNm, causando susceptibilidad a desarrollar enfermedades complejas (Tabla 1)<sup>49-53</sup>. Dos srSNP (1544G/C y 1651G/A) ubicados en la región 3'UTR del gen que codifica para el receptor de prostaglandina 2 (*CRTH2*) han sido asociados con susceptibilidad a asma. De hecho, el haplotipo GG formado por la combinación de estos dos srSNP se asocia con mayores niveles de expresión génica, debido a un incremento en la vida media del mensajero de *CRTH2* que regula la inflamación, rasgo característico

de esta patología multifactorial<sup>51</sup>. Por otra parte, se ha documentado que el haplotipo A2, que contiene los alelos ATC de los srSNP (593A/G, 598T/G, 620T/C) encontrados en la región 3'UTR del gen que codifica al receptor 2 del factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (*TNFR2*) está implicado con la degradación del ARNm de este gen; este mismo haplotipo funcional ha sido asociado con un aumento del índice de masa corporal (IMC), obesidad y niveles altos de leptina<sup>52,53</sup>.

### Implicaciones de los polimorfismos de un solo nucleótido ARN estructurales intrónicos y exónicos que afectan al corte y empalme y su asociación con enfermedades complejas

Las proteínas son codificadas por los exones encontrados en los transcritos de los ARNm maduros. Sin embargo, antes de esto se lleva a cabo la eliminación de los intrones de los ARNm primarios mediante corte y empalme; este proceso está mediado por diversas ribonucleoproteínas ricas en uridina que se encuentran en el spliceosoma<sup>54</sup>. El objetivo es eliminar intrones y unir exones para generar diversos transcritos maduros a partir de un solo gen<sup>54,55</sup>. El corte y empalme ha emergido recientemente como un mecanismo principal responsable del aumento de la complejidad del transcrito en humanos<sup>54</sup>. De hecho, datos recientes indican que entre el 70-98% de los genes que contienen múltiples exones encontrados en los humanos sufren corte y empalme<sup>55-57</sup>, por lo que la regulación del corte y empalme y la generación de diversos transcritos resultan de una combinación de secuencias consenso que actúan en *cis* y diversas proteínas que actúan en *trans*. Por ejemplo, algunos elementos *cis* que se encuentran en los sitios de corte y empalme 5' y 3' de los intrones son el dinucleótido GU ubicado en el sitio 5' de corte y empalme y tres elementos separados (el sitio de ramificación, un tracto de polipirimidinas y el dinucleótido AG) ubicados en el sitio de corte y empalme 3'<sup>54-58</sup>. Por otro lado, existen secuencias consenso adicionales, que se ubican tanto en los intrones como en los exones, denominadas *enhancer* o inhibidores de corte y empalme intrónicos y exónicos, cuya función es necesaria para incrementar o disminuir la fidelidad en las reacciones de corte y empalme<sup>54,55</sup>. Varias evidencias han mostrado el papel que tienen los srSNP en la modificación, creación o destrucción de estas secuencias consensos y cómo estos se asocian con enfermedades complejas (Tabla 1)<sup>55,59,60</sup>. De hecho, varios srSNP ubicados en

estas regiones han sido implicados con proteínas no funcionales por inclusión o exclusión de exones, retención de intrones, o por la introducción de nuevos sitios de corte y empalme dentro de exones o intrones (Fig. 2)<sup>57</sup>. Diversas mutaciones y polimorfismos en sitios de corte y empalme, *enhancer* o inhibidores de corte y empalme exónicos e intrónicos han sido asociados con enfermedades mendelianas y complejas<sup>55,59-66</sup>. Por ejemplo, recientemente se ha reportado el efecto del srSNP rs3846662A/G ubicado en el intrón 13 del gen que codifica a la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa (*HMGCR*), con una forma alternativa del gen que involucra la delección del exón 13 y se ha asociado con niveles altos de colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad (C-LDL). Así, el srSNP y el transcrito generado del corte y empalme alternativo del gen *HMGCR* se asocian con niveles elevados de este lípido, el cual es un factor de riesgo para diversas enfermedades cardiovasculares complejas<sup>61</sup>. Otro ejemplo lo representan 4 SNP (rs1048971; exón 10G/A, rs17615; exón 10 G/A, rs4308977; exón 11 A/G y rs3813946; 5'UTR A/G) ubicados en el gen que codifica al receptor 2 del complemento (*CR2*), los cuales se han asociado a LEG; las *minor allele frequency* (MAF) (frecuencia del alelo raro o menos común) de los srSNP ubicados en el exón 10; G/A, G/A, y en exón 11 A/G se ha demostrado mediante estudios funcionales que tiene un efecto en la disminución de corte y empalme del exón 11 del gen *CR2*, mientras que el cuarto SNP (rs3813946A/G) altera la transcripción del gen<sup>62</sup>. Este hallazgo sugiere que las variantes tipo srSNP ubicadas en este gen contribuyen a la patogénesis del LEG y a la pérdida de la tolerancia inmunológica, rasgo común de las enfermedades autoinmunes complejas. Por otro lado, en el gen *TCF7L2*, el cual codifica para un factor de transcripción que lleva el mismo nombre, se ha observado que el srSNP funcional rs7903146 C/T (ubicado en el intrón 4) está asociado con regiones de corte y empalme alternativo para dicho gen. La proteína producida por el gen *TCF7L2* desempeña un papel de vital importancia en varias funciones de los islotes pancreáticos: alteraciones de corte y empalme alternativo ocasionadas por srSNP en dicho gen se han asociado con DMT2. Sin embargo, se requieren más estudios para confirmar este hallazgo<sup>63</sup>. Otro gen que contiene varios srSNP relacionados con la regulación del corte y empalme alternativo es el que codifica a la proteína 1 relacionada con esquizofrenia (DISC1); varios srSNP encontrados en este gen se relacionan con la ausencia de varios exones como el 3, 7 y 8. Estos

srSNP y los transcritos generados de varios sitios de corte y empalme de este gen se han asociado con riesgo a desarrollar esta patología multifactorial<sup>64</sup>. Otros reportes indican que estos mecanismos de inclusión-exclusión de exones son regulados comúnmente por srSNP que afectan o incrementan el riesgo a desarrollar diversas enfermedades o rasgos comunes<sup>65,66</sup>.

### **Implicaciones de los polimorfismos de un solo nucleótido ARN estructurales exónicos que afectan a la funcionalidad de la proteína y su asociación con rasgos complejos**

Los srSNP sinónimos encontrados en los exones se denominan también silenciosos, debido a que no generan un cambio de aminoácido en la proteína; así, estos polimorfismos no deberían conferir susceptibilidad a padecer enfermedades complejas u otros fenotipos. Recientemente, este concepto ha cambiado; por ejemplo, está bien documentado que srSNP silenciosos encontrados en los exones tienen un papel regulador y pueden afectar al corte y empalme, aumentar o disminuir la eficiencia de corte y empalme, la estabilidad y estructura de los ARNm, y a nivel de proteínas estos srSNP pueden afectar al plegamiento y la estructura de la proteína, la respuesta a tratamiento, así como su función biológica normal<sup>67</sup> (Tabla 1). Un srSNP sinónimo (1446C/T; Thr482Thr) ubicado en la región codificante del gen que sintetiza a la proteína 2 asociada a resistencia a múltiples fármacos (*ABCC2*) ha sido asociado con altos niveles de expresión génica y con una mayor estabilidad del ARNm; de acuerdo con esto, individuos heterocigotos para este SNP funcional muestran diferente farmacocinética cuando se les administra pravastatina, fármaco que reduce el colesterol y que es sustrato de *ABCC2*<sup>68</sup>. Un artículo publicado en 1999 mostró que los srSNP sinónimos ubicados en la enzima alanina-tARN sintetasa y en la proteína A de replicación tienen un fuerte efecto en la estructura y en la función de los ARNm de ambos genes<sup>69</sup>. Recientemente, fue publicada la influencia de un srSNP sinónimo ubicado en el exón 26 (C3435T: Ile1145Ile) del gen que codifica a la proteína 1 de resistencia a múltiples fármacos (*MDR1*) y que es parte de un haplotipo ligado a una función alterada de la glucoproteína P, producto del gen *MDR1*. Este estudio reportó que este srSNP altera la especificidad por el sustrato, reduciendo su actividad y funcionalidad, y por tanto la eficiencia de la quimioterapia<sup>70</sup>. Estudios funcionales donde se compara el efecto de ambos

alelos de este srSNP C3435T (el alelo C común está contenido en el codón frecuente [ATC], mientras que el alelo T menos frecuente se encuentra en el codón poco frecuente [ATT]) indicaron niveles similares de ARNm y proteína; sin embargo, el codón poco frecuente que contiene al alelo raro ha sido asociado con errores de conformación de la proteína, y se ha propuesto que afecta a la velocidad de plegamiento y de inserción a la membrana celular, lugar donde lleva a cabo su función biológica normal<sup>67,70,71</sup>.

### **Conclusiones**

Los recientes avances en la identificación de genes involucrados en la susceptibilidad a enfermedades complejas y de la caracterización funcional de los rSNP y srSNP *in vivo* o *in vitro* han ayudado a comprender mejor, a nivel molecular, genético y fisiológico, los fenómenos implicados en su desarrollo. Los análisis genéticos/genómicos no solo deben identificar a marcadores genéticos asociados con diversas enfermedades complejas, sino que deben incluir la evaluación funcional del polimorfismo asociado con la enfermedad; de esta manera, se podrá identificar si estos rSNP o srSNP pueden alterar los nivel de expresión génica, el proceso de corte y empalme, estabilidad y estructura del ARNm, así como también la función de las proteínas, o solo son marcadores de susceptibilidad sin efecto funcional, o están en desequilibrio de ligamiento con otros polimorfismos que confieren susceptibilidad. Un ejemplo claro de esto lo representa el rSNP -308G/A de TNF- $\alpha$ , en el cual el alelo de riesgo A se ha asociado con susceptibilidad y gravedad en diversas patologías inflamatorias, autoinmunes, tumorales e infecciosas<sup>31-34,41</sup>. Se sabe que la presencia de este alelo conlleva una mayor cantidad de transcrito y de proteína en plasma<sup>35-38</sup>. Por otro lado, una terapia con anticuerpos monoclonales ha sido evaluada en AIJ y AR tomando en cuenta los tres genotipos de este srSNP (G/G, G/A y A/A); los individuos que tienen el genotipo normal (G/G) responden mejor que los individuos que tienen los genotipos G/A y A/A, que llevan el alelo de riesgo<sup>39,40</sup>. Así, el describir la función *in vitro*, *in vivo* o *in situ* de los rSNP y/o srSNP asociados a enfermedades comunes nos permitirá conocer el efecto de cada polimorfismo y cómo estos participan en la fisiopatología de enfermedades complejas, más aun nos ayudará a dar un mejor diagnóstico, pronóstico y tratamiento a pacientes que presenten estas patologías comunes, llegando así en un futuro no lejano a una medicina genómica personalizada.

## Agradecimientos

Se agradece al Instituto Nacional de Medicina Genómica y al Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez por las facilidades proporcionadas para realizar este trabajo.

## Bibliografía

- Dooley MA, Hogan SL. Environmental epidemiology and risk factors for autoimmune disease. *Curr Opin Rheumatol*. 2003;15:99-103.
- Kunes J, Zicha J. The interaction of genetic and environmental factors in the etiology of hypertension. *Physiol Res*. 2009;58 Suppl 2:33-41.
- Andrassi MG. Metabolic syndrome, diabetes and atherosclerosis: influence of gene-environment interaction. *Mutat Res*. 2009;667:35-43.
- Ramírez-Bello J, Pérez-Méndez O, Ramírez-Fuentes S, Carrillo-Sánchez S, Vargas-Alarcón G, Fragos JM. Genetic and genomic studies in hypertension: an actualization of the genomic studies. *Arch Cardiol Mex*. 2011;81:240-50.
- Su MW, Tung KY, Liang PH, Tsai CH, Kuo NW, Lee YL. Gene-gene and gene-environmental interaction of childhood asthma: a multifactor dimension reduction approach. *PLoS One*. 2012;7:e30694.
- Botstein D, Risch N. Discovering genotypes underlying human phenotypes: past successes for mendelian disease, future approaches for complex disease. *Nat Genet*. 2003;33(Suppl):228-37.
- International Human Genome Sequencing Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nat*. 2001;409:860-921.
- Venter JC, Adams MD, Myers EW, et al. The sequence of the human genome. *Science*. 2001;291:1304-51.
- Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC, et al. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nat*. 2001;409:928-33.
- Feuk L, Marshall CR, Wintle RF, Scherer SW. Structural variants: changing the landscape of chromosomes and design of disease studies. *Hum Mol Genet*. 2006;15(Spec):R57-66.
- Beckmann JS, Estivill X, Antonarakis SE. Copy number variants and genetic traits: closer to the resolution of phenotypic to genotyping variability. *Nat Rev Genet*. 2007;8:639-46.
- Altshuler D, Daly MJ, Lander ES. Genetic mapping in human disease. *Science*. 2008;322:881-8.
- Ronaghi M, Langae T. Single nucleotide polymorphism: discovery, detection and analysis. *Perzonalized Medicine*. 2005;2:111-25.
- Feero WG, Guttmacher AE, Collins FS. Genomic medicine – An updated primer. *N Engl J Med*. 2010;362:2001-11.
- 1000 Genomes Project Consortium. A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature*. 2010;467:1061-73.
- Entrez SNP ([www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=snp](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=snp)).
- Sadee W. Measuring cis-acting regulatory variants genome-wide: new insights into expression genetics and disease susceptibility. *Genome Med*. 2009;1:116.
- Sadee W, Wang D, Papp AC, et al. Pharmacogenomics of the RNA world: structural RNA polymorphisms in drug therapy. 2011;89:355-65.
- Prokunina L, Alarcón-Riquelme ME. Regulatory SNPs in complex diseases: their identification and functional validation. *Expert Rev Mol Med*. 2004;6:1-15.
- Hernández-Romano J, Martínez-Barnetche J, Valverde-Garduño V. Polymorphisms in gene regulatory regions and their role in the physiopathology of complex disease in the post-genomic era. *Salud Pública Mex*. 2009;51 Suppl 3:455-62.
- Hunt R, Sauna ZE, Ambudkar SV, Gottesman MM, Kimchi-Sarfaty C. Silent (synonymous) SNPs: should we care about them? *Methods Mol Biol*. 2009;578:23-39.
- Lee YH, Bae SC, Choi SJ, Ji JD, Song GG. The association between the PTPN22 C1858T polymorphism and rheumatoid arthritis: a meta-analysis update. *Mol Biol Rep*. 2012;39:3453-60.
- Yu H, Liu H, Wang LE, Wei Q. A functional NQO1 609C > T polymorphism and risk of gastrointestinal cancers: a meta-analysis. *PLoS One*. 2012;7:e30566.
- Merino DM, Ma DW, Mutch DM. Genetic variation in lipid desaturases and its impact on the development of human disease. *Lipids Health Dis*. 2010;18:63.
- Ogbourne S, Antalis TM. Transcriptional control and the role of silencers in transcriptional regulation in eukaryotes. *Biochem J*. 1998;331:1-14.
- Kininis M, Kraus WL. A global view of transcriptional regulatory by nuclear receptors: gene expression, factor localization, and DNA sequence analysis. *Nucl Recept Signal*. 2008;6:e005.
- Näär AM, Lemon BD, Tjian R. Transcriptional coactivator complexes. *Ann Rev Biochem*. 2001;70:475-501.
- Kochi Y, Yamada R, Suzuki A, et al. A functional variant in FCRL3, encoding Fc receptor-like 3, is associated with rheumatoid arthritis and several autoimmunities. *Nat Genet*. 2005;37:478-85.
- Knight JC, Udalo I, Hill AV, et al. A polymorphism that affects OCT-1 binding to the TNF promoter region is associated with severe malaria. *Nat Genet*. 1999;22:145-50.
- Ozaki K, Ohnishi Y, Iida A, et al. Functional SNPs in the lymphotoxin-alpha gene that are associated with susceptibility to myocardial infarction. *Nat Genet*. 2002;32:650-4.
- Rodríguez-Carreón AA, Zúñiga J, Hernández Pacheco G, et al. Tumor necrosis factor-alpha -308 promoter polymorphism contributes independently to HLA alleles in the severity of rheumatoid arthritis in Mexicans. *J Autoimmun*. 2005;24:63-8.
- Witte JS, Palmer LJ, O'Connor RD, Hopkins PJ, Hall JM. Relation between tumour necrosis factor polymorphism TNF-alpha -308 and risk of asthma. *Eur J Hum Genet*. 2002;10:82-5.
- Ding B, Fu S, Wang M, et al. Tumor necrosis factor -308G > A polymorphisms and cervical cancer risk: a meta-analysis. *Int J Gynecol Cancer*. 2012;22:213-9.
- Pujhari SK, Rath RK, Prabhakar S, Mishra B, Modi M. TNF-alpha promoter polymorphism: a factor contributing to the different immunological and clinical phenotypes in Japanese encephalitis. *BMC Infect Dis*. 2012;12:23.
- Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, McDevitt HO, Duff GW. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997;94:3195-9.
- Glossop JR, Dawes PT, Nixon NB, Matthey DL. Polymorphism in the tumor necrosis factor receptor II gene is associated with circulating levels of soluble tumour necrosis factor receptors in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2005;7:R1227-34.
- Jeong P, Kim EJ, Kim EG, Byun SS, Kim CS, Kim WJ. Association of bladder tumors and GA genotype of -308 nucleotide in tumor necrosis factor-alpha promoter with greater tumor necrosis factor-alpha expression. *Urology*. 2004;64:1052-6.
- Sharma S, Sharma A, Kumar S, Sharma SK, Ghosh B. Association of TNF haplotypes with asthma, serum IgE levels, and correlation with serum TNF-alpha levels. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2006;35:488-95.
- Stojanovic S, Jevtovic-Stoimenov T, Stankovic A, et al. Association of TNF-alpha polymorphism (-308A/G) with high activity of rheumatoid arthritis and therapy response to etanercept. *Srp Arh Celok Lek*. 2011;139:784-9.
- Schmeling H, Horneff G. Tumor necrosis factor alpha promoter polymorphisms and etanercept therapy in juvenile idiopathic arthritis. *Rheumatol Int*. 2007;27:383-6.
- Jiménez-Morales S, Velázquez-Cruz R, Ramírez-Bello J, et al. Tumor necrosis factor-alpha is a common genetic risk factor for asthma, juvenile rheumatoid arthritis, and systemic lupus erythematosus in a Mexican pediatric population. *Hum Immunol*. 2009;70:251-6.
- Vera PL, Meyer-Siegler KL. Association between macrophage migration inhibitory factor promoter region polymorphism (-173G/C) and cancer: a meta-analysis *BMC Res Notes* 2011;4:395.
- Sugiyama M, Tanaka Y, Wakita T, Nakanishi M, Mizokami M. Genetic variation of the IL-28B promoter affecting gene expression. *PLoS One*. 2011;6:e26620.
- Um JY, Rim HK, Kim SJ, Kim HL, Hong SH. Functional polymorphism of IL-1 alpha and its potential role in obesity in humans and mice. *PLoS One*. 2011;6:e29524.
- Qin C, Cao Q, Li P, et al. Functional promoter -31G > C variant in survivin gene is associated with risk and progression of renal cell cancer in a Chinese population. *PLoS One*. 2012;7:e28829.
- Mignone F, Gissi C, Liuni S, Pesole G. Untranslated regions of mRNAs. *Genome Biol*. 2002;3:3.
- Cazzola M, Skoda RC. Translational pathophysiology: a novel molecular mechanism of human disease. *Blood*. 2000;95:3280-8.
- Bevilacqua A, Ceriani MC, Capaccioli S, Noccolini A. Post-transcriptional regulation of gene expression by degradation of messenger RNAs. *J Cell Physiol*. 2003;195:356-72.
- Miller GM, Madras BK. Polymorphisms in the 3'-untranslated region of human and monkey dopamine transporter genes affect reporter gene expression. *Mol Psychiatry*. 2002;7:44-55.
- Di Paola R, Frittitta L, Miscion G, et al. A variation in 3'UTR of hPTP1B increases specific gene expression and associates with insulin resistance. *Am J Hum Genet*. 2002;70:806-12.
- Huang JL, Gao PS, Mathias RA, et al. Sequence variants of the gene encoding chemoattractant receptor expressed on Th2 cells (CRT2) are associated with asthma and differentially influence mRNA stability. *Hum Mol Genet*. 2004;13:2691-7.
- Fernández-Real JM, Vendrell J, Ricart W, et al. Polymorphism of the tumor necrosis factor alpha receptor 2 gene in associated with obesity, leptin levels, and insulin resistance in young subjects and diet-treated type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2000;23:831-7.
- Puga I, Lainez B, Fernández-Real JM, et al. A polymorphism in the 3' untranslated region of the gene for tumor necrosis factor receptor



- 2 modulates reporter gene expression. *Endocrinology*. 2005;146:2210-20.
54. Chen M, Manley JL. Mechanisms of alternative splicing regulation: insights from molecular and genomics approaches. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2009;10:741-54.
  55. Hui J. Regulation of mammalian pre-mRNA splicing. *Sci China Ser C Life Sci*. 2009;52:253-60.
  56. Hsu SN, Hertel KJ. Spliceosoma walk the line: splicing errors and their impact on cellular function. *RNA Biology*. 2009;6:526-30.
  57. Pan Q, Shai O, Lee LJ, Frey BJ, Blencowe BJ. Deep surveying of alternative splicing complexity in the human transcriptome by high-throughput sequencing. *Nat Genet*. 2008;40:1413-5.
  58. Warf MB, Berglund JA. The role of RNA structure in regulating pre-mRNA splicing. *Trends Biochem Sci*. 2010;35:169-78.
  59. Tress ML, Martelli PL, Frankish A, et al. The implications of alternative splicing in the encode protein complement. *Proc Nat Acad Sci USA*. 2007;104:5495-500.
  60. Baralle D, Baralle M. Splicing in action: assessing disease causing sequence changes. *J Med Genet*. 2005;42:737-48.
  61. Burkhardt R, Kenny EE, Lowe JK, et al. Common SNPs in HMGCR in micronesians and whites associated with LDL-cholesterol levels affect alternative splicing of exon 13. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28:2078-84.
  62. Douglas KB, Windels DC, Zhao J, et al. Complement receptor 2 polymorphisms associated with systemic lupus erythematosus modulate alternative splicing. *Genes Immun*. 2009;10:457-69.
  63. Hansson O, Zhou Y, Renstrom E, Osmark P. Molecular function of TCF7L2: consequences of TCF7L2 splicing for molecular function and risk for type 2 diabetes. *Curr Diab Rep*. 2010;10:444-51.
  64. Nakata K, Lipska BK, Hyde TM, et al. DISC1 splice variants are up-regulated in schizophrenia and associated with risk polymorphisms. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;106:15873-8.
  65. Cagliani R, Fumagalli M, Riva S, N et al. Polymorphisms in the CPB2 gene are maintained by balancing selection and result in haplotype-preferential splicing of exon 7. *Mol Biol Evol*. 2010;27:1945-54.
  66. Lalonde E, Ha KC, Wang Z, et al. RNA sequencing reveals the role of splicing polymorphisms in regulating human gene expression. *Genome Res*. 2011;21:545-54.
  67. Hunt R, Sauna ZE, Ambudkar SV, Gottesman MM, Kimchi-Sarfaty C. Silent (synonymous) SNPs: should we care about them? *Methods Mol Biol*. 2009;578:23-39.
  68. Niemi M, Arnold KA, Backman JT, et al. Association of genetic polymorphism in ABCC2 with hepatic multidrug resistance-associated protein 2 expression and pravastatin pharmacogenetics. *Pharmacogenet Genomics*. 2006;16:801-8.
  69. Shen LX, Basilion JP, Stanton VP Jr. Single-nucleotide polymorphisms can cause different structural folds of mRNA. *Proc Nat Acad Sci USA*. 1999;96:7871-6.
  70. Kimchi-Sarfaty C, Oh JM, Kim IW, et al. A "silent" polymorphism in the MDR1 gene changes substrate specificity. *Science*. 2007;315:525-8.
  71. Komar AA. Genetics. SNPs, silent but not invisible. *Science*. 2007;315:466-7.