



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,  
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

**Identificación de variantes genéticas asociadas con los niveles séricos de ácido úrico  
a través del escrutinio del genoma completo en una población mestiza mexicana**

**TESIS**

Que para optar por el grado de:  
**Doctor en Ciencias**

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

Luis Rodrigo Macias Kauffer

**DIRECTOR DE TESIS**

Dr. Samuel Canizales Quinteros  
Facultad de Química

**Ciudad Universitaria, Cd. MX., junio 2018**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Este trabajo se realizó bajo la dirección del Dr. Samuel Canizales Quinteros en la Unidad de Genómica de Poblaciones Aplicada a la Salud de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México y del Instituto Nacional de Medicina Genómica con financiamiento del CONACyT a través del proyecto FOSISS 2012-1-182802 y de la beca 131414 del Programa Nacional de Posgrados de Calidad.

# Índice

Resumen.....	6
Abstract.....	7
1. Introducción.....	8
1.1 Producción, eliminación y actividad del ácido úrico.....	8
1.2 Excreción renal del ácido úrico.....	9
1.3 Frecuencia de la hiperuricemia y modificadores del ácido úrico sérico.....	10
1.4 El índice de masa corporal como modulador del ácido úrico sérico.....	11
1.5 El ácido úrico como factor de riesgo cardiometabólico.....	15
1.6 La genética en la variabilidad del ácido úrico sérico.....	18
1.7 Estudios de asociación genética con ácido úrico y subestructura poblacional en mexicanos.....	21
1.8 Aleatorización mendeliana: un instrumento para evaluar causalidad entre la asociación del ácido úrico sérico, la enfermedad arterial coronaria prematura y la la tasa de filtración glomerular disminuida.....	22
2. Justificación.....	24
3. Planteamiento del problema.....	24
4. Hipótesis.....	24
5. Objetivo general.....	25
6. Objetivos específicos.....	25
7. Metodología.....	26
7.1 Diseño general del estudio.....	26
7.2 Población de estudio.....	26
7.3 Procedimientos y mediciones.....	28
7.3.1 Determinación de ácido úrico sérico (AUS) y desenlaces relacionados.....	28
7.3.2 Genotipificación mediante microarreglos.....	28
7.4 Análisis de datos genómicos.....	29
7.4.1 Control de calidad y preparación de datos genómicos.....	29

7.4.2	Análisis de asociación de genoma completo para AUS.....	32
7.4.3	Estratificación por origen ancestral de regiones con asociación para ácido úrico sérico a nivel genómico.....	33
7.5	Asociación del AUS con variantes genéticas previamente reportadas y búsqueda de interacción por estado nutricional y edad.....	33
7.6	Evaluación del efecto de las variantes asociadas con el AUS sobre la hiperuricemia y el síndrome metabólico en niños en un estudio de seguimiento a dos años.....	34
7.7	Efecto de las variantes asociadas con el AUS a nivel genómico sobre el síndrome metabólico, la tasa de filtración glomerular estimada disminuida y la enfermedad arterial coronaria prematura (aleatorización mendeliana).....	34
8.	Resultados.....	36
8.1	Caracterización clínica y bioquímica de los grupos de estudio que conformaron la etapa de escrutinio completo del genoma.....	36
8.2	Variantes genéticas asociadas al ácido úrico sérico identificadas mediante escrutinio completo del genoma y metanálisis.....	36
8.3	Escalado multidimensional y proporciones ancestrales de los participantes.....	41
8.4	Diferenciación de señales de asociación con ácido úrico sérico dependiendo del origen ancestral del segmento cromosómico.....	43
8.5	Asociación con ácido úrico sérico de variantes identificadas mediante escrutinio completo del genoma en otras poblaciones.....	45
8.6	Modificación por presencia de obesidad, grupo de edad o sexo de los efectos genéticos sobre el AUS.....	46
8.7	Caracterización de la población infantil incluida en la etapa de seguimiento.....	48
8.8	Los genotipos de rs7678287 en <i>SLC2A9</i> y rs2231142 en <i>ABCG2</i> no predicen el desarrollo de hiperuricemia a 2 años en niños.....	48
8.9	Caracterización de los sujetos con enfermedad arterial coronaria prematura y controles sin enfermedad cardiovascular.....	50

8.10 Papel de las variantes asociadas al ácido úrico sérico en la enfermedad arterial coronaria prematura, el síndrome metabólico y la tasa de filtración glomerular en la cohorte GEA.....	50
9. Discusión.....	53
9.1 Efecto de la variación genética sobre el ácido úrico sérico y modificadores del efecto.....	53
9.2 Efecto de la variación en <i>SLC2A9</i> sobre el cambio en el ácido úrico sérico y el desarrollo de hiperuricemia.....	55
9.3 Efecto de los polimorfismos que modulan al ácido úrico en los desenlaces cardiovasculares, renales y metabólicos.....	56
10. Conclusiones.....	57
11. Perspectivas.....	58
12. Bibliografía.....	59
13. Anexos.....	73

## Resumen

El ácido úrico sérico (AUS) es un rasgo heredable asociado con la enfermedad cardiovascular y el deterioro de la función renal. Los polimorfismos en *SLC2A9*, gen que codifica para un transportador tubular renal, se han asociado al AUS en distintas poblaciones, pero las variantes asociadas varían entre estudios. Esto contrasta con *ABCG2*, transportador de expresión principalmente intestinal, cuyo polimorfismo Q141K (rs2231142) ha sido causalmente implicado. Existe debate con respecto a si las variantes genéticas que afectan el AUS contribuyen a la enfermedad cardiovascular y el efecto de estas variantes en el filtrado glomerular se ha estudiado poco. Realizamos asociación de genoma completo con AUS en 2,154 niños y adultos. Analizamos si las variantes con mayor efecto a nivel genómico se relacionaban al desarrollo de hiperuricemia en una muestra infantil con seguimiento y, en una muestra independiente, si se asociaban a la enfermedad arterial coronaria (EAC) prematura y tasa de filtración glomerular estimada (TFGe) disminuida. Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) rs7678287 de *SLC2A9* ( $\beta = -0.48$  mg/dl,  $p=1.57 \times 10^{-42}$ ) y rs2231142 de *ABCG2* ( $\beta = 0.23$  mg/dl,  $p=2.42 \times 10^{-10}$ ) mostraron asociación a nivel de genoma completo con el AUS. La asociación estratificada por ancestría local mostró diferencias en las señales de asociación entre los segmentos de origen indígena y europeo en *SLC2A9*. Entre 274 niños sin hiperuricemia, 39 (14.23%) la desarrollaron en un periodo de 2 años. Los genotipos de *SLC2A9* y de *ABCG2* no se asociaron al desarrollo de hiperuricemia en esta población, lo cual sugiere una mayor participación de factores ambientales. En la población adulta independiente, a pesar de que cada 1 mg/dl de aumento en el AUS estuvo asociado con EAC prematura (RM = 1.16, IC 95% 1.06 – 1.27) tras ajustar por factores de riesgo cardiovascular tradicionales, los genotipos de *SLC2A9* y de *ABCG2* no lo estuvieron. El AUS también se asoció a TFGe disminuida (RM = 1.66, IC 95% 1.39 – 2.00). El genotipo de *ABCG2* estuvo asociado a una TFGe disminuida en casos con EAC (RM = 4.20, IC 95% 1.52 – 13.68). En estos sujetos con alto riesgo cardiorenal, la excreción intestinal del ácido úrico puede tener una función compensatoria importante.

En conclusión, *SLC2A9* y *ABCG2* son los genes de mayor relevancia en la variación común del AUS. La variación en estos genes no tiene un papel clave en el desarrollo de hiperuricemia en escolares a 2 años. El AUS está asociado a EAC prematura y TFGe disminuida incluso tras considerar otros factores de riesgo. No se encontró evidencia de una contribución causal del AUS a la EAC prematura.

## Abstract

Serum Uric Acid (SUA) is an heritable trait associated with cardiovascular disease and reduced kidney function. Polymorphisms in *SLC2A9*, a gene that encodes a transporter expressed in renal tubules, have been associated with SUA in several populations, but associated variants differ between studies. On the other hand, a causal role has been proposed for the Q141K (rs2231142) polymorphism in *ABCG2*, a transporter mainly expressed in gut. The contribution of genetic variants that affect SUA on cardiovascular disease is debated and few studies have addressed their effect on glomerular filtration. We did genome-wide association with SUA in 2,154 children and adults, analyzed whether selected variants with genome-wide effect were associated with the development of hyperuricemia in a childhood cohort and, in an independent sample, if they were associated with premature coronary artery disease (CAD) and reduced estimated glomerular filtration rate (eGFR). Single nucleotide polymorphisms rs7678287 in *SLC2A9* ( $\beta = -0.48$  mg/dl,  $p=1.57 \times 10^{-42}$ ) and rs2231142 in *ABCG2* ( $\beta = 0.23$  mg/dl,  $p=2.42 \times 10^{-10}$ ) showed genome-wide significant SUA association. Local ancestry stratified association in *SLC2A9* showed differences in association signals depending on native or European origin. Amongst 274 children without hyperuricemia, 39 (14.23%) developed it in a 2 year period. *SLC2A9* or *ABCG2* genotypes were not associated with the development of hyperuricemia in this population, which suggests a larger contribution of environmental factors. In the independent adult population, despite each 1 mg/dl increase in SUA was associated with premature CAD (OR = 1.16, 95% CI 1.06 – 1.27) after adjusting for traditional cardiovascular risk factors, *SLC2A9* and *ABCG2* genotypes did not show such association. SUA was also associated with a reduced eGFR (OR = 1.66, 95% CI 1.39 – 2.00). *ABCG2* genotype was associated with reduced eGFR in CAD cases (OR = 4.20, 95% CI 1.52 – 13.68). In these subjects with high cardiorenal risk, intestinal uric acid excretion may have an important compensatory role.

In conclusion, *SLC2A9* and *ABCG2* are the most important genes for common SUA variation. Allelic differences in these genes do not play a fundamental role in the development of hyperuricemia in school-aged children during a 2 year period. SUA is associated with premature CAD and reduced eGFR even after considering other risk factors. No evidence was found for a causal contribution of SUA to premature CAD.

# Introducción

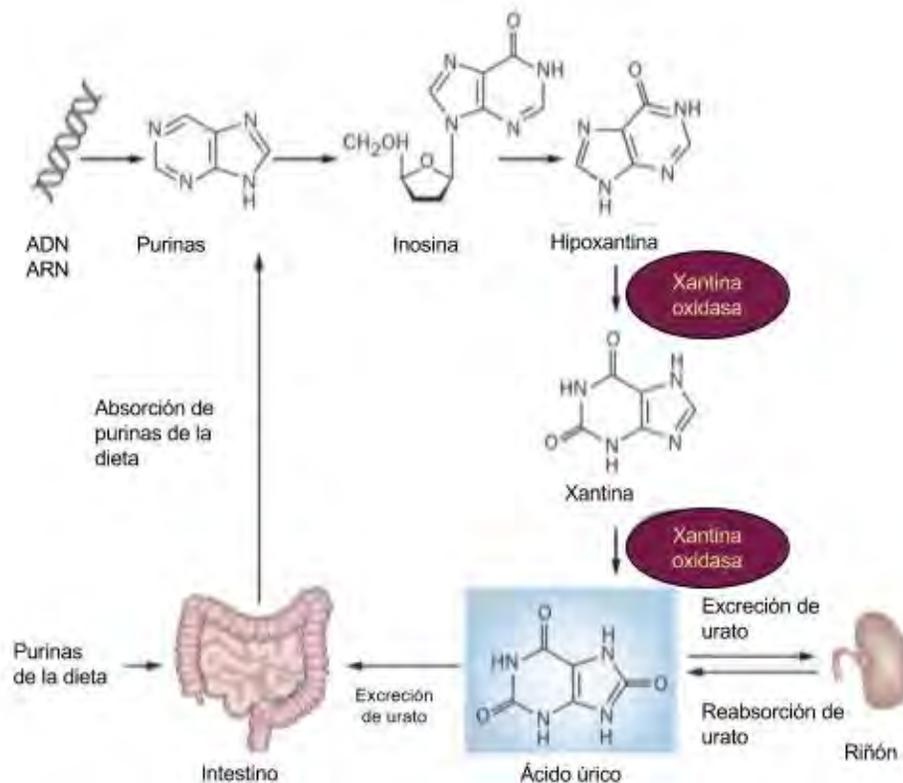
## Producción, eliminación y actividad del ácido úrico

El ácido úrico es el producto final del catabolismo de las purinas en el humano y los primates más cercanos a este. La enzima limitante para su producción es la xantina oxidasa (XO, nombre oficial xantina deshidrogenasa), de expresión ubicua pero cuyos niveles proteínicos son considerablemente mayores en células epiteliales hepáticas, intestinales y mamarias. XO cataliza la oxidación de hipoxantina en xantina y de xantina a ácido úrico (Battelli et al. 2016; Uhlen et al. 2015). Las purinas, de donde derivan los sustratos de XO, pueden provenir de la dieta o de fuentes endógenas; como el catabolismo de ácido desoxirribonucleico (ADN), ácido ribonucleico (ARN) y nucleótidos energéticos. En condiciones fisiológicas el ácido úrico no se almacena en ningún tejido, excretándose por vía renal en un 65%, mientras que la eliminación extrarrenal la efectúa principalmente el intestino y en un porcentaje menor al 2% el sistema hepatobiliar y las glándulas salivales (Figura 1) (Hyndman et al. 2016; Hosomi et al. 2012). A diferencia de especies pertenecientes a la familia *Hominidae*, en roedores y otros mamíferos el ácido úrico sufre una transformación adicional antes de ser excretado, es hidroxilado por la uricasa para generar alantoína, producto altamente soluble. Durante la especiación de los simios mayores, la uricasa acumuló mutaciones de sentido erróneo que fueron disminuyendo su actividad y posteriormente mutaciones sin sentido con lo que se convirtió en un pseudogen. Tras este proceso, que llevó 8-20 millones de años, la concentración sérica de ácido úrico aumentó 3-10 veces en primates con respecto a mamíferos con uricasa activa (Tan et al. 2016).

Se postula que la inactivación de la uricasa brindó una ventaja selectiva, particularmente en situaciones de mayor longevidad, ya que el ácido úrico neutraliza radicales peróxido e hidroxilo (Sautin & Johnson 2008). En apoyo a esta teoría se ha observado que los sujetos con enfermedad de Parkinson tienen niveles menores de ácido úrico sérico (AUS) que sujetos controles de la misma edad (Gao et al. 2016). Incluso se han observado beneficios de la administración de ácido úrico a individuos con evento vascular cerebral isquémico agudo (Chamorro et al. 2014). El ácido úrico también es un agente quelante férrico y tiene capacidad de disminuir la inactivación de la superóxido dismutasa en el medio extracelular. Así, en parte por su abundancia, el AUS es responsable de aproximadamente la mitad de la actividad antioxidante del plasma (So & Thorens 2010). En contraposición a un papel fisiológico del ácido úrico, los defectos monogénicos en su metabolismo muestran que no es una molécula indispensable. La xantinuria, enfermedad provocada por mutaciones con pérdida de función de XO y en la cual el AUS es indetectable, es asintomática en el 50% de los afectados. Entre los que tienen manifestaciones la más frecuente es obstrucción urinaria por litos de xantina e insuficiencia renal secundaria (Berry & Hare 2004). Aunque, probablemente por ser una enfermedad rara (frecuencia 1/69 000 sujetos, Ichida, et al. 2012) no se ha analizado si en estos pacientes existe mayor o menor riesgo para otro tipo de enfermedades crónicas. En cuanto a los individuos con hipouricemia por defectos en la reabsorción renal de ácido úrico, el 90% son asintomáticos (Ichida et al. 2008).

Uno de los principales aspectos por el cual se ha estudiado al ácido úrico es su precipitación en forma de cristales de urato monosódico en el sinovio articular. Esto ocurre a partir de concentraciones cercanas a 6.85 mg/dl, dependiendo de la temperatura (Dalbeth et al. 2016). Como referencia, el AUS

promedio en la encuesta nacional de salud estadounidense es de 5.33 mg/dl (Juraschek et al. 2013). La respuesta inflamatoria a los depósitos articulares de urato monosódico conforma la gota sintomática, enfermedad inflamatoria estéril crónica de alta prevalencia (Dalbeth et al. 2016). Retomando el tema de la posible función del ácido úrico, en una búsqueda metabólica no dirigida se identificó al ácido úrico como coadyuvante esencial de la activación de linfocitos T mediada por células dendríticas en situaciones de daño celular y en ausencia de antígenos extraños (Shi et al. 2003). Por esta característica, de la cual la gota sería un resultado patológico derivado de concentraciones excesivas de AUS, se ha propuesto al ácido úrico como alerta de daño celular al sistema inmune (Rock et al. 2013). Lo anterior sugiere que el ácido úrico tiene funciones, si bien incipientes en términos evolutivos, como mitigador del estrés oxidante y como desencadenante de la respuesta inflamatoria independiente de patógenos.



**Figura 1: Fuentes y vías de excreción del ácido úrico.** El metabolismo de purinas endógenas o exógenas resulta en la producción de ácido úrico el cual puede excretarse por vía renal (cerca del 65%) o por vía intestinal (cerca del 33%). Adaptado de Rock et al. 2013.

## Excreción renal del ácido úrico

Además de la inactivación de la uricasa, el humano difiere de otros mamíferos con respecto a la fracción excretada de ácido úrico. La fracción excretada de un compuesto se refiere a la razón entre la cantidad de soluto eliminada en la orina y la cantidad de soluto filtrada en el glomérulo, en términos generales esta depende de la reabsorción (cuya acción disminuye la fracción excretada) y la secreción

tubular (que aumenta la fracción excretada). La fracción excretada de ácido úrico es del 10% en humanos, mientras que es del 40% en rata y del 200% en cerdo (Mandal & Mount 2015). El ácido úrico es filtrado libremente en el glomérulo, para ser reabsorbido en una proporción cercana al 95% y un 5% es secretado hacia la orina (Hyndman et al. 2016). La reabsorción está mediada principalmente por URAT1, proteína localizada en la membrana tubular apical y que intercambia al ácido úrico con aniones orgánicos como el lactato. Este transportador está codificado por el gen *SLC22A12*, de la familia de los transportadores de iones orgánicos en su rama de transportadores de aniones orgánicos (OAT, por sus siglas en inglés) (Enomoto et al. 2002). El probenecid, el fenofibrato y el losartán son fármacos que inhiben URAT1, por lo cual tienen efecto uricosúrico (Hamada et al. 2008). Otras proteínas de la misma familia, OAT4 y OAT10, también facilitan el transporte del ácido úrico de la luz tubular al interior de la célula epitelial. En la membrana basolateral, GLUT9 (también llamado URATv1, codificado por *SLC2A9*) facilita el traslado del ácido úrico hacia el intersticio renal y por tanto a la circulación. Existe una forma corta de *SLC2A9* que se expresa en el lado luminal del túbulo colector de función desconocida (Kimura et al. 2014).

Los mediadores de la secreción del ácido úrico están menos caracterizados. Los estudios histoquímicos y de genética humana ubican a las proteínas NPT1 y NPT4 (codificados por los genes *SLC17A1* y *SLC17A3*, respectivamente) como secretores de ácido úrico en la membrana apical (Chiba et al. 2015). En la membrana basal, OAT1, OAT2, OAT3 e incluso GLUT9 podrían tener un papel en este transporte. Esto implicaría que, como otras proteínas transmembranales que participan en el transporte facilitado, GLUT9 podría movilizar al ácido úrico tanto hacia el intersticio como al citoplasma, aunque su actividad de transporte que favorece la reabsorción es más importante (Hyndman et al. 2016).

## **Frecuencia de la hiperuricemia y modificadores del ácido úrico sérico**

A pesar de que la traducción de XO se regula de manera estrecha y de que los distintos transportadores del ácido úrico confieren una amplia capacidad para la regulación del AUS, su elevación es frecuente. En la encuesta nacional de salud estadounidense, en la que se definió hiperuricemia en mujeres y hombres como valores de AUS mayor a 5.7 mg/dl y de 7.0 mg/dl, la proporción de mujeres y hombres que rebasaron el corte respectivo fue de 21.6% y de 21.2% (Zhu et al. 2011). Aun cuando en México no existen estudios con representatividad a nivel nacional, entre 1,279 mexicanos sanos del estudio Genética de la Enfermedad Aterosclerosa (GEA) con promedio de edad de 52 años la frecuencia de hiperuricemia fue de 29.8% en hombres y de 14.3% en mujeres (Posadas-Sánchez et al. 2014). Entre 6,705 trabajadores y sus familiares con promedio de edad de 42.9 años la frecuencia de hiperuricemia fue de 20.6% en hombres y 13.5% en mujeres (Meneses-Leon et al. 2014). Ambos estudios consideraron hiperuricémicos a los varones con AUS  $\geq 7.0$  mg/dl, mientras que la definición de hiperuricemia en mujeres difirió ligeramente entre ambos estudios; con un corte de 6.0 mg/dl en GEA y de 5.8 mg/dl en el estudio de trabajadores.

Se ha observado que la frecuencia de hiperuricemia es mayor en hombres (incluso con puntos de corte más laxos en este sexo) y a mayor edad (Zhu et al. 2011). Antes de la pubertad, la concentración sérica de ácido úrico es similar en ambos sexos, mientras que a partir de la adolescencia el AUS es más

elevado en hombres (Elizalde-Barrera et al. 2017; Scheepers et al. 2017). Tanto en niñas como en niños, el AUS aumenta con la pubertad y, aunque no existen estudios longitudinales que valoren la excreción de ácido úrico en la infancia, los estudios transversales que valoran niños a distintas etapas del desarrollo sugieren que este cambio se debe a una mayor reabsorción tubular. Además, este cambio es más acentuado en hombres lo que explicaría un mayor AUS en este sexo después de la adolescencia (Stiburkova & Bleyer 2012; Kubota et al. 2011). El mecanismo por el cual ocurre no está totalmente dilucidado. En un seguimiento durante 2 ciclos menstruales a 250 mujeres con un IMC promedio de 24.1 kg/m<sup>2</sup>, se observó que el AUS estaba inversamente relacionado a los niveles de estradiol, lo que sugiere que el estradiol disminuye la reabsorción tubular del ácido úrico. En este estudio no se determinó la fracción excretada de ácido úrico (Mumford et al. 2013). El que las mujeres posmenopáusicas tengan mayores niveles de AUS también apoya una participación hormonal en la regulación del ácido úrico (Wingrove et al. 1998; Zhang et al. 2013). Sin embargo, el único estudio que ha evaluado la excreción renal de ácido úrico en respuesta a estradiol en mujeres de edad reproductiva no identificó cambios atribuibles a este esteroide (Antón et al. 1986). Por otro lado, en mujeres posmenopáusicas se ha observado que la testosterona exógena disminuye la depuración de ácido úrico, y también se ha visto relación positiva entre dosis de testosterona administrada y AUS en sujetos que cambian de género; así como los niveles de testosterona sérica en adolescentes (Adamopoulos et al. 1977; Kurahashi et al. 2013; Denzer et al. 2003). Por ello es probable que la testosterona participe en la regulación del ácido úrico, aumentando los niveles circulantes.

## **El índice de masa corporal como modulador del ácido úrico sérico**

La obesidad se define como un peso corporal desproporcionado para la talla con acumulación de tejido adiposo en exceso que suele acompañarse de inflamación crónica sistémica leve (González-Muniesa et al. 2017). El sobrepeso y la obesidad pueden determinarse a partir del índice de masa corporal (IMC), que en el sistema internacional de unidades es la razón entre el peso en kilogramos y el cuadrado de la talla en metros. En adultos se considera un IMC normal entre 18.5-24.99 kg/m<sup>2</sup>, sobrepeso de 25-29.99 kg/m<sup>2</sup> y obesidad  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>. A su vez, la obesidad se puede clasificar en clase I, con un IMC entre 30-34.99 kg/m<sup>2</sup>, clase II con un IMC de 35-39.99 kg/m<sup>2</sup> y clase III o extrema con IMC  $\geq 40.00$  kg/m<sup>2</sup> (World Health Organization. 2000). En niños, la definición de obesidad utiliza el IMC de manera indirecta. Dada la mayor variación en la relación adecuada entre el peso y la talla que se observa en la infancia, la definición del estado nutricional considera el IMC del infante dentro de una distribución percentilar con base en una población de referencia del mismo sexo y edad. En niños se considera adecuado el IMC entre las percentilas 5-85, sobrepeso entre las percentilas 85-94 y obesidad a partir de la percentila 95 (Barlow & Expert Committee 2007).

En diversos estudios se ha observado asociación entre los valores de AUS e IMC (Hikita et al. 2007; Chen et al. 2013). La encuesta nacional de salud y nutrición de Estados Unidos muestra que el promedio de AUS es de 4.85 mg/dl en los sujetos normopeso y de 6.04 mg/dl en los obesos clase II y III. Como es de esperarse, la frecuencia de hiperuricemia tiene el mismo comportamiento, con una prevalencia de 7.26% en el grupo normopeso, mientras que en aquellos con IMC de 35 kg/m<sup>2</sup> o más la prevalencia de hiperuricemia es de 36.73% (Juraschek et al. 2013). En México, la relación entre IMC y

AUS se estudió en una cohorte con promedio de edad de 62.8 años y prevalencia de diabetes tipo 2 de 25.31%. Al dividir esta población por cuartiles de AUS, los valores de IMC iban de 28.9 kg/m<sup>2</sup> en la cuartila de más baja a 30.4 kg/m<sup>2</sup> en la más alta ( $p < 0.001$ ) (López-Molina et al. 2013).

En niños también se ha observado que el aumento en el IMC se acompaña de mayores concentraciones de AUS. Un estudio longitudinal de población abierta en Bogalusa, EUA, analizó la variación en el IMC de acuerdo a los valores de AUS en 2,614 niños de 4-18 años y observó un coeficiente de 1.10 kg/m<sup>2</sup> por cambio de 1mg/dl en el AUS ( $p < 0.001$ ) (Sun et al. 2014). Otro estudio con muestreo poblacional que incluyó 2,067 sujetos de 6 a 20 años mostró asociación entre los niveles de AUS por encima de la percentila 75 y obesidad con una razón de momios (RM) de 2.87 (IC 95% 1.90-4.95,  $p < 0.001$ ) (Kong et al. 2013).

En la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016 se obtuvieron mediciones antropométricas de 8,275 adultos y de 3,184 niños entre 5 y 11 años representativos de la población mexicana. En adultos de medio rural la prevalencia de obesidad pasó de 15.4 % en el 2000 a 21.5% en la última encuesta, mientras que en el medio urbano pasó de 21.4% en el 2000 a 29.6% en el 2016. En niños de 5 a 11 años de medio rural, la prevalencia de obesidad pasó de 9.8% en 2012 a 12.5% en el 2016, en el contexto urbano la obesidad infantil ya se encontraba en niveles elevados en 2012 y tuvo poco cambio para 2016, siendo de 16.3% y 16.4%, respectivamente (Secretaría de Salud 2017). En los Estados Unidos de América el aumento en la frecuencia de obesidad se ha acompañado de un aumento en la frecuencia de hiperuricemia y gota (Juraschek et al. 2013). En México se ha observado un aumento en enfermedades metabólicas crónicas como la diabetes tipo 2 a la par del aumento en la prevalencia de obesidad (Bello-Chavolla et al. 2017; Panton et al. 2018), lo que hace factible que también la frecuencia de hiperuricemia haya aumentado en las últimas décadas, aunque esto no se ha determinado.

Los estudios epidemiológicos, tanto en niños como en adultos, concuerdan en mostrar una relación positiva entre el IMC y el AUS. Sin embargo, no es factible establecer causalidad entre estos fenómenos o la dirección de esta a partir de los trabajos mencionados, en particular porque son análisis transversales. Ciertos estudios clínicos sugieren que la obesidad lleva a la hiperuricemia. Por ejemplo, el tratamiento quirúrgico de la obesidad clase III induce disminución del AUS (Dalbeth et al. 2014; Oberbach et al. 2014). Debido a que la acumulación de tejido adiposo, particularmente visceral, se asocia a resistencia a la insulina (de Luca & Olefsky 2008) y a su vez la insulina disminuye la excreción renal del ácido úrico (Quiñones Galvan et al. 1995) se ha postulado que el mecanismo por el cual la obesidad lleva a la elevación del AUS es dependiente de la acción renal de la insulina (So & Thorens 2010). De manera reciente, se ha presentado que la administración de insulina a ratas sanas aumenta la expresión de URAT1 en aislados membranales de riñón, lo que conlleva a mayor reabsorción de ácido úrico y que este efecto no ocurre cuando se induce hipoglucemia mediante la inhibición del transportador de sodio-glucosa tipo 2 (Toyoki et al. 2017). En población mexicana no diabética, la función de las células  $\beta$  pancreáticas y la resistencia a la insulina cuantificada por el modelo homeostático de valoración (HOMA, por sus siglas en inglés) se correlacionaron significativamente con el AUS únicamente en sujetos con obesidad, con coeficientes de correlación de 0.559 y 0.326 respectivamente (Elizalde-Barrera et al. 2017). Un estudio longitudinal con seguimiento a un año de 30 pacientes con gota, quienes también presentaban resistencia a la insulina y que no

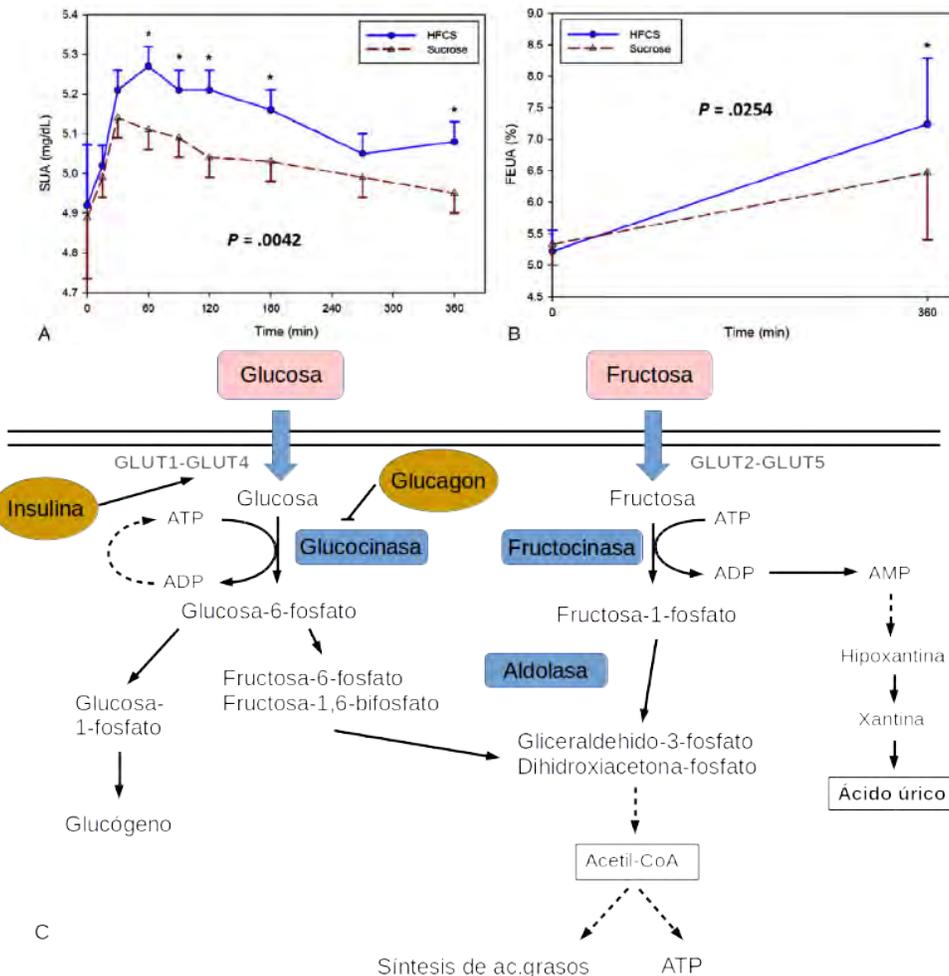
recibían tratamiento para la hiperuricemia, observó que tratamiento con metformina mejoró la sensibilidad a la insulina y disminuyó los niveles de AUS de 9.57mg/dl a 7.44 mg/dl ( $p < 0.01$ ) (Barskova et al. 2009). Estos estudios apoyan la hipótesis que la resistencia a la insulina lleva a hiperuricemia.

Además del aumento en la reabsorción inducida por insulina, es posible que la obesidad se asocie al aumento en el ácido úrico por promover su síntesis. En modelos murinos de obesidad tanto genética como inducida por dieta se ha observado incremento en la actividad de XO en el tejido adiposo (Tsushima et al. 2013). En humanos se desconoce si el tejido adiposo puede ser una fuente importante de ácido úrico circulante. Un estudio pequeño pero bien controlado, de individuos hospitalizados que recibieron una misma dieta, comparó los niveles de AUS y la excreción urinaria de ácido úrico entre sujetos normopeso y con obesidad (con acumulación de tejido adiposo subcutáneo o con una mayor acumulación de tejido adiposo visceral). Ambos grupos con obesidad tuvieron niveles mayores de AUS que los individuos sin obesidad. El grupo con la menor fracción excretada de ácido úrico fue el de obesos a expensas de tejido adiposo subcutáneo, seguido del de obesos a expensas de tejido adiposo visceral y por último los normopeso (Matsuura et al. 1998). Esto sugiere que el aumento de tejido adiposo visceral afecta tanto la excreción como la producción de ácido úrico, aunque la evidencia es menos sólida que en el ratón. Además, dependiendo del tipo celular, la presencia de hipoxia, las concentraciones de IL-1, IL-6 y el cortisol estimulan la expresión de XO (Berry & Hare 2004), y todos ellos se ven aumentados en la obesidad (Urwyler et al. 2017).

Por otro lado, algunos estudios sugieren que la elevación del ácido úrico antecede a la ganancia de peso. En un trabajo con componente prospectivo que probó 280 metabolitos el AUS se asoció a ganancia de peso (Menni et al. 2017). En un estudio de seguimiento a 5 años que incluyó 433 varones sin obesidad también se observó que un mayor AUS predecía aumento de peso (Masuo et al. 2003). Además, en un modelo de rata alimentada con fructosa, el aumento del AUS y del peso son concomitantes (Nakagawa et al. 2006). Aunque las principales evidencias favorecen la hipótesis que la obesidad es la que condiciona un aumento del AUS, no podemos descartar que el ácido úrico participe en promover la adipogénesis (Johnson et al. 2013) y por tanto el aumento de peso.

Si bien la fracción excretada de ácido úrico; la cual se puede ver modificar por el sexo, la edad y el IMC (Dalbeth et al. 2015) es la principal determinante del AUS, la disponibilidad de purinas afecta la producción del ácido úrico (Becker et al. 1986). En estudios epidemiológicos se ha abordado la pregunta del efecto de la alimentación en el AUS independientemente del IMC. Un estudio con muestreo poblacional analizó la frecuencia de consumo de alimentos y el AUS. El consumo de carne, bebidas gaseosas y bebidas endulzadas ajustado por sexo, edad, IMC, calorías totales y alcohol se asoció positivamente con el AUS, mientras que el consumo de lácteos y de calcio se asoció a un menor AUS. Los autores indican que una limitación del estudio es la correlación entre la frecuencia de consumo de distintos alimentos y nutrimentos, por lo que no se puede adjudicar con precisión el efecto a un alimento particular (Zgaga et al. 2012). Además, en un seguimiento a 12 años de 47,120 hombres se encontró asociación entre el consumo de carne y mariscos con el desarrollo de gota, mientras que el consumo de lácteos disminuyó el riesgo de esta patología. En ninguno de estos estudios se encontró asociación de vegetales ricos en purinas con el AUS o gota (Zgaga et al. 2012; Choi et al. 2005; Choi et al. 2004).

En la última década los efectos metabólicos de la fructosa se han estudiado con gran interés. Al compararse los niveles de AUS en sujetos sanos que recibieron distintas dosis de jarabe de maíz de alta fructosa por 12 días se encontró un efecto dosis dependiente entre el consumo de fructosa y la concentración de AUS (Stanhope et al. 2015). Al comparar los efectos agudos de la ingesta de jarabe de maíz de alta fructosa con los de la sucrosa también se observa una mayor elevación del AUS entre los que consumen jarabe de maíz y esta se da a pesar de que la fracción excretada de ácido úrico aumenta (Le et al. 2012, Figura 2 a y b). Además, en adultos mexicanos el consumo de 3 o más bebidas azucaradas al día se asoció con un aumento de 0.38 mg/dl del AUS en hombres y de 0.21 mg/dl en mujeres comparado con sujetos que no consumían bebidas azucaradas (Meneses-Leon et al. 2014). De manera interesante, la infusión de fructosa a sujetos sanos induce disminución de adenosin trifosfato (ATP) (Raivio et al. 1975). Se postula que esta disminución se debe a que la fructocinasa no está sujeta a retroalimentación negativa como la glucocinasa. Ante un control menos estricto, la fructosa administrada se fosforila rápidamente lo que induce descenso del ATP con acumulación de ADP, el cual conlleva un aumento en la síntesis de ácido úrico (Jensen et al. 2018, Figura 2 c).



**Figura 2: Efecto de la administración de fructosa en la síntesis de ácido úrico.**  
a) Curva de ácido úrico sérico tras la administración de una bebida comercial con jarabe de maíz de alta fructosa o la misma bebida endulzada con sucrosa en sujetos sanos. b) Curva de la fracción excretada de ácido úrico tras la administración de estas bebidas (Le et al. 2012) c) Posible mecanismo por el cual el consumo de fructosa induce de manera aguda mayor elevación del ácido úrico sérico que la glucosa. El transporte y la fosforilación de esta última están reguladas por las hormonas insulina y glucagon entre otras, mientras que en la fructosa estos pasos no presentan una regulación inmediata (adaptado de Legeza et al. 2017).

## El ácido úrico como factor de riesgo cardiometabólico

Diversos estudios presentan que el AUS, además de estar asociado con el IMC, está asociado de manera independiente a otros factores de riesgo cardiovascular como la resistencia a la insulina (Krishnan, Pandya, et al. 2012), lípidos circulantes y presión arterial (Sun et al. 2014), e incluso con la enfermedad arterial coronaria (EAC) (Kleber et al. 2015). Además, dada la relación de la función renal con el AUS no es sorpresa que existan estudios que los asocie también a la insuficiencia renal crónica (IRC) (Li et al. 2014). A pesar de ello su papel como factor de riesgo cardiorenal sigue siendo materia de debate aunque cada vez es más reconocido (Wheeler et al. 2005; Pagidipati et al. 2017; Wang et al.

2016). Sin embargo, en el estudio Framingham no se observó asociación del AUS con la mortalidad cardiovascular tras ajustar por diversos factores de riesgo, principalmente la presión arterial (Culleton 1999). Además, no hay estudios de intervención que demuestren que la reducción del AUS disminuya el riesgo de EAC o IRC (Kojima et al. 2017), incluso se le ha descrito como un “transeúnte inocente” (Bavishi et al. 2016).

Dadas las propiedades antioxidantes del ácido úrico puede resultar paradójico que niveles elevados de AUS se asocien con complicaciones metabólicas propias de la obesidad e incluso con EAC e IRC. Los estudios epidemiológicos iniciales realizados en 1970 presentaron asociación entre el AUS y la presión arterial y desde entonces se ha observado en distintas poblaciones (Fessel et al. 1973; Gruskin 1985; Rovda et al. 1990). Una característica interesante de esta relación es que parece ser más fuerte en población joven (Feig 2014). Así, en niños de 8-13 años con riesgo elevado de enfermedad cardiovascular (por obesidad, hipertensión o antecedentes familiares) seguidos por 18 meses, el AUS basal fue un predictor independiente del aumento de la presión arterial (Viazzi et al. 2016). Más allá de los estudios observacionales, en un ensayo clínico controlado con participantes de 11 a 17 años con  $\text{AUS} \geq 6\text{mg/dl}$ , el tratamiento con el inhibidor de XO alopurinol redujo 6.9mmHg de la presión arterial sistólica en comparación al placebo (Feig et al. 2008). En cambio, otro estudio aleatorizado en sujetos hiperuricémicos con una edad promedio de 53.6 años (rango 26 a 77), no observó efecto de la intervención farmacológica (feboxostat, otro inhibidor de XO) sobre la presión arterial. Cuando se separó a los sujetos por función renal, se observó una reducción de 6.6 mmHg de la presión arterial en los sujetos con tasa de filtración glomerular estimada (TFGe)  $>90\text{ mL/min}$  (Gunawardhana et al. 2017). Esto concuerda con un modelo murino con hipertensión y niveles elevados de AUS inducidos por la administración de inhibidores de uricasa (Mazzali et al. 2001), en el cual en etapas tempranas la suplementación con L-arginina restituye la presión arterial y revierte alteraciones renales inducidas por el aumento de ácido úrico como la hipertensión glomerular y la vasoconstricción preglomerular. Al ser la L-arginina el sustrato de la sintasa de óxido nítrico se ha sugerido que los efectos hipertensivos del ácido úrico resultan de una disminución en la producción de NO, además esta disminución parece estar mediada por NF- $\kappa$ B (Cai et al. 2017). Tras 4 semanas de tratamiento con inhibidores de uricasa la L-arginina ya no revierte la hipertensión provocada (Sánchez-Lozada et al. 2007). En esta etapa se observa engrosamiento arteriolar, se desplaza la presión de natriuresis y los valores de presión arterial se vuelven independientes de los del ácido úrico (Feig 2014). Si el mecanismo por el cual el AUS aumenta el riesgo de EAC es la hipertensión es esperable que la asociación entre AUS y EAC desaparezca al ajustar por presión arterial (Culleton 1999). Además, hay estudios de seguimiento longitudinal en los que el AUS permanece asociado con la EAC a pesar de ajustar por la presión arterial o tratamiento antihipertensivo (Pagidipati et al. 2017; Wang et al. 2016). Esto sugiere que la hiperuricemia pudiera favorecer la EAC por otros mecanismos, además de elevar la presión arterial.

En años recientes, una observación epidemiológica que se ha fortalecido es la observada entre el AUS y el síndrome metabólico. En este sentido un metanálisis de 11 estudios prospectivos con seguimiento mínimo de 1 año, encontró un riesgo relativo de 1.30 (IC 95% 1.22-1.38) para síndrome metabólico por cada 1 mg/dl de elevación de los niveles de ácido úrico sérico (Yuan et al. 2015). A diferencia del cambio en la presión arterial inducido por los inhibidores de uricasa en un modelo murino, las demás características del síndrome metabólico no se reproducen reprimiendo esta enzima. Sin embargo, en un

modelo de rata alimentada con fructosa se observó un aumento en la producción de ácido úrico y su elevación en suero se acompañó de menor secreción de insulina, inflamación del tejido adiposo y una deficiencia de óxido nítrico (Johnson et al. 2013). Aunque este modelo es interesante por reproducir varias de las alteraciones del síndrome metabólico, la distinción entre los efectos de la fructosa y del ácido úrico puede ser complejo.

Además de los efectos del AUS sobre la presión arterial resultado de cambios glomerulares, también hay asociación entre el AUS y la depuración renal. La hiperuricemia, incluso de bajo grado, induce nefroesclerosis (Messerli et al. 1980). Un estudio de seguimiento por 7 años en 21,475 voluntarios sanos mostró asociación de los niveles de AUS > 9 mg/dl con una TFGe disminuida [RM=3.12 (IC 95% 2.29 – 4.25)] (Obermayr et al. 2008). Otro estudio en 48,177 sujetos con un tiempo de seguimiento similar, identificó asociación de la presencia de hiperuricemia con riesgo para desarrollar IRC terminal. La asociación fue estadísticamente significativa solo en mujeres, con una razón de riesgo de 5.77 (IC 95% 2.3-12.4) (Iseki et al. 2004). Asimismo, un metanálisis de 7 estudios prospectivos encontró una asociación significativa del AUS con el desarrollo de IRC (Li et al. 2014). De manera semejante a la hipertensión, los inhibidores de XO reducen los cambios vasculares e inflamatorios renales derivados de la hiperuricemia por inhibición de uricasa en el modelo de rata (Sánchez-Lozada et al. 2005). Además, el uso de inhibidores de XO en pacientes con IRC parece disminuir la progresión de la enfermedad (Sircar et al. 2015).

Algunos de los efectos de daño celular del AUS pueden deberse a sus propiedades óxidoreductoras, particularmente cuando el ácido úrico no se encuentra en plasma si no al interior de la membrana plasmática. Tanto en células endoteliales de cordón umbilical como en adipocitos se observó aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno, mayor senescencia y apoptosis con la exposición a ácido úrico. Estos cambios no se observan cuando se agrega probenecid, que inhibe el transporte intracelular del ácido úrico, al medio de cultivo (Yu et al. 2010; Sautin et al. 2007). En hepatocitos, los niveles intracelulares de ácido úrico se asocian a acumulación de triglicéridos (Lanaspa et al. 2012). En vista de las discrepancias del AUS como factor de riesgo cardiovascular en los estudios epidemiológicos se ha propuesto que el aumento en la actividad de XO es el que induce aterosclerosis y no el ácido úrico resultante, esto apoyado en que la XO tiene como subproducto peróxido de hidrógeno (Berry & Hare 2004). Sin embargo, la reducción del AUS con uricosúricos también tiene efecto vasodilatador, aunque la inhibición de XO es más potente (Johnson et al. 2013). Hay dos fenómenos que podrían explicar la aparente contradicción de los estudios epidemiológicos. Por un lado, es posible que no solo los niveles elevados de AUS sérico sean de riesgo cardiovascular, si no también los valores disminuidos, con lo que el riesgo conferido por el AUS no sería lineal si no en forma de jota (Odden et al. 2014), esto sería congruente con una función antioxidante en plasma y pero cuya acumulación intracelular promueve la síntesis de especies reactivas de oxígeno. Por otra parte, es posible que algunos efectos del AUS solo sean reversibles en etapas tempranas, como se ha observado en la circulación renal en rata (Sánchez-Lozada et al. 2005) y como sugieren los estudios clínicos de hipertensión (Feig et al. 2008; Gunawardhana et al. 2017).

En resumen, aunque los niveles indetectables de ácido úrico (deficiencia genética de XO) no presentan efectos a corto y mediano plazo, los estudios de biología comparada, *in vitro* y clínicos sugieren que el ácido úrico tiene una función en el organismo, probablemente como antioxidante en plasma. En cambio

a nivel intracelular, puede promover la generación de especies reactivas de oxígenos (Lanaspa et al. 2012), además de alteraciones de la circulación renal (Sánchez-Lozada 2018).

Como se mencionó, existen evidencias de la participación del IMC y la resistencia a la insulina en la elevación del AUS. En ese sentido es interesante hacer notar que los datos de la encuesta nacional de salud y nutrición estadounidense indican que en adolescentes de 12-19 años, la relación entre AUS y síndrome metabólico es más fuerte en hombres blancos y más débil en mujeres hispanas o afroestadounidenses (DeBoer et al. 2012). Esto sugiere que el sexo y factores genéticos o ambientales relacionados al origen étnico, pueden modular la relación del ácido úrico con el síndrome metabólico.

## **La genética en la variabilidad del ácido úrico sérico**

Aun cuando la edad, el sexo, el IMC y la dieta son factores con un efecto fuerte en la variación del AUS estos explican solo en parte la variación de este metabolito. Se ha observado que los valores de AUS se correlacionan entre padres e hijos ( $\rho = 0.190$ ,  $p < 0.01$ ) (French et al. 1967). Esto sugiere que la variación genética compartida pudiera participar en la modulación del AUS. Sin embargo, los miembros de una familia también son más similares entre sí con respecto a factores ambientales como la dieta y la actividad física por lo que no se puede atribuir este efecto exclusivamente a la variación genética compartida. La comparación de gemelos monocigóticos y dicigóticos es un diseño con gran potencial para discernir los efectos ambientales de los genéticos (Nelson et al. 2006). El fundamento de estos estudios es que ambos tipos de gemelos comparten el ambiente en el mismo grado mientras que la similitud genética de los gemelos dicigóticos es la mitad de la de los monocigóticos, estos últimos idénticos en su secuencia de ADN. La información que brindan este tipo de estudios es la proporción en la variabilidad de un rasgo atribuible a la variación genética (conocida como heredabilidad). Un estudio de este tipo encontró una heredabilidad en gemelos para la hiperuricemia de 60.0% (IC 95% 34.0-65.7) y de 49.6 % (IC 95% 31.4 – 65.2) tras ajustar por edad, IMC, antihipertensivos, diuréticos, alteraciones renales y diabetes (Krishnan, Lessov-Schlaggar, et al. 2012). La heredabilidad también se puede calcular, aunque de forma menos precisa, entre individuos con diversos grados de parentesco. Así, en niños hispanos con obesidad (principalmente de origen mexicano) y sus familiares, la heredabilidad del AUS ajustada por edad, sexo, y superficie corporal fue de 63% con un error estándar de 9%. Además, este estudio midió diversos parámetros de función renal y de excreción del ácido úrico, siendo la fracción excretada de ácido úrico la de mayor heredabilidad (74%), aunque también la carga glomerular de ácido úrico, la depuración de ácido úrico y la excreción de ácido úrico por volumen de filtración glomerular fueron altamente heredables (57-73%) (Chittoor et al. 2017).

La participación genética en distintos rasgos se ha descrito como un continuo que va desde variantes raras que presentan un efecto importante, hasta variantes comunes con un efecto pequeño y excepcionalmente, variantes comunes con un efecto intermedio a alto. El extremo de las variantes raras con efecto muy alto está representado por las enfermedades monogénicas. En el catálogo de herencia mendeliana humana en línea (OMIM, por sus siglas en inglés) (McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine 2017) se registran 15 genes cuyo defecto genera hiperuricemia, en todos los casos acompañados de otras alteraciones que pueden ir desde discapacidad mental hasta insuficiencia renal, pasando por hipoglucemia e intolerancia al ejercicio (Jinnah et al. 2000; Mineo et al. 1987). A modo de ejemplo, en la intolerancia hereditaria a la fructosa este carbohidrato es fosforilado pero su catabolismo

no prosigue por mutaciones en la aldolasa B. Así, ante la ingesta de fructosa se acumula fructosa-1-fosfato, seguido de disminución en el fosfato intracelular e incapacidad para re fosforilar AMP, el cual se degrada en ácido úrico. Esta enfermedad se acompaña de otras manifestaciones como distensión abdominal, náusea y vómito precipitados por la ingesta de fructosa. En casos severos no tratados se puede llegar a la insuficiencia renal y hepática (Bouteldja & Timson 2010). Por otra parte, se registran 5 genes cuyo defecto causa hipouricemia. Tres de estos genes participan directamente en la síntesis de ácido úrico; *XO*, *MOCOS* (gen cuya proteína sintetiza un cofactor de *XO*) y purina nucleósido fosforilasa. Los otros dos genes son transportadores renales cuya afinidad principal es para el ácido úrico, *SLC22A12* y *SLC2A9*. La deficiencia de estos transportadores aumenta la fracción excretada de ácido úrico por deficiencia en su reabsorción (Enomoto et al. 2002; Matsuo et al. 2008). Las causas monogénicas de alteraciones en el ácido úrico refuerzan su relación con el metabolismo energético y su regulación mediante la excreción renal.

La búsqueda de genes que participan en la hiperuricemia de origen multifactorial es relativamente reciente. Varios estudios de genes candidatos realizados entre 2000-2011 encontraron asociación entre la variante C677T de metileno-tetrahidrofolato-reductasa (*MTHFR*) y el AUS (Zuo et al. 2000). Más de un estudio también encontró asociación con el polimorfismo Trp64Arg del receptor beta adrenérgico 3 (Wang et al. 2011; Strazzullo et al. 2001).

La secuenciación del genoma completo de individuos de distintas poblaciones ha permitido caracterizar su variación genética común (International HapMap Consortium 2005). Esta caracterización ha dado a pauta los estudios de asociación de genoma completo (GWAS, por sus siglas en inglés), en los que se interroga de manera global la asociación de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés) con un rasgo (McCarthy et al. 2008). Los GWAS para AUS han identificado asociación para 28 genes. Entre ellos destaca por su significancia estadística y reproducibilidad la asociación con *SLC2A9*, el cual codifica para un transportador aniónico no selectivo con alta afinidad al ácido úrico expresado principalmente en riñón, aunque también en hígado e intestino delgado. La proteína resultante se conoce comúnmente como GLUT9, ya que se identificó primero como un transportador de carbohidratos (Phay et al. 2000). La asociación entre diversos SNP de *SLC2A9* y el AUS se ha visto en poblaciones de origen europeo, afroestadounidense y asiático (Köttgen et al. 2013; Giri et al. 2016). También se ha visto en adultos y niños estadounidenses de origen hispano (Voruganti et al. 2013; Voruganti et al. 2015) pero no se ha estudiado en poblaciones que residen en Latinoamérica. Cabe resaltar que los SNP de *SLC2A9* con mayor efecto en europeos difieren de los de mayor efecto en individuos asiáticos (Okada et al. 2012). Las variantes descritas en este gen son intrónicas y aunque no se ha identificado una variante causal o un mecanismo molecular que explique la asociación, la expresión de *SLC2A9* se ve modificada, principalmente la isoforma corta que se localiza del lado apical del epitelio tubular. Para la gran mayoría de las variantes reportadas el alelo menor se asocia con niveles de ácido úrico menores, congruente con una menor reabsorción de ácido úrico, posiblemente debido a una disminución de los transportadores apicales. El efecto de estas variantes es mayor en mujeres, tanto con respecto al AUS como en sus efectos sobre la expresión del gen (Döring et al. 2008). Además, la obesidad modifica el efecto de las variantes genéticas de *SLC2A9* asociadas al AUS en población asiática oriental y europea (Li et al. 2013; Huffman et al. 2015).

**Tabla 1: Comparación de los principales genes que contienen variantes asociadas al ácido úrico sérico.**

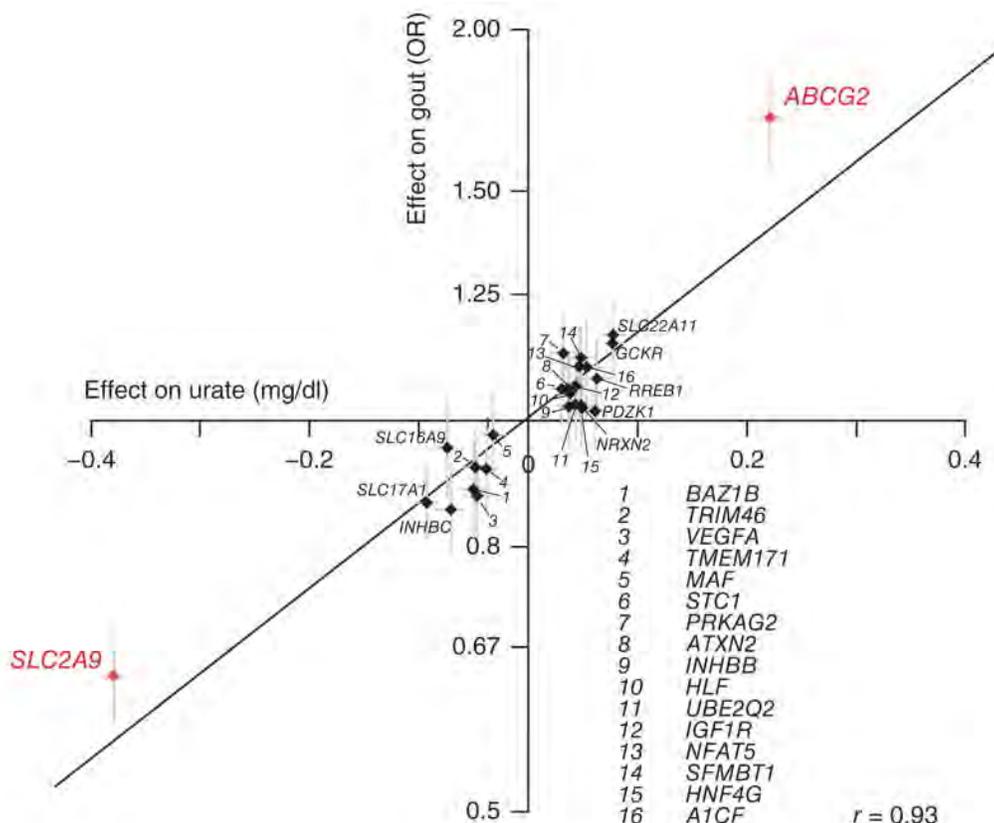
	<i>SLC2A9</i>	<i>ABCG2</i>
Localización cromosómica	4p16.1	4q22.1
Familia génica	Transporte facilitado de carbohidratos	Transportadores con casete de unión a ATP
Expresión (lecturas por millón de kilobases)	Rinón ~4.5, hígado 1.5-2, intestino delgado 1	Intestino delgado ~35, hígado 5, rinón 1
SNP asociados al ácido úrico sérico (freq. MXL >1%)	Decenas, probablemente difieran por población	rs2231142, rs2231137
Localización de las variantes	Intrónicas	Región codificante
Modificación de ARNm	Sí	No
Modificación de niveles de proteína	Sí	Sí
Efecto en hombres, GUGC	-0.269 mg/dl	0.270 mg/dl
Efecto en mujeres, GUGC	-0.460 mg/dl	0.181 mg/dl
Información de ENSEMBL, NCBI/gene, Köttgen <i>et al.</i> 2013, Merriman 2015, Woodward <i>et al.</i> 2013		

MXL: México-estadounidenses de Los Ángeles GUGC: Global urate genetics consortium

Otro gen con asociación ampliamente replicada con el AUS, aunque de efecto menor que *SLC2A9*, es el miembro 2 de la subfamilia G de los transportadores con casete de unión a ATP (*ABCG2*) (Zhang *et al.* 2013; Köttgen *et al.* 2013). A diferencia de la gran heterogeneidad alélica observada para el gen *SLC2A9*, las variantes de *ABCG2* asociadas con AUS y de frecuencia mayor al 1% son escasas. La más común es el SNP rs2231142, la cual condiciona un cambio de glutamina por lisina en la posición 141 (Woodward *et al.* 2013). Otra diferencia con *SLC2A9*, es que la expresión de *ABCG2* es baja en riñón y abundante en intestino delgado. Al producto de *ABCG2* también se le conoce como BCRP (proteína de resistencia del cáncer de mama, por sus siglas en inglés) ya que facilita la salida de quimioterapéuticos y otros xenobióticos de la célula (Taylor *et al.* 2017). A pesar de que el alelo menor de *ABCG2* Q141K se asocia a mayor AUS, la excreción urinaria de ácido úrico en los sujetos que lo portan esta aumentada con respecto a controles con el alelo silvestre. De manera similar, en ratones *Abcg2*<sup>-/-</sup> hay una menor eliminación intestinal de ácido úrico, lo que sugiere que *ABCG2* Q141K provoca hipoexcreción extrarenal de ácido úrico (Ichida *et al.* 2012). Además, la variante Q141K de *ABCG2* tiene un mayor efecto en hombres que en mujeres (Tabla 1) (Brandstätter *et al.* 2010). El efecto combinado de los SNP en *SLC2A9* y *ABCG2* explica 4-7% de la variación en el AUS (Köttgen *et al.* 2013).

Además de *SLC2A9* y *ABCG2*, la mayor parte de los genes asociados a AUS identificados mediante GWAS provienen del estudio realizado por el Consorcio Global de la Genética del Urato (GUGC, por sus siglas en inglés), que incluye el metanálisis de 14 estudios por lo que conjunta más de 110,000 adultos. Este trabajo replicó la asociación de variantes en *SLC2A9*, *ABCG2* y otros 8 genes, además de encontrar 18 señales nuevas (Figura 3). Al analizar el enriquecimiento de vías se encontró una

participación importante de las activinas-inhibinas y de la insulina. Los genes asociados se clasificaron en tres tipos: transportadores de ácido úrico (entre los que se encontraron los de efecto más fuerte), genes relacionados al metabolismo de carbohidratos y genes con otras funciones o de función desconocida (Köttgen et al. 2013).



**Figura 3: Efecto de los alelos menores de las variantes genéticas asociadas al ácido úrico sérico en el Consorcio Global de la Genética del Urato y su correlación con la presencia de gota. Adaptado de Köttgen et al. 2013.**

## Estudios de asociación genética con ácido úrico y subestructura poblacional en mexicanos

El diseño ideal de un estudio inferencial es aquel en el que los sujetos difieren únicamente en la exposición y el desenlace de interés. De esta forma se asegura que el resultado de la prueba de asociación entre exposición y desenlace no se vea modificada por variables externas o confusoras (Jewell 2004). Los estudios de asociación genética no son la excepción, siendo la subestructura poblacional una fuente común de asociaciones espurias entre variantes genéticas y un desenlace de interés clínico, como el AUS. La población mexicana en particular presenta grados variables de mestizaje a partir de poblaciones parentales indígenas, europeas y africanas (Liu 2012; Lisker et al. 1986; Silva-Zolezzi et al. 2009). Es posible que obtener una muestra de una región geográfica delimitada del país reduzca esta heterogeneidad, ya que el tipo de población indígena que aporta a la

diversidad genética de una región en particular se ve limitada (Moreno-Estrada et al. 2014), sin que por ello se pueda desprestigiar el efecto de la estratificación poblacional.

Uno de los métodos más usados para corregir el efecto de estratificación poblacional es el incorporar los componentes principales de la diversidad genética dentro de las covariables a considerar al momento de hacer la prueba de asociación (Martin et al. 2018; Mersha 2015). Los componentes principales son un método de reducción de dimensiones de variables basados en la covarianza de los predictores de un desenlace (como podría ser un conjunto de marcadores genéticos) y en los cuales se busca concentrar la mayor variabilidad de los datos en los primeros componentes resultantes. Este método es eficiente para la corrección de la estratificación poblacional (Price et al. 2006). Una desventaja de este método es no ser lo suficientemente sensible para corregir la sobrestimación de efectos genéticos debido a la inclusión de individuos emparentados. Además, no se ha llegado a un consenso con respecto al equilibrio ideal entre la precisión que confiere incorporar un gran número de componentes principales (p. ej. 10) y los grados de libertad de la prueba. Una ventaja del ajuste por componentes principales es que si existe una correlación entre la estructura poblacional y un factor ambiental no considerado, los componentes principales también pueden aminorar el efecto confusor del factor ambiental (Zhang & Pan 2015). Una alternativa utilizada inicialmente en GWAS de individuos relacionados es la incorporación de la matriz de semejanza genética de los individuos como factor aleatorio dentro de la prueba de asociación (Stolerman et al. 2009). Es posible que este método, además de permitir la incorporación de individuos relacionados, sea más poderoso que la regresión lineal con corrección por componentes principales (Yang et al. 2014).

## **Aleatorización mendeliana: un instrumento para evaluar causalidad entre la asociación del ácido úrico sérico, la enfermedad arterial coronaria prematura y la la tasa de filtración glomerular disminuida**

Un obstáculo para determinar si el AUS conlleva de manera causal a la EAC o la IRC es el que el ácido úrico está asociado a la obesidad y a otros factores de riesgo cardiocirculatorios. Además, podría haber factores no medidos o desconocidos asociados tanto al ácido úrico como a los desenlaces de interés por lo que la asociación entre AUS y EAC o IRC podría explicarse por estos otros factores. En años recientes ha tomado auge el uso de variantes genéticas que modifican factores de riesgo potenciales como variables instrumentales. Se utiliza la variable instrumental (SNP asociado) en lugar del posible factor de riesgo en la prueba de asociación con un desenlace de interés. La ventaja de usar la variación genética que modifica la exposición de interés en lugar de la exposición directamente es que los alelos que generan un cambio en la exposición se distribuyen de forma independiente, de acuerdo a la segunda ley de Mendel, de otros factores que pudieran confundir la asociación. Además, bajo este modelo se asegura que el factor de exposición antecede al desenlace. A esta metodología se le conoce como aleatorización mendeliana (Sekula et al. 2016).

La aleatorización mendeliana ha tenido éxito en confirmar el papel causal de la elevación del colesterol LDL en la EAC (Robinson et al. 2016). Sin embargo, hay que considerar que un gen pudiera tener acción pleiotrópica, es decir que no solo modifique la exposición a analizar, por lo que pudiera tener

acción sobre el desenlace por otros mecanismos. Se han realizado varios estudios de aleatorización mendeliana para esclarecer el papel del AUS en la EAC. Un metanálisis de estos estudios utilizó un instrumento con 31 SNP y concluyó que las variantes genéticas asociadas a un mayor AUS aumentaban el riesgo para EAC de forma ligera, pero significativa (RM 1.07, CI 95% 1.04-1.10). Sin embargo, el instrumento genético además de presentar asociación con AUS se asoció a presión arterial sistólica y diastólica, así como al colesterol HDL y triglicéridos. La prueba de asociación entre la EAC y el instrumento de 31 SNP ajustado por presión arterial sistólica, diastólica, colesterol HDL y triglicéridos resultó en una RM de 1.10 (IC 95% 1.00 – 1.22) (White et al. 2016). Esto es congruente con estudios previos de aleatorización mendeliana en los que las variantes en *SLC2A9* están asociadas a la presión arterial sistólica (Parsa et al. 2012; Mallamaci et al. 2014), con lo que vuelve a surgir la interrogante de si el ajuste por presión arterial es adecuado al evaluar la relación entre variantes genéticas que modifican el AUS y la EAC dado que la presión arterial podría ser el mecanismo que modifica el riesgo.

Con respecto a la relación entre el AUS y la IRC, un estudio que incluyó sujetos en estadio 3 y 4 de IRC presentó asociación entre los alelos de *SLC2A9* asociados a aumento del AUS y la progresión de la enfermedad con una razón de riesgo de 2.35 (IC 95% 1.25- 4.42) (Testa et al. 2014), en tanto que un estudio transversal que analizó la asociación de un puntaje derivado de 5 variantes genéticas asociadas al AUS con la TFGe en sujetos sin insuficiencia renal encontró que los alelos que aumentaban el AUS se asociaban a mejor función renal. Este último estudio propone que la mayor disponibilidad de ácido úrico en el túbulo renal favorece el intercambio de otros solutos con lo que se protege la función renal. También plantea la posibilidad de que sea un mayor nivel de regulación renal, más que el AUS de manera directa, lo que explique esta asociación (Hughes et al. 2014). No se ha valorado la participación del AUS mediante aleatorización mendeliana en sujetos con EAC prematura.

## Justificación

La enfermedad isquémica del corazón y la insuficiencia renal son la segunda y décima causas de muerte en México, respectivamente (Estadísticas Vitales 2018). El aumento relativo en la mortalidad por estas enfermedades (la enfermedad isquémica del corazón representó el 10.88% de las muertes en 2006 y 14.25 % en el 2016) es atribuible al envejecimiento de la población y al aumento en la frecuencia de obesidad (Yañez-Rivera et al. 2014). Por otra parte, los niveles séricos de ácido úrico se han asociado a la obesidad, sus complicaciones metabólicas, la EAC y la función renal, aunque la participación del ácido úrico como factor de riesgo cardiovascular independiente aún está en debate. Esto hace relevante el estudiar los factores que modulan el AUS y su relación con la EAC y la función renal. Entre los factores que modifican el AUS, los factores genéticos prácticamente no se han estudiado en población mexicana. Aunque los genes o regiones con variantes asociadas a los niveles séricos de ácido úrico parecen coincidir en distintas poblaciones (Köttgen et al. 2013; Giri et al. 2016) existen evidencias que sugieren que las variantes específicas asociadas son distintas entre poblaciones (Okada et al. 2012). Si bien se han realizado escrutinios completos del genoma para AUS en adultos y niños de origen hispano estos han sido con tamaños de muestra relativamente pequeños (632 y 815 sujetos, respectivamente) y con la heterogeneidad que implican las poblaciones latinas de Estados Unidos (Voruganti et al. 2013; Voruganti et al. 2015). Además, ningún trabajo ha estudiado a niños y adultos en conjunto y no se ha evaluado de manera específica si el efecto de las variantes genéticas que modifican el ácido úrico sérico es similar entre estos grupos. Por otra parte, la identificación de variantes genéticas asociadas con los niveles séricos de ácido úrico en población mestiza mexicana puede ser útil para determinar la participación del ácido úrico en la EAC y la disminución de la TFGe a través de la metodología de aleatorización mendeliana.

## Planteamiento del problema

Se ha observado heterogeneidad alélica en las variantes asociadas al AUS. Parte de esta heterogeneidad puede depender de la diversidad genética de la población. Asimismo se ha observado diferencias por sexo e IMC en los efectos de los SNP asociados a AUS, particularmente en adultos. No se ha evaluado si el efecto de los SNP asociados al AUS difiere entre niños y adultos, o si el sexo o la obesidad modifican esta relación. A pesar de que existen diversos estudios que han evaluado si los SNP asociados a AUS confieren riesgo para EAC ninguno de ellos ha evaluado la EAC prematura y son pocos los que abordan la función renal.

## Hipótesis

Dada la mayor reabsorción tubular del ácido úrico a mayor edad y en presencia de obesidad, estos factores atenuarán el efecto de variantes genéticas asociadas al AUS y por consiguiente su posible repercusión sobre la EAC y la TFGe disminuida.

## **Objetivo general**

Identificar variantes genéticas comunes asociadas a la modulación de los niveles séricos de ácido úrico en un muestra de la población mexicana

## **Objetivos específicos**

1. Detectar señales de asociación con niveles de ácido úrico mediante el análisis del genoma completo
2. Determinar si el efecto de estas variantes se modifica por la presencia de obesidad
3. Determinar si el efecto de estas variantes difiere en niños y adultos
4. Determinar si el efecto de estas variantes se asocia a la modificación de los niveles séricos de ácido úrico a 2 años
5. Determinar si estas variantes se asocian al desarrollo de síndrome metabólico, enfermedad arterial coronaria prematura y una tasa de depuración glomerular disminuida

# Metodología

## Diseño general del estudio

Estudio comparativo, observacional, longitudinal, retrolectivo, con componentes retrospectivo y prospectivo (Hernández-Avila et al. 2000). Se presenta en tres etapas, la primera consistió en un escrutinio del genoma completo para identificar variantes asociadas con AUS. La segunda consistió en determinar el efecto de las variantes genéticas asociadas con los niveles de ácido úrico sobre el cambio del AUS en niños, a dos años de seguimiento. La tercera etapa siguió un diseño de aleatorización mendeliana en la cual se probó si las variantes genéticas asociadas con el AUS en el escrutinio de genoma completo presentaban asociación con el síndrome metabólico, la EAC de inicio temprano y una menor filtración glomerular en una cohorte de adultos mexicanos para el estudio de la enfermedad cardiovascular (cohorte GEA).

## Población de estudio

El estudio incluyó 1293 niños con edades entre 6 y 12 años, quienes fueron captados a través de las Convivencias Infantiles del Sindicato Nacional de Trabajadores de la Secretaría de Salud (SNTSS) en la Ciudad de México y en el Hospital Infantil de México Federico Gómez. Los padres interesados en que su hijo ingresara al estudio respondieron un cuestionario que incluyó antecedentes heredofamiliares, perinatales, patológicos y no patológicos, con énfasis en la alimentación y la actividad física (León-Mimila et al. 2013). Los casos con obesidad infantil (n=540) se definieron acorde a la Organización Mundial de la Salud, mediante la percentila de IMC para la edad y el sexo igual o mayor a 95 (Barlow & Expert Committee 2007). El grupo control normopeso (n=576) incluyó niños en una percentila de IMC para la edad y el sexo entre 15 y 70. Para la etapa de seguimiento de este estudio, se identificaron los niños que hubieran participado en dos ocasiones con una diferencia de 2 años entre ellas (n=321). Se identificaron 144 niños incluidos tanto en el escrutinio completo del genoma como en la fase longitudinal. Los padres o tutores firmaron un consentimiento informado y los niños asintieron su participación en el estudio.

En la población adulta se incluyeron 687 individuos mayores de 18 años con obesidad ( $IMC \geq 30\text{kg}/\text{m}^2$ ). Los sujetos con obesidad se captaron a través de distintas instituciones de salud en la Ciudad de México. Los controles normopeso (n = 500) fueron sujetos con edad mayor a 29 años y un  $IMC < 25\text{kg}/\text{m}^2$ , quienes fueron captados a través de instituciones de salud y en universidades públicas. Los criterios de exclusión para ambos grupos fueron: embarazo, lactancia, tener tratamiento farmacológico para diabetes tipo 2 o dislipidemia, así como presencia de hipertensión no controlada. La réplica de las asociaciones genéticas con AUS, así como el efecto de estas variantes sobre la EAC prematura y la IRC se evaluó en los sujetos no diabéticos del estudio Genética de la Enfermedad Aterosclerosa (GEA, Villarreal-Molina et al. 2012). Esta cohorte incluye 704 pacientes con enfermedad arterial coronaria de inicio temprano, definida como antecedente de infarto al miocardio, angioplastia, intervención de revascularización o estenosis coronaria  $> 50\%$  antes de los 55 años en varones y de los 65 años en mujeres. El grupo control incluyó 1,075 sujetos mayores de 30 años, sin enfermedad arterial coronaria prematura ni antecedentes familiares de la misma. En este grupo se determinó la presencia de calcio coronario mediante tomografía axial computarizada con multidetector (García-García et al. 2014;

Posadas-Sánchez et al. 2014). Se dividió a los sujetos de acuerdo a la ausencia (0 unidades Agatston) y presencia (>0 unidades Agatston) de calcio coronario (Posadas-Romero et al. 2017). Un criterio de exclusión adicional común a la población infantil y adulta fue el no contar con información de AUS, sexo, edad, peso o talla (Tabla 2 y Error: no se encontró el origen de la referencia).

Todos los participantes adultos firmaron un consentimiento informado. El estudio en sus diversas etapas fue aprobado por los Comités de Ética del INMEGEN, Hospital Infantil de México, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición e Instituto Nacional de Cardiología.

**Tabla 2: Fuentes, características y etapa del estudio en la que fueron incluidos los distintos grupos de participantes**

Grupo	Rango de edad	Tipo de estudio	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión	Etapa en la que participan
Población infantil	6-12	Casos y controles para obesidad (n = 1116)	Casos: Percentila de IMC para sexo y edad $\geq 95$ Controles: Percentila de IMC para sexo y edad 15-75	Datos de peso, talla, edad, sexo y ácido úrico sérico incompletos	Escrutinio de genoma completo
		Cohorte longitudinal (n = 321)	Participación en el estudio con 2 años de diferencia	Datos de peso, talla, edad, sexo y ácido úrico sérico incompletos	Efecto longitudinal de variantes genéticas
Adultos con obesidad	18-64	Cohorte longitudinal (n = 687)	IMC $\geq 30$ kg/m <sup>2</sup>	Uso crónico de medicamentos. Datos de peso, talla, edad, sexo y ácido úrico sérico incompletos.	Escrutinio de genoma completo
Adultos normopeso	26-81	Cohorte longitudinal (n = 500)	IMC < 25 kg/m <sup>2</sup>	Datos de peso, talla, edad, sexo y ácido úrico sérico incompletos.	Escrutinio de genoma completo
GEA	21-81	Casos y controles para EAC (n = 1779)	Casos: EAC de inicio temprano Controles: Sin antecedentes de EAC	Diagnóstico de diabetes mellitus. Datos de peso, talla, edad, sexo y ácido úrico sérico incompletos.	Aleatorización mendeliana

## **Procedimientos y mediciones**

Población infantil. El peso se determinó con una báscula portátil, la talla con un estadímetro y los perímetros de cintura y cadera con cinta métrica de grado clínico. La composición corporal se determinó por bioimpedancia eléctrica con un equipo Quantum X Body Composition Analyzer, RJL Systems. Los valores de presión arterial sistólica y diastólica se obtuvieron con un baumanómetro automático Omron®. Adultos con obesidad y normopeso. Se tomó la talla por métodos estandarizados con estadímetro fijo. El peso y la composición corporal se obtuvieron con un equipo Tanita BC-418. La presión arterial sistólica y diastólica se obtuvo con baumanómetros anaeroides calibrados con un baumanómetro de mercurio.

## **Determinación de ácido úrico sérico (AUS) y desenlaces relacionados**

Tanto en niños como en adultos, la determinación del AUS se realizó por el método de uricasa con detección colorimétrica (UNICEL Dx C600, Beckman coulter). De igual manera se midieron los niveles de creatinina sérica, colesterol total, colesterol HDL, triglicéridos y glucosa. La insulina circulante se determinó mediante el inmunoensayo Access 2 Immunoassay System (Beckman coulter). La hiperuricemia infantil se definió de acuerdo a valores de referencia determinados en niños sanos (Kubota et al. 2011) cuya distribución concuerda con los niños normopeso del estudio. En consecuencia, se determinó la presencia de hiperuricemia a partir de concentraciones de AUS de 5.5 mg/dl a los 6 años, 5.9 mg/dl de 7-9 años y 6.1 mg/dl de 10-12 años, en ambos sexos. En adultos se definió hiperuricemia como un valor mayor a 7 mg/dl en varones y mayor a 5.7 mg/dl en mujeres (Juraschek et al. 2013).

## **Genotipificación mediante microarreglos**

El DNA se extrajo de leucocitos de sangre periférica por el método de separación en columna con el ensayo QIAmp DNA Blood Midi Kit de Qiagen. En la Unidad de Microarreglos del INMEGEN se probó la integridad del ADN mediante su visualización en gel de acrilamida tras electroforesis. El ADN de buena calidad fue amplificado, fragmentado, desnaturalizado e hibridado con las sondas contenidas en el microarreglo genómico multiétnico (MEGA, por sus siglas en inglés, Illumina), o su versión expandida (MEGAex, Illumina). Estos microarreglos fueron diseñados por Illumina y los grupos Consortium on Asthma among African-ancestry Populations in the Americas y Population Architecture using Genomics and Epidemiology II con los objetivos de explorar si las asociaciones genéticas reportadas en europeos eran extensibles a otras poblaciones, identificar señales independientes o particulares de una población, minimizar las diferencias en la estructura haplotípica de distintas poblaciones y tener un enriquecimiento para variantes funcionales (Bien et al. 2016). Tomando en cuenta estos objetivos seleccionaron 1,478,9450 variantes que conformaron el microarreglo. Las sondas fijadas a la plataforma sólida (chip) son complementarias a los nucleótidos inmediatamente contiguos a las variantes de interés. Una vez hibridado el ADN fragmentado, la sonda se extiende en la posición del SNP con nucleótidos marcados teniendo como molde el ADN de la muestra, por lo que la base

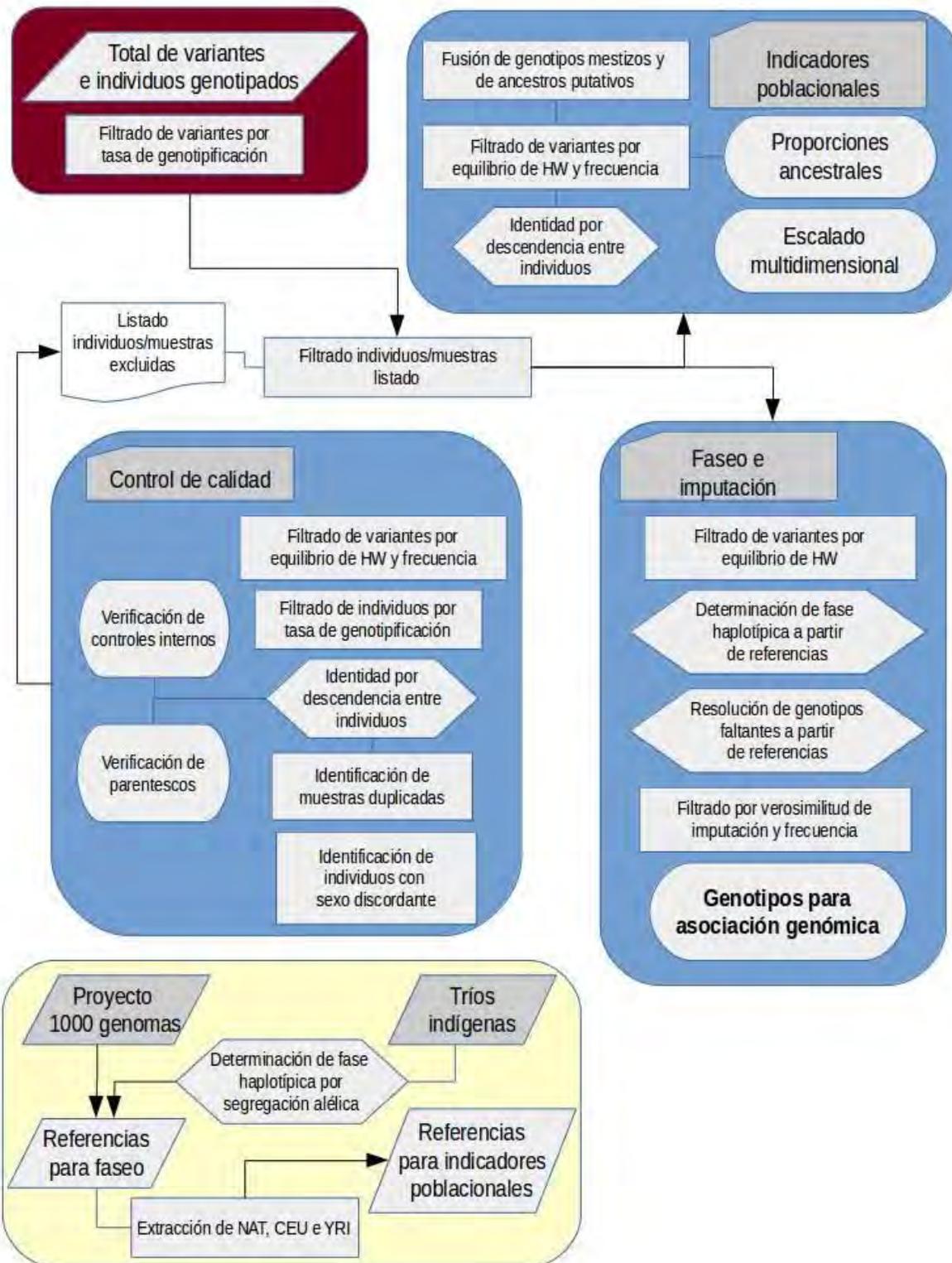
incorporada dependerá del genotipo problema (Stemers et al. 2006). Tras lavar los nucleótidos fluorescentes no integrados a las sondas, las señales emitidas se leyeron en un analizador iScan (Illumina). De acuerdo a la recomendación del fabricante, la asignación de los genotipos se hizo con el programa Gene Studio usando como referencia de fluorescencia para cada una de las variantes los datos correspondiente al microarreglo Multi-Ethnic Global-8, versión depurada de la plataforma MEGAex.

## **Análisis de datos genómicos**

El procesamiento de los datos genómicos antes del análisis de asociación tuvo como finalidad eliminar aquellos SNP e individuos cuyos genotipos fueran poco confiables o poco informativos (control de calidad), la determinación de la fase haplotípica de los genotipos, la imputación de marcadores adicionales a los genotipados y el cálculo de indicadores poblacionales como el escalado multidimensional y la proporción del genoma derivado de ancestros indígenas, europeos y africanos (Figura 4). Se determinó además el origen ancestral local en las regiones que mostraron asociación de genoma completo con AUS. Tras un primer filtro que consistió en eliminar los SNP cuyos genotipos faltantes rebasaran el 5% de las muestras, el orden en el que se filtraron los marcadores difirió dependiendo de si el objetivo era control de calidad, calcular indicadores poblacionales o fasear e imputar genotipos.

## **Control de calidad y preparación de datos genómicos**

Este proceso se realizó por separado en los datos genómicos obtenidos de las muestras de niños y adultos. Tras eliminar los SNP cuya genotipificación fuera menor al 95% se eliminaron las variantes cuyas frecuencias genotípicas difirieran de lo esperado de acuerdo a la distribución de Hardy-Weinberg entre los sujetos normopeso con  $p < 1 \times 10^{-5}$  y aquellas cuya frecuencia alélica fuera menor al 5%. Posteriormente se identificaron los individuos cuyos genotipos faltantes rebasaran el 5%. A partir de estos genotipos filtrados se calculó la matriz de identidad alélica de los individuos (Purcell et al. 2007). Esto permitió verificar la coincidencia genotípica de los controles internos, verificar las relaciones de parentesco reportadas y reconocer individuos duplicados. Asimismo, se identificaron a los sujetos cuya identidad genética no correspondiera al sexo fenotípico registrado (Zeggini & Morris 2011). Estos pasos permitieron establecer a los individuos o muestras a eliminar por tasa de genotipificación baja, por incongruencia en el sexo o por ser duplicados.



**Figura 4: Procesamiento de los datos genómicos de los individuos estudiados y de las poblaciones de referencia.** HW: Hardy-Weinberg NAT: población indígena americana CEU: población europea YRI: población africana

Para el cálculo de indicadores poblacionales como el escalado multidimensional y las proporciones ancestrales se utilizaron como referencias una población europea (CEU) y una población africana (YRI) del proyecto de los 1000 genomas (KGP, por sus siglas en inglés); además de 14 tríos nahuas y un trío totonaca (NAT) que se genotificaron en la plataforma MEGA. Se buscaron los SNP incluidos en este microarreglo para los cuales hubiera genotipos hechos públicos por el KGP. De los 1,478,950 SNP contenidos en la plataforma MEGA, 1,008,865 se comparten con los genotipos del KGP. Se extrajeron los genotipos de los SNP compartidos de los individuos CEU e YRI y se fusionaron con los genotipos de los individuos NAT. A los genotipos de las poblaciones ancestrales (NAT, CEU e YRI) se agregaron los genotipos de la población de estudio tras la eliminación de los SNP con genotipificación baja y de los individuos o muestras identificadas para su exclusión en el paso anterior. En el conjunto de poblaciones ancestrales y población de estudio se identificaron y eliminaron las variantes que se desviaban del equilibrio de Hardy-Weinberg y cuya frecuencia fuera menor al 5%. Tras la conjunción de los grupos de estudio y las poblaciones de referencia y filtrado de variantes calculó la proporción del origen ancestral de cada individuo mediante el programa Admixture (Alexander et al. 2009). Este programa usa un algoritmo bayesiano para determinar las proporciones de las poblaciones parentales de los individuos. Además de los genotipos, la única información requerida es el número de poblaciones parentales propuestas. En este estudio el análisis se realizó con un supuesto de 3 poblaciones ancestrales (indígena, europea y africana). Se realizó un nuevo cálculo de la semejanza alélica interindividual por el procedimiento de identidad por descendencia implementado en PLINK (Purcell et al. 2007). A partir de los genotipos y la matriz de identidad alélica se calcularon componentes de escalado multidimensional. El escalado multidimensional es un procedimiento para asignar distancias en N dimensiones a elementos de un conjunto. Estas distancias representan la semejanza o diferencia que hay entre los elementos. Se graficaron las primeras 2 dimensiones de la escala multidimensional para contrastar la semejanza genética de los individuos del estudio con respecto a las poblaciones ancestrales putativas.

Para determinar la fase haplotípica e imputar marcadores adicionales se utilizó la referencia universal del KGP, a la cual se le agregaron los tríos NAT. Se determinó la fase haplotípica de los tríos indígenas por segregación alélica mediante el procedimiento implementado en Beagle (Browning & Browning 2007). Una vez integrados los haplotipos de referencia (KGP e indígenas), la determinación de la fase haplotípica e imputación de marcadores adicionales para la asociación genómica se realizó también en Beagle (Browning & Browning 2016). Se eliminaron aquellos marcadores imputados cuya correlación entre el genotipo y la dosis alélica fuera menor a 0.75 y aquellas de frecuencia menor al 5%. Los cálculos de desequilibrio de ligamiento se realizaron con VCFtools (Danecek et al. 2011) entre marcadores cuya fase haplotípica había sido determinada.

Se realizó la genotipificación con cobertura para genoma completo en 2,332 muestras y 1,478,950 marcadores. El número de SNP eliminados por estar genotipados en menos del 95% de los individuos fue de 55,511 en los niños y de 60,547 en los adultos. La distribución de los SNP con genotipificación baja fue uniforme a lo largo de los cromosomas nucleares. Entre los marcadores restantes, el número cuyo valor de significancia de la adecuación al equilibrio de Hardy-Weinberg resultó menor a  $1 \times 10^{-5}$  entre los individuos normopeso fue de 7,525 en niños y de 3,292 en adultos. De los 1,415,914 marcadores restantes en niños y 1,415,111 en adultos, 854,605 (60.36%) y 836,510 (59.11%),

respectivamente, tenían frecuencias alélicas menores al 5%. La determinación de la identidad alélica se realizó con los 561,309 marcadores restantes en niños y 578,601 en adultos.

Mediante identidad alélica se identificaron 23 muestras correspondientes al mismo individuo entre los niños y 6 entre los adultos (Error: no se encontró el origen de la referencia). Asimismo, se corroboró que las réplicas biológicas (1 por cada 96 muestras) presentaban identidades alélicas >99%. Además, se identificaron 60 pares de individuos con parentesco de primer grado entre los niños y 111 pares entre los adultos. Los parentescos identificados por identidad alélica corresponden con los datos sociodemográficos de los individuos. La verificación del sexo genotípico resultó en datos discordantes con el sexo fenotípico en 4 individuos, que fueron eliminados. Tras el control de calidad genómico y la eliminación de los sujetos con datos fenotípicos incompletos la muestra estuvo compuesta por 2,154 niños y adultos. El faseo e imputación de marcadores en estos sujetos y su filtrado por confiabilidad y frecuencia resultaron en 879,167 y 905,392 SNP para asociación genómica en niños y adultos, respectivamente.

## **Análisis de asociación de genoma completo para AUS**

Tras el control de calidad y la imputación de marcadores restaron entre 850,000-910,000 SNP para el análisis de asociación en las distintas poblaciones de estudio, es decir; niños normopeso, niños con obesidad, adultos normopeso o adultos con obesidad. Se utilizó un modelo genético aditivo dentro de un modelo lineal mixto en el que la matriz de semejanza genética de los individuos fue el factor aleatorio, mientras que el sexo y la edad se incluyeron como factores fijos. Otro factor fijo fue la percentila de IMC para sexo y edad en niños, mientras que en adultos fue el IMC. Este tipo de análisis busca determinar si los valores fenotípicos varían con respecto al genotipo. El genotipo es considerado una variable numérica que se refiere al número de copias del alelo menor. Al ser marcadores bialélicos, en los autosomas el número de copias posibles es 0, 1, y 2. La incorporación de la matriz de semejanza genética como variable aleatoria es lo que le da el carácter mixto al modelo y reduce el efecto confusor de la estratificación poblacional y el parentesco de los participantes del estudio (Eu-Ahsunthornwattana et al. 2014; Yang et al. 2014). Se consideró un valor de  $p < 5 \times 10^{-8}$  significativo a nivel genómico, y entre  $1 \times 10^{-5}$  y  $5 \times 10^{-8}$  como sugestivo de asociación (Zeggini & Morris 2011). La ubicación de los SNP con respecto a los genes de la región se determinó consultando los sitios web de dbSNP (Kitts et al. 2013) y ENSEMBL (Yates et al. 2016). Se evaluó el adecuado control de factores que potencialmente modifican los valores de asociación de manera global, como la estratificación poblacional y el parentesco críptico, mediante la prueba de control genómico y la inspección de gráficas cuantil-cuantil (Zheng et al. 2006).

Una vez obtenidos y valorados los resultados de la asociación en cada población se realizaron metanálisis que agruparon primero los grupos etarios (niños normopeso+obesidad y adultos normopeso+obesidad), seguido de un metanálisis que incluyó a los 4 grupos de estudio. Los metanálisis se realizaron con el método de varianza inversa en el paquete METAL (Willer et al. 2013). La presencia de heterogeneidad entre los distintos grupos se evaluó mediante  $I^2$  y  $Q$  de Cochrane en el paquete de R meta (Rucker et al. 2011). Tomando en cuenta la población total de 2,154 sujetos se calculó el tamaño de efecto que se podía detectar suponiendo un SNP cuya frecuencia en el alelo menor fuera de 0.2 y  $\alpha = 5 \times 10^{-8}$ . A partir de los valores normalizados de AUS en niños y adultos se determinó que se tenía un poder del 80% para detectar una variante que explicara el 1.85% de la variación del

rasgo, equivalente a 0.29 mg/dl (Gauderman 2002). Este tamaño de efecto sobre el AUS es similar al reportado para las variantes genéticas de *SLC2A9* y *ABCG2* (Köttgen et al. 2013).

## **Estratificación por origen ancestral de regiones con asociación para ácido úrico sérico a nivel genómico**

Para evaluar el comportamiento de las regiones que mostraron asociación genómica con AUS en segmentos provenientes de distintos orígenes ancestrales se determinó el componente ancestral local para estos sitios. Para ello se dividió el cromosoma de interés en ventanas de 0.2 cM y se seleccionaron las ventanas que abarcaran los genes de interés además de un margen de 1 Mb. Cada ventana contenía 66-459 SNP. Se contrastaron los haplotipos de estas ventanas en la población de estudio con haplotipos de las referencias NAT, CEU e YRI, y se atribuyó la ascendencia a alguna de estas poblaciones mediante un procedimiento de bosques aleatorios en el programa RFMix (Maples et al. 2013). Se seleccionaron los individuos en los que todas las ventanas del segmento en ambos cromosomas tuvieran el mismo origen ancestral. Posteriormente, se hizo una asociación con el AUS de los alelos de la región de interés en los segmentos de origen indígena y europeo por separado. El número de sujetos en los cuales ambos cromosomas en las regiones de interés fue de origen africano no resultó suficiente para el análisis estadístico por lo que no se incluyeron. La asociación se hizo en un modelo lineal que incluyó sexo, edad, un indicador de adiposidad y los primeros dos componentes del escalado multidimensional. Para poder combinar niños y adultos se obtuvo un puntaje z tanto del IMC en adultos como de la percentila de IMC en niños. Este indicador de adiposidad se utilizó en la regresión que incluyó ambos grupos. Para determinar de manera más clara la dependencia o independencia de los SNP de una región particular se realizó la asociación de las variantes genéticas de manera conjunta, además de incluir sexo, edad, el indicador de adiposidad y los dos primeros componentes de diversidad genómica, en un modelo lineal adecuado mediante máxima verosimilitud penalizada. Este método le da un peso a cada predictor correspondiente a la contribución que tiene para con el desenlace y establece un corte con respecto al número de predictores a incluir (Friedman et al. 2010).

## **Asociación del AUS con variantes genéticas previamente reportadas y búsqueda de interacción por estado nutricional y edad**

Además de la búsqueda de señales a nivel de genoma completo, se evaluó si las variantes genéticas reportadas por el Consorcio Global de la Genética del Urato (GUGC, por sus siglas en inglés) (Köttgen et al. 2013) que incluyó población de origen europeo, afroestadounidense, japonesa e india, también mostraban asociación con el AUS en este estudio. Se seleccionaron las 28 variantes identificadas y replicadas por este consorcio o en caso de no encontrarse la misma SNV, se incluyó un SNP en desequilibrio de ligamiento con  $r^2 > 0.9$  en la población México-estadounidense de Los Ángeles que forma parte del KGP. Para este análisis se consideró significativo un valor de  $p < 0.05$  después de corregir por la tasa de falsos positivos (FDR, por sus siglas en inglés).

Al igual que para las señales con asociación a nivel genómico, para estas variantes se valoró la presencia de heterogeneidad entre niños normopeso, niños con obesidad, adultos normopeso y adultos con obesidad (Rucker et al. 2011). En las variantes en las cuales se podía asumir heterogeneidad entre los grupos con una confiabilidad del 95% se determinó si su asociación con AUS se veía modificada por el estado nutricional o el grupo de edad. Al igual que la asociación genómica, este análisis se realizó

en un modelo lineal mixto que incluía sexo, edad y un indicador de adiposidad como factores fijos y la matriz de semejanza genética como factores aleatorios (Therneau 2015). Se evaluó si el genotipo presentaba interacción con la infancia o adultez agregando al modelo el grupo de edad al que pertenece el individuo además del término de interacción genotipo\*grupo de edad. De forma semejante se evaluó la interacción por estado nutricional (normopeso vs. obesidad). El tamaño del efecto detectable en los análisis de interacción se determinó con método de Monte Carlo bajo 10 000 repeticiones bajo un modelo en el que el AUS fue la variable independiente, mientras que genotipo, sexo, edad, indicador de adiposidad (IMC en adultos y percentila de IMC en niños), los primeros dos componentes principales genómicos, el estado nutricional (obesidad o peso adecuado) y la interacción del genotipo\*estado nutricional fueron las variables dependientes. Se asumió una variante con frecuencia de 0.25. De esta forma se encontró que en niños se podía encontrar con una  $\alpha=0.05$  y un poder del 80% una interacción que modificara el efecto del genotipo 34.30%, mientras que en adultos se podía detectar una modificación del efecto genotípico por el estado nutricional de 31.79% (Durand et al. 2013).

## **Evaluación del efecto de las variantes asociadas con el AUS sobre la hiperuricemia y el síndrome metabólico en niños en un estudio de seguimiento a dos años**

En los niños que participaron en el estudio con dos años de diferencia, se analizó si el genotipo para las variantes asociadas al AUS a nivel genómico estaba asociado al cambio en el AUS, el desarrollo de hiperuricemia y el desarrollo de síndrome metabólico. El genotipo se determinó por ensayo de PCR en tiempo real con sondas TaqMan comerciales (Roche). El cambio en el AUS se definió como el cociente de la diferencia del AUS final y el AUS inicial sobre el AUS inicial. El desarrollo de hiperuricemia se definió como la ausencia de hiperuricemia en la medición inicial con valores de AUS definitorios de hiperuricemia en la medición final. De manera similar, el desarrollo de síndrome metabólico se definió como la ausencia de criterios para síndrome metabólico en la medición inicial y la presencia de criterios definitorios en la medición final. La asociación del cambio en el AUS con el genotipo se hizo en un modelo lineal que incluyó sexo, edad y percentila de IMC basal. La asociación con desarrollo de hiperuricemia y de síndrome metabólico con el genotipo se hizo mediante regresión logística en un modelo que incluyó las covariables consideradas en el cambio del AUS. Se definió el síndrome metabólico en esta población como la presencia de al menos 3 de los siguientes criterios: triglicéridos en ayuno  $\geq 100$  mg/dl, colesterol HDL  $< 50$ , glucosa en ayuno  $\geq 110$  mg/dl, circunferencia de cintura por arriba de la percentila 75 para sexo y edad y presión arterial sistólica por arriba de la percentila 90 para sexo, edad y estatura (De Ferranti et al. 2004).

## **Efecto de las variantes asociadas con el AUS a nivel genómico sobre el síndrome metabólico, la tasa de filtración glomerular estimada disminuida y la enfermedad arterial coronaria prematura (aleatorización mendeliana)**

En los sujetos no diabéticos del estudio GEA se probó si las variantes genéticas asociadas con el AUS a nivel de genoma completo mostraban asociación con el síndrome metabólico, la TFGe disminuida y la EAC prematura. Se consideró con síndrome metabólico a los individuos que presentaron al menos 3 de

las siguientes características: circunferencia de cintura mayor a 102 cm en hombres y de 88 cm en mujeres, triglicéridos mayor a 150 mg/dl, colesterol HDL menor a 40 mg/dl en hombres y menor a 50 mg/dl en mujeres, presión arterial sistólica por arriba de 135 mmHg o bien diastólica por arriba de 85 mmHg y glucosa en ayuno mayor a 110 mg/dl (National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) 2002). La TFG<sub>e</sub> se calculó con la fórmula CKD-EPI que considera creatinina sérica, edad, sexo y grupo étnico (Levey et al. 2009). Se consideraron disminuidos valores de TFG<sub>e</sub> < 60 mL/min/1.73m<sup>2</sup> (Chronic Kidney Disease Prognosis Consortium et al. 2010). Los genotipos en la cohorte GEA se determinaron por PCR alelo específica (Kompetitive Allele Specific PCR, LGC Genomics, California). La asociación con la presencia de síndrome metabólico, TFG<sub>e</sub> disminuida y EAC se hizo mediante regresión logística que además de los genotipos para el SNP de interés incluyó sexo, edad e IMC. Además de probar los SNP por separado se creó un puntaje genético que consistió en sumar el número de alelos de riesgo para hiperuricemia. Se probó la asociación de este puntaje con la presencia de síndrome metabólico, TFG<sub>e</sub> disminuida y EAC prematura de la misma forma que para los SNP individuales.

## Resultados

### Caracterización clínica y bioquímica de los grupos de estudio que conformaron la etapa de escrutinio completo del genoma

La hiperuricemia fue más frecuente en los sujetos con obesidad (34.7% en niños y 33.2% en adultos) que en los normopeso (8.3% en niños y 12.8% en adultos). Las características de niños y adultos separados por estado nutricional se muestran en la Tabla 3.

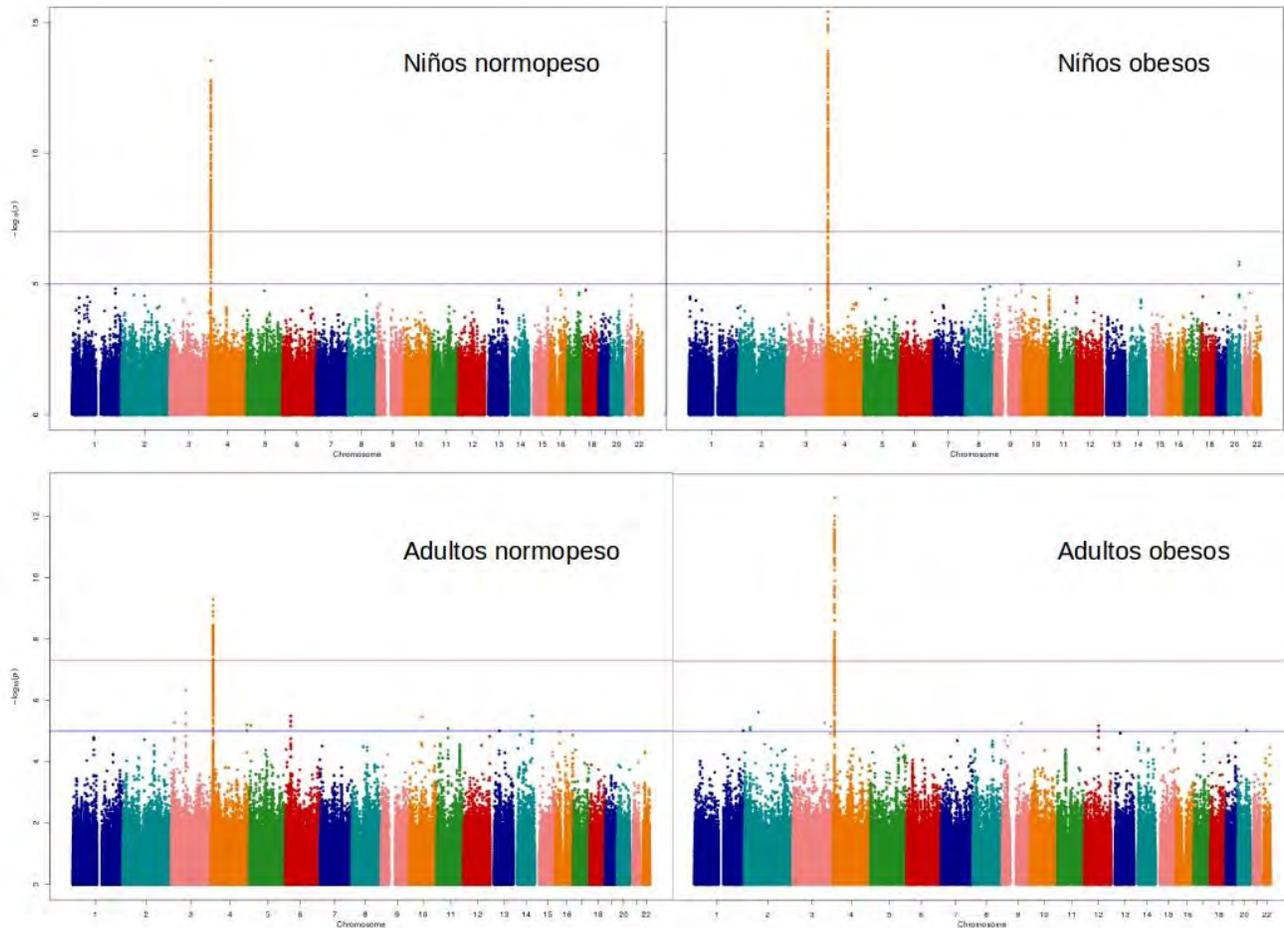
En los niños la distribución de sexo y edad difiere entre los normopeso y con obesidad. En adultos, la diferencia en la edad observada entre sujetos normopeso y con obesidad se debe al diseño del estudio, pues se seleccionaron sujetos normopeso mayores de 30 años. Las variables antropométricas y bioquímicas se distribuyen de acuerdo a lo esperado en un diseño de casos y controles para obesidad.

### Variantes genéticas asociadas al ácido úrico sérico identificadas mediante escrutinio completo del genoma y metanálisis

La asociación de genoma completo para AUS se realizó en cada grupo por separado: niños normopeso, niños con obesidad, adultos normopeso y adultos con obesidad mediante un modelo lineal mixto. El coeficiente  $\lambda$  de control genómico tuvo un rango de 1.004-1.015 en los distintos GWAS. En todos los grupos de estudio se encontró asociación de los niveles de ácido úrico con diferentes SNP ubicados en el gen *SLC2A9*. En los niños normopeso el SNP rs4481233 presentó la asociación más fuerte ( $\beta = -0.1163$  mg/dl y  $p=2.82 \times 10^{-14}$ ), este SNP se localiza en el 9<sup>no</sup> intrón de *SLC2A9*. En los niños con obesidad se observó asociación de una variante diferente (rs1014290,  $\beta = -0.1152$  mg/dl y  $p=3.73 \times 10^{-16}$ ) localizada a 45.8 Kb de la observada en niños normopeso. La distancia entre la principal variante encontrada en adultos con obesidad y normopeso fue de 36 Kb. En los adultos normopeso se identificó asociación del SNP rs13106991 disminución de los niveles de ácido úrico ( $\beta = -0.1017$  mg/dl y  $p=5.18 \times 10^{-10}$ ), mientras que en adultos con obesidad se observó asociación del SNP rs734553, con  $\beta = -0.0926$  mg/dl y  $p=2.29 \times 10^{-13}$ . El número de marcadores en *SLC2A9* que presentaron valores de  $p < 5 \times 10^{-8}$  en niños normopeso y con obesidad fue de 132 y 147, respectivamente; mientras que en adultos normopeso y con obesidad fue de 22 y 62, respectivamente. Ningún marcador fuera de la región de *SLC2A9* alcanzó significancia a nivel genómico en ninguno de los 4 grupos de estudio (Figura 5).

**Tabla 3: Características clínicas y bioquímicas de los grupos incluidos en la etapa de escrutinio completo del genoma**

			<b>Niños<sup>‡</sup></b>
	Normopeso (n=553)	Con obesidad (n=527)	<b>p*</b>
Sexo femenino, % (IC 95%)	49.0 (44.8-53.2)	40.9 (36.8-45.2)	0.0097
Edad, años	9 (7-10)	9 (7.5-10)	0.0135
Percentila de índice de masa corporal	48.7 (30.6-61.2)	97.5 (96.2-98.5)	<0.0001
Glucosa (mg/dl)	89 (84-95)	90 (86-95)	< 0.0001
HOMA-IR (1/%sensibilidad)	0.97 (0.63-1.45)	2.13 (1.39-3.31)	<0.0001
Colesterol total (mg/dl)	168 (151-187)	178 (159-201)	<0.0001
Colesterol LDL (mg/dl)	99 (85-114.25)	108(91-124)	<0.0001
Colesterol HDL (mg/dl)	51 (44-59)	42 (36-49)	<0.0001
Triglicéridos (mg/dl)	75 (55-102)	130 (91-178)	<0.0001
Ácido úrico (mg/dl)	4.5 (4-5.1)	5.5 (4.8-6.2)	< 0.0001
Hiperuricemia, % (IC 95%)	8.3 (6.0-10.6)	34.7 (30.7-38.8)	< 0.0001
			<b>Adultos<sup>‡</sup></b>
	Normopeso (n=483)	Con obesidad (n=591)	<b>p*</b>
Sexo femenino, % (IC 95%)	61.08 (57.5-64.7)	81.39 (78.3-84.5)	< 0.0001
Edad, años	50 (40-57)	39 (31-45)	< 0.0001
Índice de masa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	23.26 (22.0-24.2)	34.1 (31.8-36.7)	< 0.0001
Glucosa (mg/dl)	87 (81-94)	96 (90-102.5)	< 0.0001
HOMA-IR (1/%sensibilidad)	1.87 (1.14-2.84)	3.07 (2-4.31)	< 0.0001
Colesterol total (mg/dl)	191 (168.4-218)	182 (162-207)	< 0.0001
Colesterol LDL (mg/dl)	115 (96.34-136.51)	106.9 (87.8-124.6)	< 0.0001
Colesterol HDL (mg/dl)	50.8 (42-60.8)	40 (35-47)	< 0.0001
Triglicéridos (mg/dl)	116 (85.95-159.5)	159 (117-222)	< 0.0001
Ácido úrico (mg/dl)	4.8 (4-5.7)	5.3 (4.7-6.2)	< 0.0001
Hiperuricemia, % (IC 95%)	12.84 (10.4 – 15.3)	33.16 (29.4 – 36.9)	< 0.0001
<sup>‡</sup> Los valores son medianas (rango intercuartilar) a menos que se especifique otro valor. IC, intervalo de confianza. *Prueba de Kruskal-Wallis en las variables numéricas, prueba de $\chi^2$ en las variables categóricas.			



**Figura 5: Gráficos de Manhattan de niños y adultos, normopeso y con obesidad mostrando la asociación de SNP genotipados e imputados con ácido úrico sérico.** Se graficó el  $-\log_{10}$  de los valores de p para la asociación de los SNP con respecto a la posición genómica (Versión 37 del National Center for Biotechnology Information). El cálculo de los valores de p se realizó en un modelo lineal mixto que incluyó edad, sexo y percentila de índice de masa corporal en los niños, así como, edad, sexo e índice de masa corporal en adultos como factores fijos; la matriz de parentesco genético se incluyó como factor aleatorio. Cada cromosoma está representado con un color distintivo.

Posteriormente se realizó un análisis conjunto de los niños (normopeso y con obesidad) y adultos (normopeso y con obesidad). En niños este análisis presentó la asociación más fuerte del ácido úrico con el SNP rs4481233. Esta variante disminuye  $-0.51$  mg/dl de AUS (IC 95%  $-0.61 - -0.42$ ,  $p=1.41 \times 10^{-26}$ ). Además de los SNP en la región de *SLC2A9*, asociación a nivel sugestivo con SNP ubicados en el gen *ABCG2*. Uno de ellos, rs2231142 (cambio de glutamina por lisina en la posición 141) presentó un efecto en la modificación del AUS de  $0.23$  mg/dl (IC 95%  $0.13 - 0.32$ ,  $p=4.21 \times 10^{-6}$ ).

En los adultos se observó una señal de asociación con ácido úrico con significancia a nivel de genoma completo en *SLC2A9*. El SNP rs13106991 presentó un efecto de  $-0.46$  mg/dl (IC 95%  $-0.52 - -0.40$ ,  $p=1.89 \times 10^{-20}$ ). El efecto de rs2231142 de *ABCG2* sobre el AUS fue  $\beta = 0.22$  mg/dl (IC 95%  $0.13 - 0.31$ ,  $p=7.47 \times 10^{-6}$ ), muy similar al efecto observado en niños.

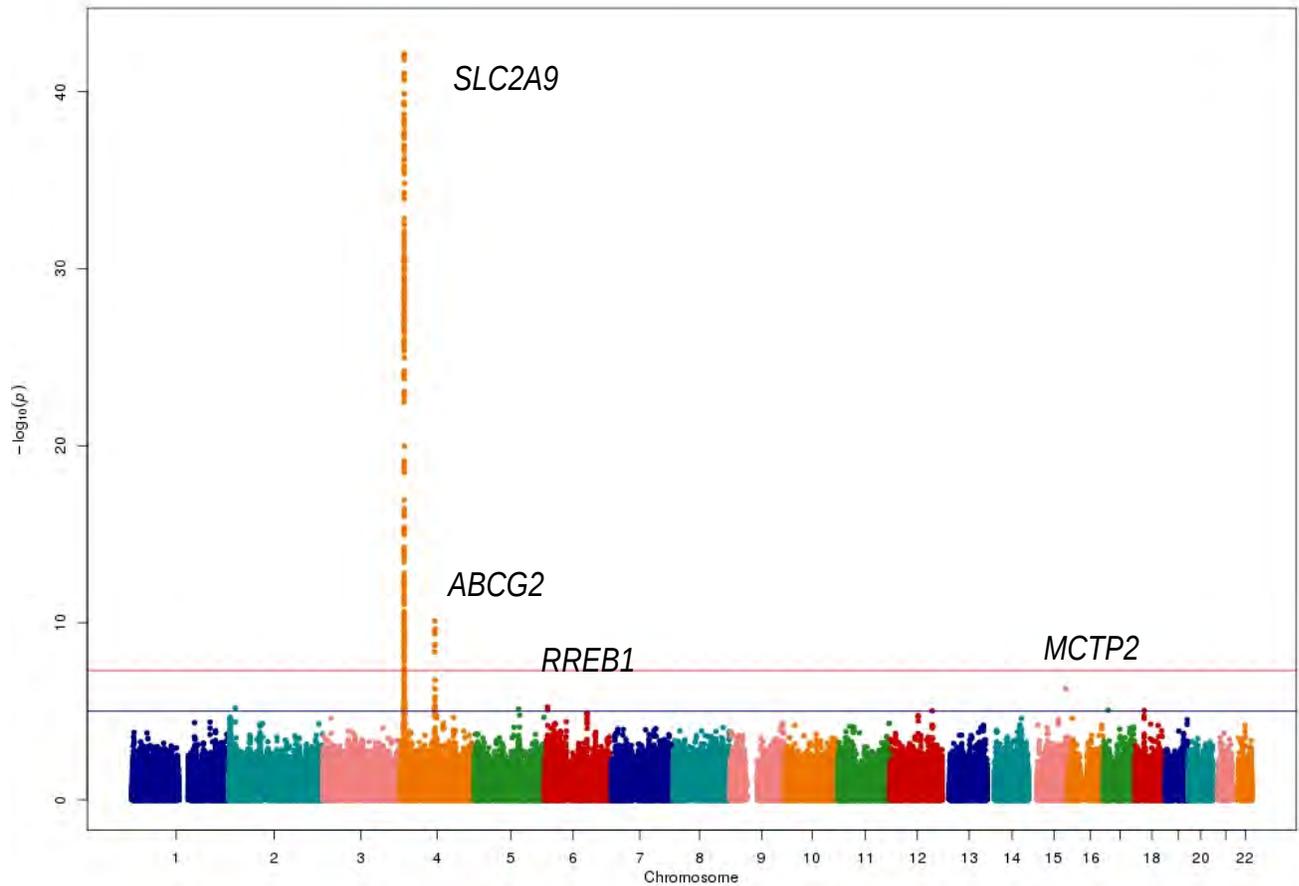
Finalmente se realizó un metanálisis que conjuntó a todos los grupos de estudio. Como se esperaba considerando los resultados de los grupos por separado, se observaron señales de asociación genómica en *SLC2A9* y *ABCG2*. La gráfica cuantil-cuantil de este metanálisis muestra SNP alejados de lo esperado bajo la hipótesis nula de no asociación (Anexo 2), estos SNP corresponden a las regiones de asociación genómica. El valor de control genómico no sugiere distorsión en los valores de  $p$  ( $\lambda = 1.08$ ). El SNP con el efecto más alto fue rs7678287, localizado en el intrón 5 de *SLC2A9* (Figura 6). Su efecto sobre el AUS fue  $\beta = -0.48$  mg/dl (IC 95% -0.54 – -0.41,  $p=1.57 \times 10^{-42}$ , Tabla 4). Debido a que se identificaron 128 SNP de esta región asociados con el AUS, se realizó un análisis condicionado por rs7678287, con el que se identificó una asociación independiente del SNP rs7675964 con AUS ( $p=5.41 \times 10^{-17}$ ). Estos dos SNP (rs7678287 y rs7675964) tienen desequilibrio de ligamiento bajo ( $r^2=0.23$ ). Para el gen *ABCG2*, se identificó solo una señal independiente, ya que al condicionar por el SNP rs2231142, el cual presentó la asociación más fuerte, ninguno de los 57 SNP de la región tuvo un valor de significancia  $<0.001$ .

Entre las señales que alcanzaron un nivel de significancia sugestivo de asociación destaca la región en el cromosoma 6 cerca del gen de la proteína de unión al elemento de respuesta de RAS (*RREB1* por sus siglas en inglés). El SNP que presentó asociación con niveles de ácido úrico fue rs2714335 ( $p = 5.88 \times 10^{-6}$ ), el cual presenta desequilibrio de ligamiento ( $r^2$ ) 0.19 con rs675209, SNP con asociación genómica a AUS reportada en europeos (Köttgen et al. 2013). Una variante intrónica del gen *MCTP2* en el cromosoma 16, rs72753347, también presentó un nivel de significancia sugestiva de asociación para AUS. Sin embargo, esta asociación no se replicó en la cohorte GEA.

**Tabla 4: SNP representativos que mostraron asociación al ácido úrico sérico en el metanálisis.**

Marcador	CRO	PB	Gen más cercano	AI	Niños normopeso			Niños con obesidad			Adultos normopeso			Adultos con obesidad			Metanálisis			
					FAM	Efecto mg/dl (IC 95%)	p	FAM	Efecto mg/dl (IC 95%)	p	FAM	Efecto mg/dl (IC 95%)	p	FAM	Efecto mg/dl (IC 95%)	p	Efecto mg/dl (IC 95%)	p (q)	Het I <sup>2</sup>	p Het
<b>Significativos a nivel genómico o sugestivos de asociación genómica</b>																				
rs7678287	4	10000501	<i>SLC2A9</i>	A	0.23	-0.47 (-0.59 - -0.35)	2.55x10 <sup>-13</sup>	0.24	-0.54 (-0.68 - 0.41)	2.72X10 <sup>-14</sup>	0.25	-0.41 (-0.57 - -0.26)	1.08X10 <sup>-8</sup>	0.23	-0.47 (-0.59 - -0.34)	1.41X10 <sup>-11</sup>	-0.48 (-0.54 - -0.41)	1.57X10 <sup>-42</sup>	0	0.6435
rs2231142	4	89052323	<i>ABCG2</i>	T	0.28	0.23 (0.08 - 0.36)	8.22X10 <sup>-5</sup>	0.26	0.22 (0.08 - 0.36)	0.0107	0.25	0.19 (0.05 - 0.34)	0.0127	0.25	0.24 (0.11 - 0.38)	0.0003	0.23 (0.16 - 0.29)	2.42X10 <sup>-10</sup>	0	0.9695
rs2714335	6	7238069	<i>RREB1</i>	A	0.36	-0.13 (-0.24 - -0.02)	0.0240	0.41	-0.13 (-0.25 - -0.01)	0.0110	0.38	-0.22 (-0.36 - 0.08)	0.0030	0.38	-0.11 (-0.23 - 0.06)	0.1456	-0.14 (-0.20 - -0.08)	5.88X10 <sup>-6</sup>	0	0.6840
rs72753347	15	95149416	<i>MCTP2</i>	T	0.10	0.09 (-0.08 - 0.26)	0.4105	0.09	0.32 (0.11 - 0.53)	0.0008	0.08	0.42 (0.16 - 0.68)	0.0011	0.10	0.21 (0.03 - 0.40)	0.0075	0.24 (0.11 - 0.37)	5.34X10 <sup>-7</sup>	41	0.1654
<b>Variantes seleccionadas de GWAS previos</b>																				
rs17632159	5	72431482	<i>TMEM171</i>	C	0.24	-0.1014 (-0.21 - 0.01)	0.0828	0.26	-0.15 (-0.28 - -0.02)	0.0393	0.28	-0.11 (-0.26 - 0.4)	0.1765	0.24	-0.05 (-0.18 - 0.09)	0.3731	-0.10 (-0.17 - -0.04)	0.0027 (0.0174)	0	0.8502
rs675209	6	7102084	<i>RREB1</i>	C	0.41	-0.13 (-0.23 - -0.04)	0.0075	0.43	-0.14 (-0.25 - -0.03)	0.0247	0.46	-0.12 (-0.26 - 0.01)	0.0845	0.43	0.02 (-0.09 - 0.14)	0.6915	-0.10 (-0.17 - -0.02)	0.0020 (0.0174)	0	0.4566
rs1165151	6	25821616	<i>SLC17A1</i>	T	0.24	-0.05 (-0.16 - 0.06)	0.3067	0.24	-0.21 (-0.33 - -0.07)	0.0057	0.27	-0.19 (-0.34 - -0.03)	0.0036	0.22	-0.06 (-0.20 - 0.08)	0.1764	-0.12 (-0.20 - -0.04)	9.14 x 10 <sup>-5</sup> (0.0031)	60.9	0.0532
rs1171614	10	61469538	<i>SLC16A9</i>	T	0.08	-0.10 (-0.28 - 0.08)	0.2613	0.08	-0.20 (-0.40 - 0.01)	0.0513	0.13	-0.15 (-0.35 - 0.05)	0.1240	0.10	-0.22 (-0.41 - -0.03)	0.0186	-0.16 (-0.26 - -0.07)	0.0005 (0.0086)	29.5	0.2351
rs3741414	12	57844049	<i>INHBC</i>	T	0.48	-0.05 (-0.15 - 0.04)	0.2701	0.47	-0.05 (-0.17 - 0.06)	0.3104	0.58	-0.17 (-0.31 - -0.04)	0.0106	0.50	-0.15 (-0.26 - -0.03)	0.0496	-0.10 (-0.38 - -0.16)	0.0011 (0.0127)	58.9	0.0628

Las señales con significancia a nivel genómico o cercanas a este nivel se detectaron a partir de un escrutinio de 865,915 marcadores. Las variantes de GWAS previos seleccionadas se obtuvieron tras la búsqueda intencionada de asociación en 28 sitios reportados y su corrección por FDR. Las posiciones cromosómicas se basan en la versión 37 del genoma publicado por el National Center for Biotechnology Information genome. Los alelos presentados se refieren a la hebra positiva. Los tamaños de efecto están expresados con respecto al alelo menor. El metanálisis se hizo con el método de varianza inversa en METAL. CRO: Cromosoma; PB: Posición de la base; FAM: Frecuencia del alelo menor; Het I<sup>2</sup>: Porcentaje de la heterogeneidad total atribuible a la variación entre los grupos; p Het: Valor de p para la heterogeneidad de los tamaños de efecto de los grupos.

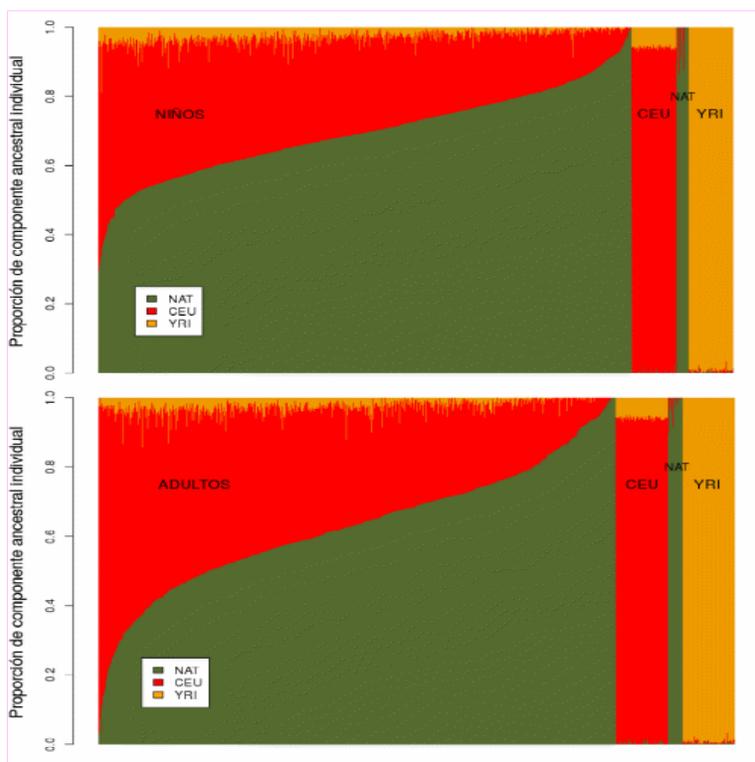


**Figura 6: Gráfico de Manhattan del metanálisis de niños y adultos, normopeso y con obesidad para ácido úrico sérico con SNP genotipados e imputados.** Se graficó el  $-\log_{10}(p)$  de los valores de p para la asociación de los SNP con respecto a la posición genómica (Versión 37 del National Center for Biotechnology Information). El cálculo de los valores de p se realizó por varianza inversa a partir de las resultantes de modelos lineales mixto que incluyeron edad, sexo y un indicador de adiposidad como factores fijos; y la matriz de parentesco genético como factor aleatorio. Cada cromosoma está representado con un color distintivo.

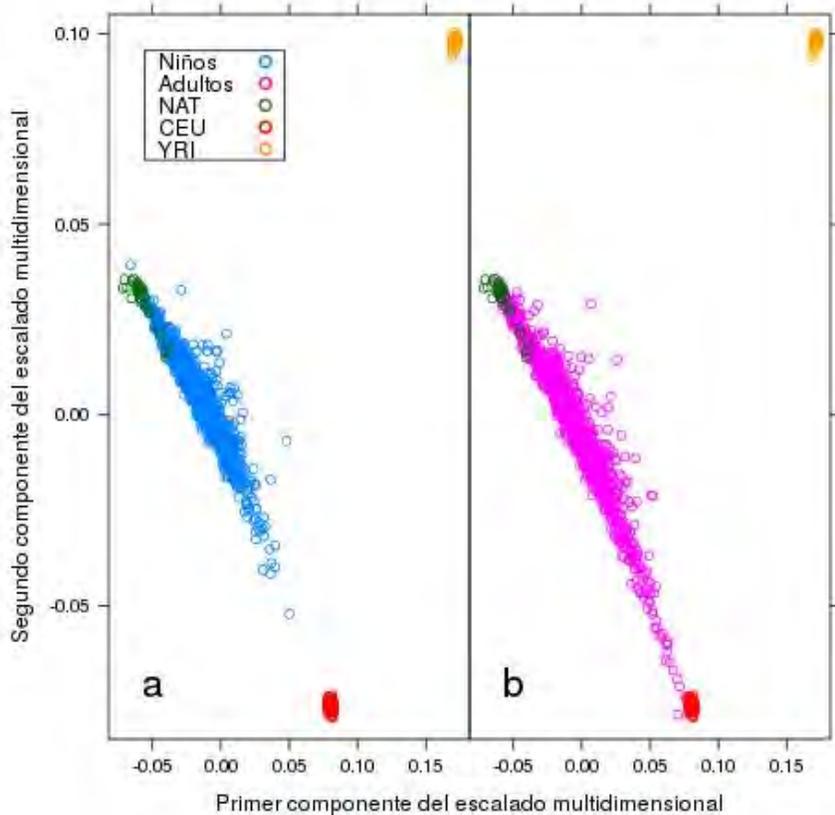
## Escalado multidimensional y proporciones ancestrales de los participantes

Tras el control de calidad, los SNP comunes a la población de estudio, fundadores NAT (n=30), CEU (n=109) e YRI (n=108) fueron 242 410 en niños y 234 473 en adultos. Con estos marcadores se calcularon proporciones ancestrales. El porcentaje (intervalo de confianza al 95%) del componente ancestral indígena en niños normopeso y con obesidad, así como adultos normopeso y con obesidad fue de 71.1 (62.8-79.1), 71.9 (63.1-81.8), 56.95 (44.8-71.1) y 66.34 (56.7-66.2), respectivamente. La Figura 7 muestra la proporción del genoma derivada de ancestros indígenas, europeos y africanos de cada uno de los participantes. En el escalado multidimensional se observa que la población de estudio

presenta un gradiente que va de indígena a europeo con algunos individuos que se acercan a la población de referencia africana (Figura 8).



**Figura 7: Proporción de componente ancestral americano (NAT), europeo (CEU) y africano (YRI) de cada uno de los individuos que conforman el grupo de niños (arriba) y adultos (abajo).** Los componentes ancestrales se calcularon con el algoritmo implementado por Admixture a partir de marcadores genómicos. Se incluyen poblaciones sin mestizaje reciente para su comparación.



**Figura 8: Gráfica de dispersión de los dos primeros componentes del escalado multidimensional en niños (a) y adultos (b).** El escalado multidimensional se calculó a partir de 234,473 marcadores. Se incorporaron individuos indígenas (NAT), europeos (CEU) y africanos (YRI) como referencia.

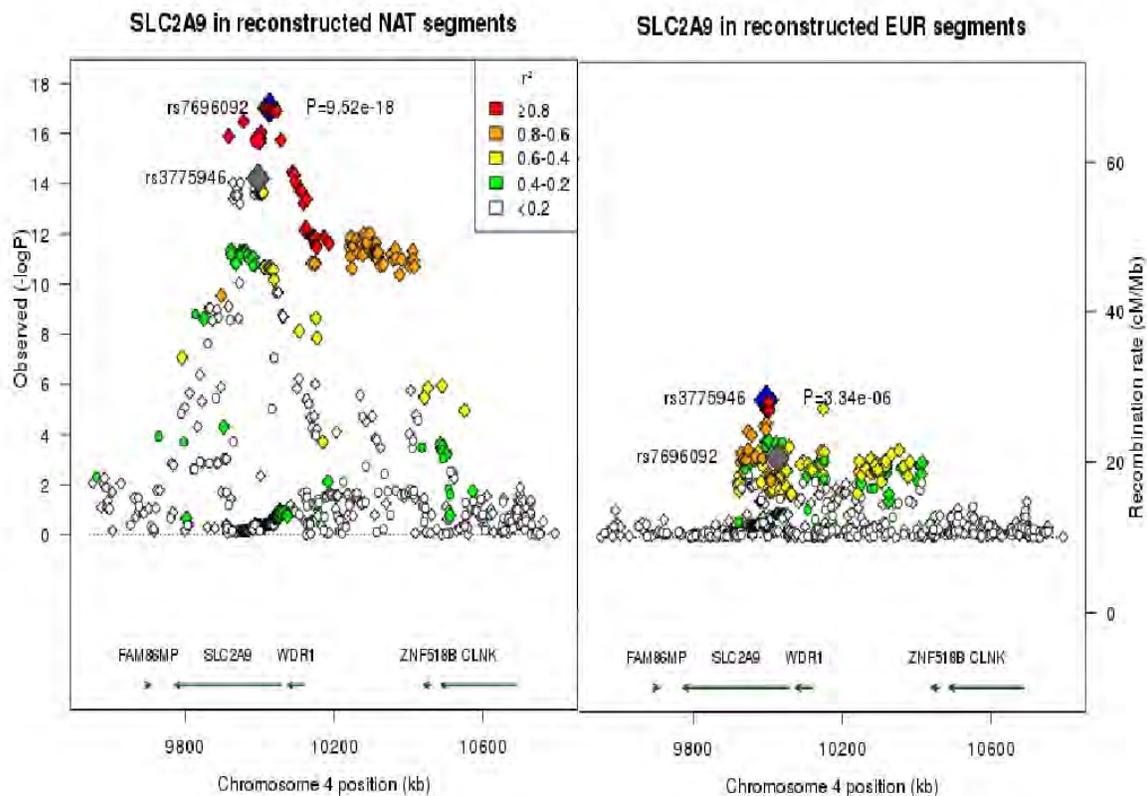
La distribución de los individuos de acuerdo al escalado multidimensional y las proporciones de sus contribuciones ancestrales concuerdan con la historia poblacional y la distribución reportada para individuos de la Ciudad de México (Johnson et al. 2011).

## Diferenciación de señales de asociación con ácido úrico sérico dependiendo del origen ancestral del segmento cromosómico

Debido a que se ha reportado que los SNP asociados al AUS en *SLC2A9* difieren en europeos y asiáticos (Brandstätter et al. 2008; Okada et al. 2012; Wei et al. 2014), además de que observamos señales probablemente independientes en la región del gen *SLC2A9*, decidimos probar si la señal de asociación difería entre segmentos de origen indígena y europeo. Para ello, realizamos el cálculo de la ancestría local para el cromosoma 4 que contiene tanto a *SLC2A9* como a *ABCG2*. De manera congruente con la contribución ancestral global, la combinación de orígenes ancestrales más frecuente en segmentos de los pares cromosómicos que contenían a *SLC2A9* fue NAT-NAT, seguida de la combinación NAT-CEU, mientras que la menos frecuente YRI-YRI (Anexo 6).

Entre los SNP de *SLC2A9*, el que presentó la asociación más fuerte con AUS en los segmentos cromosómicos de origen indígena derivados de mestizos (NATmes, n = 1954) fue rs7696092, localizado en el tercer intrón, mientras que en los segmentos de origen europeo derivados de mestizos (CEUmes, n = 562) la señal alélica más fuerte fue la de la variante rs3775946, localizada en el 6<sup>o</sup> intrón, a 30.1 Kb (Figura 9). El desequilibrio de ligamiento entre estos SNP tanto en fundadores NAT como en NATmes fue menor ( $r^2=0.39$ ) al observado entre los CEU y CEUmes ( $r^2= 0.63$  y  $0.61$ , respectivamente). Para determinar si estos SNP estaban asociados de forma independiente al AUS se analizaron las variantes de la región mediante un modelo lineal adecuado con máxima verosimilitud penalizada. En NATmes tanto rs7696092 como rs3775946 se conservaron como predictores independientes del AUS, mientras que en CEUmes solo rs3775946 se presentó como SNP independiente. Podemos concluir que en segmentos de origen indígena vemos 2 señales independientes, mientras que en segmentos de origen europeo únicamente detectamos una.

En la región de *ABCG2* la variante rs2231142 explica la señal de asociación observada tanto en segmentos NATmes como CEUmes.



**Figura 9: Gráficos de Manhattan locales de la asociación del ácido úrico sérico en la región de *SLC2A9* estratificada por origen ancestral local.** Se seleccionaron los segmentos cromosómicos cuya ancestría local determinada por RFMix fuera de origen indígena o europeo y se hizo regresión lineal con ácido úrico sérico en cada grupo.

## Asociación con ácido úrico sérico de variantes identificadas mediante escrutinio completo del genoma en otras poblaciones

De los 28 SNP identificados y replicados por el GUGC en individuos de origen europeo, dos se encuentran en los genes *SLC2A9* y *ABCG2* identificados a través de la asociación por genoma completo. Las 26 variantes restantes se buscaron en los resultados del escrutinio completo del genoma (Tabla 4 y Tabla 5). Cinco SNP mostraron valores de  $p < 0.05$  para la asociación con AUS tras corregir por FDR. Estos SNP se encuentran dentro o cercanos a los genes *SLC17A1*, *SLC16A9*, *INHBC*, *TMEM171* y *RREB1*. De manera importante, la dirección del efecto alélico coincidió con el reportado (Köttgen et al. 2013).

**Tabla 5: Comparativo de las variantes asociadas al ácido úrico sérico en el Consorcio Global de la Genética del Urato con el resultado de metanálisis en mexicanos mestizos.**

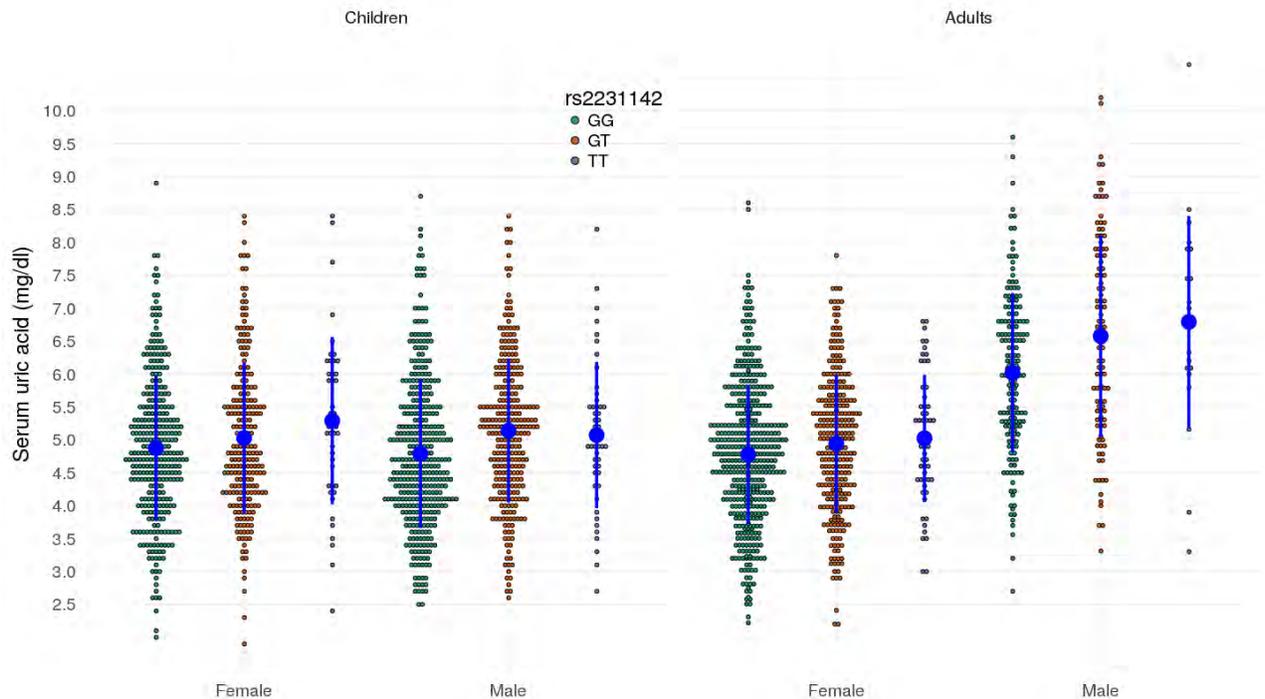
Cro	Gen más cercano	SNP	Mexicanos (n = 2,154)				Europeos (n = 110, 347)		
			Frec.	Efecto	p	p (fdr)	Frec.	Efecto	p
1	<i>PDZK1</i>	rs1471633	0.32 (C)	-0.0736	0.0444	0.1374	0.54	0.059	$1.2 \times 10^{-29}$
1	<i>TRIM46</i>	rs11264341	0.31 (C)	0.0398	0.4510	0.7667	0.57	0.050	$6.2 \times 10^{-19}$
2	<i>GCKR</i>	rs1260326	0.33 (A)	-0.0073	0.8565	0.9467	0.41	0.074	$1.2 \times 10^{-44}$
2	<i>IHNBB</i>	rs17050272	0.41 (A)	0.0579	0.1861	0.4218	0.43	0.035	$1.6 \times 10^{-10}$
2	<i>ORC4L</i>	rs2307394	0.49 (G)	0.0233	0.1754	0.4218	0.32	0.029	$2.2 \times 10^{-8}$
3	<i>SFMBT1</i>	rs6770152	0.34 (G)	-0.0109	0.8629	0.9464	0.42	0.044	$2.6 \times 10^{-16}$
5	<b><i>TMEM171</i></b>	<b>rs17632159</b>	<b>0.25 (G)</b>	<b>-0.1198</b>	<b>0.0027</b>	<b>0.0174</b>	<b>0.31</b>	<b>-0.039</b>	<b><math>3.5 \times 10^{-11}</math></b>
6	<b><i>RREB1</i></b>	<b>rs675209</b>	<b>0.43 (G)</b>	<b>-0.1117</b>	<b>0.0020</b>	<b>0.0174</b>	<b>0.73</b>	<b>-0.061</b>	<b><math>1.3 \times 10^{-23}</math></b>
6	<b><i>SLC17A1</i></b>	<b>rs1165151</b>	<b>0.24 (A)</b>	<b>-0.1251</b>	<b><math>9.14 \times 10^{-5}</math></b>	<b>0.0031</b>	<b>0.47</b>	<b>-0.091</b>	<b><math>7.0 \times 10^{-70}</math></b>
6	<i>VEGFA</i>	rs729761	0.15 (T)	0.0367	0.4097	0.7331	0.30	-0.047	$8.0 \times 10^{-16}$
7	<i>BAZ1B</i>	rs1178977	0.08 (G)	-0.0752	0.0323	0.1372	0.19	-0.047	$1.2 \times 10^{-12}$
7	<i>PRKAG2</i>	rs10480300	0.10 (A)	0.0192	0.7687	0.9334	0.28	0.035	$4.1 \times 10^{-9}$
8	<i>STC1</i>	rs17786744	0.27 (G)	0.0111	0.5780	0.8544	0.42	0.029	$1.4 \times 10^{-8}$
8	<i>HNF4G</i>	rs2941484	0.24 (T)	0.0149	0.6037	0.8552	0.44	0.044	$4.4 \times 10^{-17}$
10	<i>A1CF</i>	rs10821905	0.08 (A)	0.1545	0.0406	0.1374	0.18	0.057	$7.4 \times 10^{-17}$
10	<b><i>SLC16A9</i></b>	<b>rs1171614</b>	<b>0.10 (T)</b>	<b>-0.1647</b>	<b>0.0005</b>	<b>0.0086</b>	<b>0.22</b>	<b>-0.079</b>	<b><math>2.3 \times 10^{-28}</math></b>
11	<i>SLC22A11</i>	rs2078267	0.18 (A)	-0.0551	0.0384	0.1374	0.51	-0.073	$9.4 \times 10^{-38}$
11	<i>NRXN2</i>	rs478607	0.10 (G)	0.0095	0.8983	0.9544	0.16	-0.047	$4.4 \times 10^{-11}$
11	<i>OVOL1</i>	rs642803	0.32 (C)	0.0175	0.4964	0.8037	0.46	-0.036	$2.9 \times 10^{-13}$
12	<b><i>INHBC</i></b>	<b>rs3741414</b>	<b>0.50 (T)</b>	<b>-0.1150</b>	<b>0.0011</b>	<b>0.0127</b>	<b>0.24</b>	<b>-0.072</b>	<b><math>2.2 \times 10^{-25}</math></b>
12	<i>ATXN2</i>	rs653178	0.19 (G)	0.0574	0.2335	0.4670	0.49	0.035	$7.2 \times 10^{-12}$
15	<i>UBE2Q2</i>	rs1394125	0.14 (A)	0.0373	0.6867	0.8647	0.34	0.043	$2.5 \times 10^{-13}$
15	<i>IGF1R</i>	rs6598541	0.48 (G)	-0.0360	0.1012	0.2647	0.64	-0.043	$4.8 \times 10^{-15}$
16	<i>NEAT5</i>	rs7193778	0.14 (G)	-0.0349	0.6531	0.8747	0.14	0.046	$8.2 \times 10^{-10}$
16	<i>MAF</i>	rs7188445	0.07 (A)	-0.0380	0.5414	0.8367	0.33	-0.032	$1.6 \times 10^{-9}$
17	<i>HLF</i>	rs7224610	0.34 (C)	0.0527	0.0315	0.1372	0.42	0.042	$5.4 \times 10^{-17}$

17	<i>BCAS3</i>	rs2079742	0.39 (T)	0.0436	0.3142	0.5935	0.85	0.043	$1.2 \times 10^{-8}$
17	<i>QRICH2</i>	rs164009	0.47 (A)	-0.0289	0.6734	0.8647	0.61	0.028	$1.6 \times 10^{-7}$

## Modificación por presencia de obesidad, grupo de edad o sexo de los efectos genéticos sobre el AUS

El estado nutricional no modificó el efecto de los SNP rs7678287 (*SLC2A9*) o rs2231142 (*ABCG2*) sobre el AUS, ya sea en niños, adultos o la muestra conjunta. Por otra parte, se ha reportado que las variantes de *SLC2A9* y *ABCG2* modifican los niveles de AUS dependiendo del sexo (Brandstätter et al. 2010; Köttgen et al. 2013). Se comparó el efecto de rs7678287 y de rs2231142 por sexo en niños y adultos. Al analizar a los adultos se encontró un mayor efecto del SNP de *SLC2A9* sobre el AUS en mujeres ( $\beta_{\text{sexo femenino}} = -0.49$ , IC 95% -0.59 - -0.38,  $p = 4.08 \times 10^{-20}$ ) que en hombres ( $\beta_{\text{sexo masculino}} = -0.28$ , IC 95% -0.52 - -0.04,  $p = 0.0214$ ), aunque la interacción genotipo\*sexo no fue estadísticamente significativa ( $p = 0.1286$ ). En los menores de edad el efecto de rs7678287 sobre el AUS fue muy semejante en niñas ( $\beta_{\text{sexo femenino}} = -0.49$ , IC 95% -0.62 - -0.36,  $p = 1.78 \times 10^{-13}$ ) y niños ( $\beta_{\text{sexo masculino}} = -0.52$ , IC 95% -0.64 - -0.39,  $p = 1.73 \times 10^{-15}$ ) con una  $p$  de interacción genotipo\*sexo de 0.7812.

Con respecto al efecto del genotipo de rs2231142 en *ABCG2* sobre el AUS por sexo en adultos se encontró un menor efecto en mujeres ( $\beta_{\text{sexo femenino}} = 0.15$ , IC 95% 0.04 - 0.26,  $p = 0.0060$ ) que en hombres ( $\beta_{\text{sexo masculino}} = 0.43$ , IC 95% 0.21 - 0.64,  $p = 0.0001$ ). La  $p$  de interacción genotipo\*sexo fue de 0.0013. En cambio entre los escolares el efecto fue similar en niñas ( $\beta_{\text{sexo femenino}} = 0.19$ , IC 95% 0.06 - 0.32,  $p = 0.0044$ ) que en niños ( $\beta_{\text{sexo masculino}} = 0.24$ , IC 95% 0.12 - 0.36,  $p = 0.0001$ ), con una  $p$  de interacción no significativa (0.5200, Figura 10).



**Figura 10: Distribución del ácido úrico sérico de acuerdo al genotipo de rs2231142 en ABCG2 en niños y adultos por sexo.** Los puntos y las barras azules representan el promedio  $\pm$  desviación estándar en cada grupo. En los niños de ambos sexos y en mujeres adultas el rango del efecto alélico fue de 0.15 a 0.24 mg/dl. En hombre adultos fue de 0.43 mg/dl. Se probó la presencia de interacción con un modelo lineal mixto que incluyó sexo, edad, un indicador de adiposidad y el grupo de edad como factores fijos y la matriz de semejanza genética de los individuos como factor aleatorio. Al modelo se le agregó un factor de interacción genotipo\*sexo en niños y adultos por separado.

En lo que concierne a las variantes replicadas del GUGC, las de *SLC17A1* e *INHBC* mostraron una tendencia a la heterogeneidad entre grupos ( $p=0.0532$  y  $0.0628$ , respectivamente, Tabla 4). El caso de *SLC17A1* es interesante pues únicamente alcanzó significancia nominal ( $p<0.05$ ) en niños con obesidad y adultos normopeso. No se encontró evidencia de interacción por estado nutricional o grupo de edad por separado pero sí de interacción genotipo\*estado nutricional\*grupo de edad ( $p_{\text{interacción}}=0.013$ ) (Anexo 4). Para el caso de *INHBC* se observó un mayor efecto en adultos que en niños ( $p_{\text{interacción}}=0.036$ ). Así, entre los niños el efecto del alelo T de rs3741414 fue  $\beta = 0.03$  mg/dl (IC 95% -0.05 – 0.04,  $p=0.5300$ ), mientras que en adultos fue  $\beta = 0.17$  mg/dl (IC 95% 0.08 – 0.25,  $p=0.0002$ ) (Anexo 5).

## **Caracterización de la población infantil incluida en la etapa de seguimiento**

Los niños captados en las Convivencias Infantiles con 2 años de diferencia son 321 (Tabla 6). De estos, 47 presentaban hiperuricemia al inicio del seguimiento. De los 274 restantes (13 de bajo peso, 172 de peso adecuado, 35 con sobrepeso y 54 con obesidad), 39 (14.23%) desarrollaron hiperuricemia tras el seguimiento a 2 años. El número de sujetos que desarrollaron hiperuricemia por estado nutricional al inicio del seguimiento fue de 0 entre los que tenían bajo peso, 17 peso adecuado, 9 sobrepeso y 13 obesidad. El porcentaje de individuos que desarrolló hiperuricemia fue de 0, 9.9, 25.71 y 24.07 para bajo peso, peso adecuado, sobrepeso y obesidad respectivamente ( $p=0.0049$ ).

## **Los genotipos de rs7678287 en *SLC2A9* y rs2231142 en *ABCG2* no predicen el desarrollo de hiperuricemia a 2 años en niños**

En el grupo de niños incluidos en esta etapa del estudio el genotipo de *SLC2A9* se asoció de manera transversal al valor de AUS al final del seguimiento, incluso tras considerar sexo, edad y percentila de índice de masa corporal ( $\beta = -0.64$  mg/dl,  $p=1.05 \times 10^{-6}$ ), mientras que el genotipo de *ABCG2* no se asoció al AUS en este grupo de estudio ( $\beta = 0.09$  mg/dl,  $p=0.3118$ ). Posteriormente, se analizó el cambio porcentual en los valores de ácido úrico de acuerdo a los genotipos de rs7678287 y de rs2231142 mediante regresión lineal en un modelo que incluyó sexo, edad y percentila de índice de masa corporal iniciales. El efecto del alelo menor de rs7678287 sobre el cambio porcentual del AUS a dos años fue  $\beta = 0.80\%$  ( $p=0.5349$ ). El genotipo de rs2231142 tampoco mostró asociación con el cambio porcentual del AUS ( $\beta = 0.94\%$ ,  $p=0.5554$ ). Entre los niños sin hiperuricemia al inicio también se analizó si los genotipos rs7678287 y rs2231142 estaban asociados al desarrollo de hiperuricemia a 2 años. El genotipo de rs7678287 (RM = 1.64, IC 95% 0.98 – 2.82,  $p = 0.0639$ ) mostró una tendencia a asociarse al desarrollo de hiperuricemia. El de rs2231142 (RM = 0.95, IC 95% 0.46 – 1.89,  $p = 0.8882$ ) no se asoció al desarrollo de hiperuricemia a 2 años en niños. En este periodo 35 niños presentaron síndrome metabólico. No hubo asociación entre los genotipos de *SLC2A9* y de *ABCG2* y este síndrome.

**Tabla 6: Características demográficas, antropométricas y bioquímicas del grupo de niños con seguimiento a dos años por sexo y valores iniciales y finales.**

	Basal		Final		P <sub>sexos basal</sub> <sup>†</sup>	P <sub>sexo*cambio</sub> <sup>‡</sup>
	Niños	Niñas	Niños	Niñas		
Sexo masculino (%)	45.21				-	-
Edad (años)	8.7 (7.8 – 9.8)	8.7 (7.5 – 9.8)	10.8 (9.2 . 11.8)	10.7 (9,5 – 11.9)	0.4011	0.653
Percentila de IMC	86.8 (55.5-96-3)	76.5 (42.8 – 93.7)	85.6 (59.7 – 96.2)	79.7 (45.3 – 94.1)	0.0066	0.3633
Circunferencia de cintura (cm)	66 (57-75)	65 (56-71)	72 (64- 81)	69 (62 -77)	0.0612	0.0197
Relación cintura cadera	0.90 (85-0.94)	0.88 (0.84 – 0.91)	0.88 (0.84 – 0.92)	0.84 (0.82 – 0.88)	9.07X10-8	0.0007
Grasa corporal (%)	31.9 (24.2 – 38.6)	32.8 (24.6 – 39.0)	35.1 (26.1 – 41.1)	35.1 (26.2 – 41.1)	0.4612	0.8785
HOMA (100/%sensibilidad)	1.16 (0.67 – 1.90)	1.16 (0.65 – 1.86)	1.25 (0.83 – 2.21)	1.58 (0.97 – 2.52)	0.8572	0.8252
Colesterol total (mg/dl)	176 (157 – 194)	173 (153 - 191)	167 (148 – 183)	167 (150 - 184)	0.2855	0.0286
Colesterol LDL (mg/dl)	107 (92 – 121)	102 (86 - 121)	99 (86 – 113)	95 (82 - 112)	0.1256	0.0391
Colesterol HDL (mg/dl)	48 (41 – 58)	47 (39 - 56)	47 (39 – 56)	47 (40 - 55)	0.3020	0.7020
Triglicéridos (mg/dl)	86 (54 – 124)	99 (63 - 135)	87 (56 – 119)	100 (68 - 144)	0.0151	0.0470
Ácido úrico (mg/dl)	5.0 (4.0 – 5.6)	5.0 (4.0 – 5.4)	5.2 (4.4 – 6.3)	5.0 (4.3 – 5.8)	0.3676	0.03490
Hiperuricemia, % (IC 95%)	14.18 (8.43 – 19.94)	15.00 (9.78 – 20.22)	26.95 (19.63 – 34.27)	18.33 (12.68 – 23.99)	0.0872	0.0939

\* Lo valores representan mediana (intervalo intercuartilar). †Prueba de Wilcoxon en variables continuas, prueba de  $\chi^2$  en la variable categórica. ‡ Regresión lineal en variables contínuas, regresión logística en la variable categórica, con término de interacción valor inicial\*sexo con el valor final como variable dependiente.

## **Caracterización de los sujetos con enfermedad arterial coronaria prematura y controles sin enfermedad cardiovascular**

Los adultos evaluados en la etapa de aleatorización mendeliana fueron 1075 sujetos sin enfermedad cardiovascular (controles) y 704 sujetos con EAC prematura (casos). Este último grupo incluyó más sujetos del sexo masculino. Los niveles de colesterol total y LDL fueron mayores en los controles que en los casos, probablemente debido al tratamiento para la dislipidemia iniciado entre pacientes con EAC prematura. Casos y controles no difirieron en cuanto a valor de triglicéridos séricos. El resto de los factores de riesgo cardiorenal se distribuye de acuerdo a lo esperado para el diseño. Es de llamar la atención que más de una cuarta parte de los controles presenta calcificación coronaria (Posadas-Romero et al. 2017). Además, la diferencia en la frecuencia de síndrome metabólico entre casos y controles fue solo del 3% (Tabla 7).

## **Papel de las variantes asociadas al ácido úrico sérico en la enfermedad arterial coronaria prematura, el síndrome metabólico y la tasa de filtración glomerular en la cohorte GEA**

El AUS se asoció a la EAC prematura (RM = 1.16,  $P=0.0008$  tras ajustar por sexo, edad, IMC, HOMA-IR, colesterol total, colesterol HDL, triglicéridos, presión arterial sistólica y diastólica). En controles, el AUS también se asoció con el síndrome metabólico (RM=1.40,  $P=8.33 \times 10^{-10}$ , después de ajustar por edad y sexo) y con la tasa de filtración glomerular disminuida (RM = 1.41, después de ajustar por IMC, HOMA, colesterol HDL, triglicéridos, presión arterial sistólica y diastólica). Estas asociaciones también se observaron en los sujetos con EAC prematura. De manera interesante, los SNP rs7696092 de *SLC2A9* y rs2231142 de *ABCG2* se asociaron de manera significativa con AUS en controles ( $\beta=-0.34$  mg/dl,  $P=4.84 \times 10^{-8}$  para rs7678287; y  $\beta=0.28$  mg/dl,  $P=5.59 \times 10^{-6}$  para rs2231142) y en los casos con EAC prematura (Error: no se encontró el origen de la referencia). El análisis de aleatorización mendeliana presentó que ninguno de los SNP (rs7696092 en *SLC2A9* y rs2231142 en *ABCG2*) estuvo asociados a la EAC prematura o al síndrome metabólico (Tabla 8), tanto al analizarse por separado como de manera conjunta. En contraste, el SNP rs2231142 de *ABCG2* se asoció con la TFGe disminuida en el conjunto de casos y controles ( $P=0.013$ ). El análisis estratificado (casos y controles) mostró asociación de este SNP con la TFGe disminuida en los casos con EAC prematura ( $P=0.008$ ), pero no en los controles de la cohorte GEA ( $P=0.361$ ).

**Tabla 7: Características clínicas y bioquímicas de la población incluida para aleatorización mendeliana**

	GEA <sup>‡</sup>		
	Controles (n=1075)	Casos (n=704)	p*
Sexo femenino, % (IC 95%)	50.67 (47.68 – 53.65)	15.49 (12.82 – 18.16)	<0.0001
Edad, años	52 (46-59)	53 (48-57)	0.1623
Índice de masa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	28.9 (26.8 - 31.5)	28.1 (25.9 - 31.0)	<0.0001
Presión arterial sistólica (mm/Hg)	115 (106-126)	113.5 (105-123.8)	0.1804
Presión arterial diastólica (mm/Hg)	72 (66.5-78.5)	71.5 (65.5-77.5)	0.0079
Glucosa (mg/dl)	90 (84-96)	90 (84-97)	0.6844
HOMA-IR (1/%sensibilidad)	4.1 (2.9-5.6)	4.3 (3.2-6.2)	0.0064
Colesterol total (mg/dl)	193 (169.7-214.1)	162.9 (135.9-193.5)	<0.0001
Colesterol LDL (mg/dl)	118.6 (99-138.8)	93.9 (72.5-118)	<0.0001
Colesterol HDL (mg/dl)	42.9 (35.9-52)	37.3 (32-44.4)	<0.0001
Triglicéridos (mg/dl)	154.7 (117-208.9)	162 (116.5-212.6)	0.5649
Ácido úrico (mg/dl)	5.7 (4.8-6.7)	6.5 (5.6-7.4)	<0.0001
Creatinina (mg/dl)	0.84 (0.70 – 1.00)	0.97 (0.84 – 1.09)	<0.0001
TFGe (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	92.8 (79.9 – 102.6)	88.0 (76.7 – 100.4)	<0.0001
Hiperuricemia, % (IC 95%)	28.98 (26.27 – 31.69)	39.82 (36.20 – 43.43)	<0.0001
TFGe < 60 ml/min/1.73m <sup>2</sup> , % (IC 95%)	2.70 (1.73 – 3.67)	4.87 (3.28 – 6.46)	0.0189
Síndrome metabólico, % (IC 95%)	28.74 (26.03 – 31.44)	25.69 (22.47 – 28.92)	0.1559
Calcificación coronaria, % (IC 95%)	24.91 (22.32 – 27.49)	72.53 (67.94 – 77.11)	<0.0001

<sup>‡</sup>Los valores son medianas (rango intercuartilar) a menos que se especifique otro valor. IC, intervalo de confianza.  
<sup>\*</sup>Prueba de Kruskal-Wallis en las variables numéricas, prueba de  $\chi^2$  en la variables categóricas.

**Tabla 8: Riesgo de enfermedad arterial coronaria (EAC) prematura, síndrome metabólico, calcificación coronaria y tasa de filtración glomerular (TFGe) disminuida en los participantes no diabéticos de la cohorte GEA.**

	Ácido úrico sérico			SLC2A9 rs7678287			ABCG2 rs2231142		
	Casos con EAC	Controles	Total	Casos con EAC	Controles	Total	Casos EAC	Controles	Total
EAC prematura $n_{\text{casos}} = 801$ $n_{\text{controles}} = 1127$	-	-	1.16 (1.06 – 1.27) <b>0.0008</b>	-	-	0.96 (0.76 - 1.22) 0.7347	-	-	1.08 (0.86 – 1.37) 0.499
Síndrome metabólico $n_{\text{casos}} = 204/789$ $n_{\text{controles}} = 323/1124$	1.37 (1.22 – 1.54) <b>2.15X10<sup>-7</sup></b>	1.40 1.26 1.56 <b>8.33X10<sup>-10</sup></b>	1.38 (1.28 – 1.49) <b>1.28X10<sup>-15</sup></b>	0.71 (0.49 - 1.01) 0.0612	1.11 (0.84 - 1.45) 0.4544	0.94 (0.76 - 1.17) 0.5805	0.79 (0.56 - 1.12) 0.1904	0.99 (0.76 - 1.30) 0.9625	0.90 (0.73 - 1.11) 0.3272
Calcificación coronaria $n_{\text{casos}} = 263/364$ $n_{\text{controles}} = 274/1100$	1.11 (0.86 - 1.45) 0.4092	1.01 (0.89 - 1.16) 0.8417	1.08 (0.97 – 1.20) 0.1292	0.66 (0.31 - 1.39) 0.2699	0.77 (0.55 - 1.09) 0.1499	0.71 (0.53 - 0.95) <b>0.0201</b>	0.52 (0.25 – 1.09) 0.0844	1.13 (0.80 - 1.59) 0.4803	0.98 (0.74 - 1.30) 0.8966
TFGe <60 ml/min/ 1.73m <sup>2</sup> $n_{\text{casos}} = 30/760$ $n_{\text{controles}} = 37/1110$	2.09 (1.54 – 2.91) <b>3.84X10<sup>-6</sup></b>	1.41 (1.09 – 1.81) <b>0.0091</b>	1.66 (1.39 - 2.00) <b>3.75X10<sup>-8</sup></b>	1.33 (0.50 - 3.48) 0.5563	0.60 (0.23 - 1.39) 0.2532	0.87 (0.45 - 1.62) 0.6670	4.20 (1.52 - 13.68) <b>0.0089</b>	1.45 (0.65 - 3.26) 0.3610	2.19 (1.19 - 4.15) <b>0.0131</b>

La razón de momios (intervalo de confianza al 95%) y los valores de p se calcularon por regresión logística. Para la asociación con enfermedad arterial coronaria prematura y calcificación coronaria las covariables fueron sexo, edad, índice de masa corporal, presión arterial sistólica y diastólica, HOMA, colesterol HDL y triglicéridos. Las covariables para la asociación con síndrome metabólico fueron sexo y edad. Para la asociación con tasa de filtración glomerular estimada baja las covariables fueron índice de masa corporal, presión arterial sistólica y diastólica, HOMA, colesterol HDL y triglicéridos.

## Discusión

### Efecto de la variación genética sobre el ácido úrico sérico y modificadores del efecto

En este estudio, la inclusión de niños y adultos con distinto estado nutricional (normopeso y con obesidad) permitió una comparación directa entre estos grupos. La asociación entre obesidad e hiperuricemia observada en este trabajo es conocida (Hikita et al. 2007; Chen et al. 2013). La prevalencia de hiperuricemia al conjuntar las poblaciones infantiles niños fue del 21%, lo cual es similar a lo reportado en niños México-estadounidenses (25%) (Voruganti et al. 2015). En adultos el principal modificador de los niveles séricos de ácido úrico fue el sexo, con una diferencia de 1.42 mg/dl entre los promedios de hombres y mujeres, cercano a los 1.5 mg/dl de diferencia observada en otra muestra de adultos mexicanos (Meneses-Leon et al. 2014). Entre los niños de ambos sexos el AUS promedio fue similar, también en concordancia con observaciones previas (Kubota et al. 2011).

El estudio partió de un escrutinio completo del genoma y se probó el efecto de las variantes genéticas con asociación a nivel de genoma completo con el AUS, en el cambio del AUS y el síndrome metabólico incidente a 2 años en niños; así como la relación de estas variantes con el síndrome metabólico, la EAC y la TFGe disminuída.

El análisis conjunto de los 4 grupos de estudio permitió identificar 2 *loci* (*SLC2A9* y *ABCG2*) con significancia a nivel genómico para la asociación con AUS. La asociación de *SLC2A9* y *ABCG2* con el AUS había sido reportada en diversos grupos poblacionales incluyendo europeos, asiáticos del este y afroestadounidenses (Köttgen et al. 2013; Giri et al. 2016). *SLC2A9/SLC2A9* es un transportador de urato de alta capacidad que participa en la reabsorción tubular del urato (Long et al. 2015) cuya variación genética ya se había asociado con el AUS en adultos y niños hispanos en Estados Unidos, principalmente de origen mexicano (Voruganti et al. 2013; Voruganti et al. 2015). En el presente estudio el tamaño del efecto de rs7678287 (*SLC2A9*) fue mayor en niños que en adultos, lo cual coincide con lo observado en población infantil México-estadounidenses (Voruganti et al. 2015). Es notable que tras condicionar por el SNP líder de la señal en *SLC2A9* se observó asociación con otro SNP, lo cual apoya los trabajos que han sugerido que esta región contiene múltiples variantes independientes asociadas al AUS (Wei et al. 2014; Topless et al. 2015). Congruente con lo anterior, los dos SNP (rs7678287 y rs7675964) presentaron un desequilibrio de ligamiento bajo ( $r^2 = 0.22$ ). Aunque el estudio en niños México-estadounidenses no especifica si los SNP en *SLC2A9* que observaron asociados con los niveles de AUS son independientes (Voruganti et al. 2015) el desequilibrio de ligamiento entre su SNP líder (rs11723388) y rs7675964 (uno de los SNP encontrados en este estudio) fue también bajo ( $r^2=0.11$ ), lo que sugiere la presencia de al menos 2 bloques en la región asociados con el AUS. Por lo tanto, ambos estudios secundan la hipótesis de asociación independiente de al menos dos regiones en *SLC2A9* con el AUS. El análisis por separado de los segmentos de origen indígena y europeo en esta región sugiere que los SNP en *SLC2A9* asociados al AUS dependen del origen étnico. Sin embargo, la identificación de las variantes funcionales es tarea pendiente.

El segundo gen que presentó asociación a nivel de genoma completo fue *ABCG2*, el cual codifica para una proteína implicada en la excreción renal e intestinal del ácido úrico. Dos estudios independientes

han caracterizado funcionalmente al SNP rs2231142 (Q141K) como una variante con pérdida de función (Matsuo et al. 2009; Woodward et al. 2009). En ellos se mostró que este cambio, localizado en el dominio de unión a ATP, disminuye los niveles de expresión en membrana y la capacidad de transporte del ácido úrico a niveles cercanos a la mitad de la proteína silvestre. A diferencia de lo observado en la región de SLC2A9, tras condicionar por rs2231142 ningún otro SNP presentó asociación significativa con AUS. Esto es congruente con un papel funcional de la variante Q141K del gen *ABCG2*.

Además de los dos loci con asociación a nivel de genoma completo, SNP en o cercanos a los genes *MCTP2* y *RREB1* presentaron asociación sugestiva ( $p=5.34 \times 10^{-7}$  y  $p=5.88 \times 10^{-6}$ , respectivamente). *MCTP2* recibe su nombre por contener múltiples dominios de unión a calcio y transmembranales, se expresa principalmente en bazo, placenta y colon (Fagerberg et al. 2014). En GWAS de primera generación se vieron variantes de este gen asociadas con el IMC en mujeres (Fox et al. 2007), sin que esto se replicara en estudios más recientes. Debido a que se trata de una señal conformada por un solo SNP de frecuencia relativamente baja (0.07 – 0.1 en los distintos grupos) y que su asociación con AUS no se replicó en la cohorte GEA pensamos que se trató de un falso positivo. La otra instancia, rs2714335, es un SNP intrónico de *RREB1*. Se había reportado variantes en este gen asociados a AUS (Köttgen et al. 2013) pero rs2714335 es independiente a la señal conocida. Aunque las frecuencias alélicas de este SNP difieren poco entre las poblaciones del KGP, en una búsqueda global de huellas de selección hay evidencia de selección positiva para variantes de este gen entre México-estadounidenses (Casillas et al. 2018) lo que sugiere cambios funcionales población específicos en esta región, aunque se desconoce si estos cambios tienen relación con el ácido úrico. *RREB1* participa en la remodelación de histonas (Ray et al. 2014), mecanismo por el cual se ha reportado que reprime el gen del angiotensinógeno (Date et al. 2004) y se ha asociado a IRC terminal en diabéticos tipo 2 (Bonomo et al. 2014). Aunque su participación en la función renal es sugerente, no hay estudios que aborden funcionalmente su papel con respecto al ácido úrico.

Además del GWAS se buscó la asociación con AUS de variantes reportadas en el mayor metanálisis de GWAS realizado a la fecha (Köttgen et al. 2013) bajo un diseño de genes candidatos. El análisis de genes reportados coincide en que entre las variantes cuyo alelo menor disminuye el AUS, las que siguen en tamaño de efecto a *SLC2A9* son las de *SLC17A1*, *SLC16A9* e *INHBC*. *SLC17A1* codifica para un transportador epitelial con afinidad por el ácido úrico expresado en la cara apical del túbulo renal (Sakiyama et al. 2016). El SNP asociado, rs1165151, está en desequilibrio de ligamiento con rs1165196, que provoca un cambio de isoleucina por treonina en este transportador y que se ha caracterizado como una variante con ganancia de función que favorece la excreción renal del ácido úrico (Chiba et al. 2015). *SLC16A9* se identificó como transportador monocarboxílico por homología (Halestrap & Price 1999). Aunque no se ha caracterizado funcionalmente, un estudio de asociación sugiere que su actividad es principalmente intestinal (Nakayama et al. 2013). *INHBC* (inhibina- $\beta$ -C) llama la atención por no tratarse de un transportador. Las inhibinas forman parte de la superfamilia de TGF $\beta$ , participan en la respuesta a hormona folículo estimulante (Chang et al. 2014) y parecen ser importantes en la progresión del cáncer de próstata (Ottley et al. 2017). Hay evidencia de enriquecimiento de esta vía en la modulación del ácido úrico (Merriman 2015). Elucidar el mecanismo por la que actúa sería de sumo interés. Otra variante reportada con la cual se encontró asociación, a

pesar de no estar entre las de mayor efecto en el GUGC fue rs17632159 de *TMEM17*. Aunque no se encontró interacción por grupo de edad en esta variante ( $p=0.32$ ), es de llamar la atención que el efecto fue mayor en niños ( $\beta = -0.15$  mg/dl,  $p=0.0026$ ) que en adultos ( $\beta = -0.09$  mg/dl,  $p=0.0700$ ). Esto podría explicar el que su efecto se observe por encima del de otras variantes que se reportan como más importantes en adultos. Por homología se predice que este gen participa en el ensamblado ciliar y se ha encontrado mutaciones de *TMEM17* en pacientes con síndrome orofaciocdigital tipo 6 (Li et al. 2016). Su posible participación en la regulación del AUS se desconoce. Por estrategia de genes candidatos solo se encontró una variante cuyo alelo menor aumenta el AUS, rs675209 de *RREB1*, mismo gen del cual se encontró una variante con nivel sugestivo de asociación a nivel genómico.

A diferencia de otros estudios (Huffman et al. 2015; Li et al. 2013) no observamos que la obesidad modificara el efecto de las variantes en *SLC2A9* y *ABCG2* sobre el AUS a pesar de realizar un diseño orientado a este fin. Es interesante confirmar que el efecto de rs2231142 en *ABCG2* sobre el AUS se ve modificado por el sexo en adultos (Brandstätter et al. 2010; Köttgen et al. 2013) y no observar este efecto en los niños a pesar que el tamaño de muestra es similar. Los experimentos en los que la testosterona aumenta la expresión de *ABCG2* en riñones de rata macho (Tanaka et al. 2004) y la correlación positiva observada entre niveles de testosterona y AUS (Kurahashi et al. 2013; Denzer et al. 2003) podrían explicar este efecto.

La asociación entre las variantes de *SLC17A1* e *INHBC* y el AUS se vio modificada por la presencia de obesidad o el grupo etario. El efecto de rs1165151 de *SLC17A1* alcanzó significancia únicamente en niños con obesidad y adultos normopeso. Es posible que esta variante, que se asocia con ganancia de función y mayor excreción renal de ácido úrico (Chiba et al. 2015), tenga menor participación en situaciones de sobreproducción de ácido úrico como podría ser la obesidad de predominio visceral en el adulto (Matsuura et al. 1998), mientras que en la obesidad infantil la excreción renal disminuida como mecanismo de hiperuricemia sería prácticamente exclusiva (Garbagnati 1996). Se ha reportado que el efecto de rs3741414 de *INHBC* sobre el AUS es mayor en hombres (Köttgen et al. 2013) lo cual sugiere que las hormonas sexuales u otros factores relacionados al desarrollo puberal pudieran influenciar su actividad. En este estudio, además de confirmar la interacción de rs3741414 de *INHBC* con el sexo ( $P_{interacción}=0.02$ ) de forma novedosa observamos un menor efecto de esta variante en niños.

## **Efecto de la variación en *SLC2A9* sobre el cambio en el ácido úrico sérico y el desarrollo de hiperuricemia**

A pesar de la fuerte asociación observada entre el genotipo de *SLC2A9* y el AUS, incluso en el subgrupo de niños que fue seguido por 2 años, no se encontró asociación entre este genotipo y el cambio en el AUS a dos años. La población de esta etapa del estudio tenía una mediana de edad de 8.7 años. Es posible que la falta de asociación se deba a que en este periodo la excreción del ácido úrico en sujetos normopeso es relativamente estable. Aunque no hay estudios longitudinales, los estudios transversales sugieren que entre los 4 y los 11 años la fracción excretada de ácido úrico se modifica poco en sujetos normopeso pero en sujetos con obesidad presenta cambios similares a los observados en la pubertad (Stiburkova & Bleyer 2012; Garbagnati & Boschetti 1994). En ese sentido es interesante notar que entre individuos normopeso menos del 10% desarrolló hiperuricemia pero entre los individuos con sobrepeso u obesidad observamos hiperuricemia incidente en la cuarta parte de los

sujetos. En sujetos normopeso, el promedio de percentila de IMC entre los individuos que desarrollaron hiperuricemia fue de 66.89, mientras que la percentila de IMC promedio entre los que no desarrollaron hiperuricemia fue de 56.50 ( $p=0.0859$ ). Estos resultados apoyan un efecto preponderante de las alteraciones del estado nutricional sobre el desarrollo de hiperuricemia en la infancia, aunque no lo explican por completo. El análisis del consumo de bebidas endulzadas con jarabe de maíz de alta fructosa, cuyo papel en el desarrollo de la hiperuricemia infantil parece verse potenciado con la obesidad (Lin et al. 2016), podría contribuir a una mejor comprensión del desarrollo de esta alteración.

## **Efecto de los polimorfismos que modulan al ácido úrico en los desenlaces cardiovasculares, renales y metabólicos**

Aunque el aumento en el AUS se ha asociado a varios factores de riesgo coronarios en distintas poblaciones (Wheeler et al. 2005), las evidencias de si el AUS incrementado es un factor de riesgo cardiovascular independiente son discordantes (Voruganti et al. 2009; Perticone et al. 2017). En este estudio, los niveles de AUS se asociaron a factores de riesgo cardiovascular como el síndrome metabólico y la TFGe, así como con la EAC prematura incluso tras ajustar por factores de riesgo coronarios clásicos. Sin embargo, la aleatorización mendeliana mostró que las variantes líderes de *SLC2A9* y *ABCG2* no se asociaron con la EAC prematura o con el síndrome metabólico. Esto concuerda con un metanálisis de 58 estudios que sugiere que los niveles de AUS no tienen un papel causal en la EAC (White et al. 2016). Hasta donde sabemos este es el primer análisis de aleatorización mendeliana que sugiere que no hay un efecto causal de AUS en la EAC prematura en población mexicana.

Llama la atención que el SNP rs2231142 de *ABCG2* se asoció significativamente a la TFGe disminuida en pacientes no diabéticos con EAC prematura de la cohorte GEA. Hay estudios que reportan un mayor efecto de este SNP en situaciones patológicas como la insuficiencia renal crónica (Bhatnagar et al. 2016; Matsuo et al. 2016) tal vez como resultado de la contribución de *ABCG2* en la eliminación extrarrenal del ácido úrico y cuyo defecto genera sobrecarga renal (Kannangara et al. 2016). La asociación de rs2231142 con una TFGe disminuida solo en sujetos con EAC prematura puede deberse a que la disminución en la TFGe se presentó con mayor frecuencia en pacientes que en controles (RM=1.84, IC 95% 1.13-3.01,  $P=0.0134$ ).

Otra posibilidad, sugerida por el único estudio de aleatorización mendeliana que evalúa el efecto del AUS sobre la función renal en población abierta (Hughes et al. 2014), es que la variante rs2231142 de *ABCG2* tenga efecto sobre la función renal por un mecanismo independiente y más complejo que la elevación del ácido úrico. Esto es factible dada la variedad de metabolitos transportados por *ABCG2* y la diversidad de tejidos en los que se expresa (Tanaka et al. 2004).

## Conclusiones

Este es el primer escrutinio del genoma completo para AUS realizado de manera conjunta en niños y adultos, así como el primer escrutinio completo del genoma para AUS realizado en población mexicana. Podemos concluir que tanto en niños como en adultos las variantes genéticas comunes con mayor efecto en la variación del AUS se encuentran en los transportadores *SLC2A9* y *ABCG2*. En *SLC2A9* la señal de asociación observada se puede atribuir a más de un SNP, mientras que en *ABCG2*, el SNP funcional rs2231142 puede ser el responsable de la asociación.

Existe interacción por sexo del efecto de rs2231142 sobre el AUS en adultos mientras que esta no se observa en niños. Asimismo, el tamaño de efecto de las variantes reportadas en *SLC17A1* e *INHBC* difiere entre niños y adultos.

No se observó asociación entre las principales variantes asociadas a nivel genómico con AUS con el cambio a 2 años del AUS en niños, ni con el desarrollo de hiperuricemia.

A pesar de que el AUS estuvo asociado de manera independiente a la EAC, el síndrome metabólico y a la TFGe  $<60$  ml/min/1.73m<sup>2</sup>, no se observó asociación entre las principales variantes asociadas a nivel genómico con AUS (*SLC2A9* y *ABCG2*) con la EAC y el síndrome metabólico. En contraste, el SNP rs2231142 de *ABCG2* se asoció con TFGe  $<60$  ml/min/1.73m<sup>2</sup> entre el grupo los sujetos con EAC y en el conjunto de casos con EAC y controles.

Dado que no se encontró que la obesidad modificara el efecto de las variantes con asociación genómica para AUS y no se encontró asociación entre las variantes genéticas asociadas al ácido úrico y la EAC, no se encontró evidencia para sustentar la hipótesis de que la obesidad atenúa la contribución genética a la EAC mediada por la elevación del ácido úrico.

## Perspectivas

El análisis de la diversidad genética entre poblaciones ha sido útil para identificar mecanismos contribuyentes a la diabetes mellitus tipo 2 (Mahajan et al. 2014) y para comprender mejor la arquitectura genética de las dislipidemias (Coram et al. 2013). La identificación de variantes genéticas contribuyentes a un rasgo en este contexto puede realizarse mediante mapeo por ancestría, método que se vale de los bloques haplotípicos diferenciados resultantes del mestizaje para la delimitación de señales asociadas al fenotipo de interés (Shetty et al. 2015). Una ventaja de esta metodología es su mayor potencia en comparación al escrutinio de genoma completo tradicional, por lo que se pueden detectar señales de asociación con tamaños de muestra menor (Galanter et al. 2014). Aunque la frecuencia de hiperuricemia no se ha estudiado en poblaciones indígenas de México, la frecuencia de esta alteración entre los distintos grupos que radican en Estados Unidos sugiere que la elevación del AUS es menos frecuente en aquellos grupos con un componente ancestral indígena americano (Zhu et al. 2011) y esta diferencia es más notoria cuando se considera la adiposidad (Dong et al. 2016). En caso de corroborarse una menor frecuencia de hiperuricemia en distintos grupos indígenas independientemente del IMC, un mapeo por ancestría para AUS que incluya tanto la población mestiza de este estudio como sujetos indígenas podría resultar en la identificación de *loci* contribuyentes a la regulación del ácido úrico desconocidos hasta ahora o a la mejor delimitación de variantes causales en regiones conocidas, como *SLC2A9*.

Por otra parte, el estudio de sujetos en tratamiento farmacológico o quirúrgico de la obesidad con seguimiento a un año pudiera ampliar lo mostrado en este estudio, al permitir el análisis de una posible modificación por el genotipo del efecto de la pérdida de peso sobre los niveles séricos de ácido úrico (Xu et al. 2013).

## Bibliografía

- Adamopoulos, D. et al., 1977. The relationship of sex steroids to uric acid levels in plasma and urine. *Acta endocrinologica*, 85(1), pp.198–208.
- Alexander, D.H., Novembre, J. & Lange, K., 2009. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome research*, 19(9), pp.1655–64.
- Antón, F.M. et al., 1986. Sex differences in uric acid metabolism in adults: evidence for a lack of influence of estradiol-17 beta (E2) on the renal handling of urate. *Metabolism: clinical and experimental*, 35(4), pp.343–8.
- Barlow, S.E. & Expert Committee, 2007. Expert committee recommendations regarding the prevention, assessment, and treatment of child and adolescent overweight and obesity: summary report. *Pediatrics*, 120(Suppl. 4), pp.164–92.
- Barskova, V.G. et al., 2009. [Effect of metformin on the clinical course of gout and insulin resistance]. *Klinicheskaia meditsina*, 87(7), pp.41–6.
- Battelli, M.G. et al., 2016. Xanthine Oxidoreductase-Derived Reactive Species: Physiological and Pathological Effects. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, pp.1–8.
- Bavishi, C., Messerli, F.H. & Rimoldi, S.F., 2016. Serum Uric Acid in Primary Hypertension. *Hypertension*, 67(5), pp.845–847.
- Becker, M.A. et al., 1986. Phosphoribosylpyrophosphate synthetase superactivity. A study of five patients with catalytic defects in the enzyme. *Arthritis and rheumatism*, 29(7), pp.880–8.
- Bello-Chavolla, O.Y. et al., 2017. Epidemiology of diabetes mellitus in Mexico. *Nutrition Reviews*, 75(suppl 1), pp.4–12.
- Berry, C.E. & Hare, J.M., 2004. Xanthine oxidoreductase and cardiovascular disease: molecular mechanisms and pathophysiological implications. *The Journal of Physiology*, 555(3), pp.589–606.
- Bhatnagar, V. et al., 2016. Analysis of ABCG2 and other urate transporters in uric acid homeostasis in chronic kidney disease: potential role of remote sensing and signaling. *Clinical Kidney Journal*, 9(3), pp.444–453.
- Bien, S.A. et al., 2016. Strategies for Enriching Variant Coverage in Candidate Disease Loci on a Multiethnic Genotyping Array A. E. Toland, ed. *PLOS ONE*, 11(12), p.e0167758.
- Bonomo, J.A. et al., 2014. The ras responsive transcription factor RREB1 is a novel candidate gene for type 2 diabetes associated end-stage kidney disease. *Human Molecular Genetics*, 23(24), pp.6441–6447.
- Bouteldja, N. & Timson, D.J., 2010. The biochemical basis of hereditary fructose intolerance. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 33(2), pp.105–112.

- Brandstätter, A. et al., 2008. Sex-specific association of the putative fructose transporter SLC2A9 variants with uric acid levels is modified by BMI. *Diabetes care*, 31(8), pp.1662–7.
- Brandstätter, A. et al., 2010. Sex and age interaction with genetic association of atherogenic uric acid concentrations. *Atherosclerosis*, 210(2), pp.474–8.
- Browning, B.L. & Browning, S.R., 2016. Genotype Imputation with Millions of Reference Samples. *The American Journal of Human Genetics*, 98(1), pp.116–126.
- Browning, S.R. & Browning, B.L., 2007. Rapid and Accurate Haplotype Phasing and Missing-Data Inference for Whole-Genome Association Studies By Use of Localized Haplotype Clustering. *The American Journal of Human Genetics*, 81(5), pp.1084–1097.
- Cai, W. et al., 2017. Uric Acid Induces Endothelial Dysfunction by Activating the HMGB1/RAGE Signaling Pathway. *BioMed Research International*, 2017, pp.1–11.
- Casillas, S. et al., 2018. PopHuman: the human population genomics browser. *Nucleic Acids Research*, 46(D1), pp.D1003–D1010.
- Chamorro, Á. et al., 2014. Safety and efficacy of uric acid in patients with acute stroke (URICO-ICTUS): a randomised, double-blind phase 2b/3 trial. *The Lancet Neurology*, 13(5), pp.453–460.
- Chang, H.-M. et al., 2014. Effects of Recombinant Activins on Steroidogenesis in Human Granulosa-Lutein Cells. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 99(10), pp.E1922–E1932.
- Chen, J.-H. et al., 2013. Impact of obesity and hypertriglyceridemia on gout development with or without hyperuricemia: a prospective study. *Arthritis care & research*, 1(65), pp.133–140.
- Chiba, T. et al., 2015. NPT1/SLC17A1 Is a Renal Urate Exporter in Humans and Its Common Gain-of-Function Variant Decreases the Risk of Renal Underexcretion Gout. *Arthritis & Rheumatology*, 67(1), pp.281–287.
- Chittoor, G. et al., 2017. Genetic variation underlying renal uric acid excretion in Hispanic children: the Viva La Familia Study. *BMC medical genetics*, 18(1), p.6.
- Choi, H.K. et al., 2004. Purine-Rich Foods, Dairy and Protein Intake, and the Risk of Gout in Men. *New England Journal of Medicine*, 11(350), pp.1093–1103.
- Choi, H.K., Liu, S. & Curhan, G., 2005. Intake of purine-rich foods, protein, and dairy products and relationship to serum levels of uric acid: the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arthritis & Rheumatology*, 52(1), pp.283–289.
- Chronic Kidney Disease Prognosis Consortium et al., 2010. Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis. *The Lancet*, 375(9731), pp.2073–2081.
- Consortium, T.I.H., 2005. A haplotype map of the human genome. *Nature*, 437(7063), pp.1299–1320.

- Coram, M.A. et al., 2013. Genome-wide characterization of shared and distinct genetic components that influence blood lipid levels in ethnically diverse human populations. *American journal of human genetics*, 92(6), pp.904–16.
- Culleton, B.F., 1999. Serum Uric Acid and Risk for Cardiovascular Disease and Death: The Framingham Heart Study. *Annals of Internal Medicine*, 131(1), p.7.
- Dalbeth, N. et al., 2015. Body mass index modulates the relationship of sugar-sweetened beverage intake with serum urate concentrations and gout. *Arthritis research & therapy*, 17(1), p.263.
- Dalbeth, N. et al., 2014. Impact of bariatric surgery on serum urate targets in people with morbid obesity and diabetes: a prospective longitudinal study. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 73(5), pp.797–802.
- Dalbeth, N., Merriman, T.R. & Stamp, L.K., 2016. Gout. *Lancet (London, England)*, 388(10055), pp.2039–2052.
- Danecek, P. et al., 2011. The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics*, 27(15), pp.2156–2158.
- Date, S. et al., 2004. Finb, a multiple zinc finger protein, represses transcription of the human angiotensinogen gene. *International journal of molecular medicine*, 13(5), pp.637–42.
- DeBoer, M.D., Dong, L. & Gurka, M.J., 2012. Racial/ethnic and sex differences in the relationship between uric acid and metabolic syndrome in adolescents: an analysis of National Health and Nutrition Survey 1999-2006. *Metabolism: clinical and experimental*, 61(4), pp.554–61.
- Denzer, C. et al., 2003. Serum uric acid levels in obese children and adolescents: linkage to testosterone levels and pre-metabolic syndrome. *Journal of pediatric endocrinology & metabolism: JPEM*, 16(9), pp.1225–32.
- Dong, B. et al., 2016. Ethnic differences in cardiometabolic risk among adolescents across the waist-height ratio spectrum: National Health and Nutrition Examination Surveys (NHANES). *International Journal of Cardiology*, 222, pp.622–628.
- Döring, A. et al., 2008. SLC2A9 influences uric acid concentrations with pronounced sex-specific effects. *Nature genetics*, 40(4), pp.430–6.
- Durand, C.P. et al., 2013. Does Raising Type 1 Error Rate Improve Power to Detect Interactions in Linear Regression Models? A Simulation Study G. Biondi-Zoccai, ed. *PLoS ONE*, 8(8), p.e71079.
- Elizalde-Barrera, C.I. et al., 2017. Serum uric acid levels are associated with homeostasis model assessment in obese nondiabetic patients: HOMA and uric acid. *Therapeutic advances in endocrinology and metabolism*, 8(10), pp.141–146.
- Enomoto, A. et al., 2002. Molecular identification of a renal urate–anion exchanger that regulates blood urate levels. *Nature*, 417(6887), pp.447–452.
- Estadísticas Vitales, I., 2018. Principales causas de mortalidad or residencia habitual, grupos de edad y sexo del fallecido. Available at:

<http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/registros/vitales/mortalidad/tabulados/ConsultaMortalidad.asp> [Accessed March 5, 2018].

- Eu-Ahsunthornwattana, J. et al., 2014. Comparison of methods to account for relatedness in genome-wide association studies with family-based data. *PLoS genetics*, 10(7), p.e1004445.
- Fagerberg, L. et al., 2014. Analysis of the Human Tissue-specific Expression by Genome-wide Integration of Transcriptomics and Antibody-based Proteomics. *Molecular & Cellular Proteomics*, 13(2), pp.397–406.
- Feig, D.I., 2014. Serum uric acid and the risk of hypertension and chronic kidney disease. *Current Opinion in Rheumatology*, 26(2), pp.176–185.
- Feig, D.I., Soletsky, B. & Johnson, R.J., 2008. Effect of allopurinol on blood pressure of adolescents with newly diagnosed essential hypertension: a randomized trial. *JAMA*, 300(8), pp.924–32.
- De Ferranti, S.D. et al., 2004. Prevalence of the metabolic syndrome in American adolescents: Findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Circulation*, 110(16), pp.2494–2497.
- Fessel, W.J., Siegelau, A.B. & Johnson, E.S., 1973. Correlates and consequences of asymptomatic hyperuricemia. *Archives of internal medicine*, 132(1), pp.44–54.
- Fox, C.S. et al., 2007. Genome-wide association to body mass index and waist circumference: the Framingham Heart Study 100K project. *BMC Medical Genetics*, 8(Suppl 1), p.S18.
- French, J.G. et al., 1967. A study of familial aggregation of serum uric acid levels in the population of Tecumseh, Michigan, 1959-1960. *American journal of epidemiology*, 86(1), pp.214–24.
- Friedman, J., Hastie, T. & Tibshirani, R., 2010. Regularization Paths for Generalized Linear Models via Coordinate Descent. *Journal of Statistical Software*, 33(1), pp.1–22.
- Galanter, J.M. et al., 2014. Genome-wide association study and admixture mapping identify different asthma-associated loci in Latinos: The Genes-environments & Admixture in Latino Americans study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 134(2), pp.295–305.
- Gao, X. et al., 2016. Prospective study of plasma urate and risk of Parkinson disease in men and women. *Neurology*, 86(6), pp.520–526.
- Garbagnati, E., 1996. Urate changes in lean and obese boys during pubertal development. *Metabolism: clinical and experimental*, 45(2), pp.203–5.
- Garbagnati, E. & Boschetti, M., 1994. Uric acid homeostasis in lean and obese girls during pubertal development. *Metabolism: clinical and experimental*, 43(7), pp.819–21.
- Gauderman, W.J., 2002. Sample size requirements for association studies of gene-gene interaction. *American journal of epidemiology*, 155(5), pp.478–84.
- Giri, A.K. et al., 2016. Genome wide association study of uric acid in Indian population and interaction of identified variants with Type 2 diabetes. *Scientific Reports*, 6(1), p.21440.

- González-Muniesa, P. et al., 2017. Obesity. *Nature Reviews Disease Primers*, 3, p.17034.
- Gruskin, A.B., 1985. The adolescent with essential hypertension. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*, 6(2), pp.86–90.
- Gunawardhana, L. et al., 2017. Effect of Febuxostat on Ambulatory Blood Pressure in Subjects With Hyperuricemia and Hypertension: A Phase 2 Randomized Placebo-Controlled Study. *Journal of the American Heart Association*, 6(11), p.e006683.
- Halestrap, A.P. & Price, N.T., 1999. The proton-linked monocarboxylate transporter (MCT) family: structure, function and regulation. *The Biochemical journal*, 343 Pt 2, pp.281–99.
- Hamada, T. et al., 2008. Uricosuric Action of Losartan via the Inhibition of Urate Transporter 1 (URAT1) in Hypertensive Patients. *American Journal of Hypertension*, 21(10), pp.1157–1162.
- Hernández-Avila, M., Garrido-Latorre, F. & López-Moreno, S., 2000. [Epidemiologic study design]. *Salud publica de Mexico*, 42(2), pp.144–54.
- Hikita, M. et al., 2007. Relationship between hyperuricemia and body fat distribution. *Internal Medicine*, 46(17), pp.1353–1358.
- Hosomi, A. et al., 2012. Extra-Renal Elimination of Uric Acid via Intestinal Efflux Transporter BCRP/ABCG2 S. R. Singh, ed. *PLoS ONE*, 7(2), p.e30456.
- Huffman, J.E. et al., 2015. Modulation of Genetic Associations with Serum Urate Levels by Body-Mass-Index in Humans D. C. Crawford, ed. *PLOS ONE*, 10(3), p.e0119752.
- Hughes, K. et al., 2014. Mendelian randomization analysis associates increased serum urate, due to genetic variation in uric acid transporters, with improved renal function. *Kidney International*, 85(2), pp.344–351.
- Hyndman, D., Liu, S. & Miner, J.N., 2016. Urate Handling in the Human Body. *Current rheumatology reports*, 18(6), p.34.
- Ichida, K. et al., 2008. Age and origin of the G774A mutation in SLC22A12 causing renal hypouricemia in Japanese. *Clinical Genetics*, 74(3), pp.243–251.
- Ichida, K., Matsuo, H., et al., 2012. Decreased extra-renal urate excretion is a common cause of hyperuricemia. *Nature communications*, 3, p.764.
- Ichida, K., Amaya, Y., et al., 2012. Mutations associated with functional disorder of xanthine oxidoreductase and hereditary xanthinuria in humans. *International journal of molecular sciences*, 13(11), pp.15475–95.
- Iseki, K. et al., 2004. Significance of hyperuricemia as a risk factor for developing ESRD in a screened cohort. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*, 44(4), pp.642–50.
- Jensen, T. et al., 2018. Fructose and sugar: A major mediator of non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Hepatology*, 68(5), pp.1063–1075.

- Jewell, N.P., 2004. Causal Inference and Extraneous Factors: Confounding and Interaction. In *Statistics for Epidemiology*. Boca Raton: Chapman & Hall/CRC, pp. 93–102.
- Jinnah, H.A. et al., 2000. The spectrum of inherited mutations causing HPRT deficiency: 75 new cases and a review of 196 previously reported cases. *Mutation research*, 463(3), pp.309–26.
- Johnson, N.A. et al., 2011. Ancestral components of admixed genomes in a Mexican cohort. *PLoS genetics*, 7(12), p.e1002410.
- Johnson, R.J. et al., 2013. Sugar, Uric Acid, and the Etiology of Diabetes and Obesity. *Diabetes*, 62(10), pp.3307–3315.
- Johnson, R.J. et al., 2013. What are the key arguments against uric acid as a true risk factor for hypertension? *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)*, 61(5), pp.948–51.
- Juraschek, S.P. et al., 2013. Body mass index, obesity, and prevalent gout in the United States in 1988-1994 and 2007-2010. *Arthritis care & research*, 65(1), pp.127–32.
- Kannangara, D.R.W. et al., 2016. Hyperuricaemia: contributions of urate transporter ABCG2 and the fractional renal clearance of urate. *Annals of the rheumatic diseases*, 75(7), pp.1363–6.
- Kimura, T. et al., 2014. Expression of SLC2A9 Isoforms in the Kidney and Their Localization in Polarized Epithelial Cells M. Kanzaki, ed. *PLoS ONE*, 9(1), p.e84996.
- Kitts, A. et al., 2013. The Database of Short Genetic Variation (dbSNP). In *The NCBI Handbook*. Bethesda: National Center for Biotechnology Information.
- Kleber, M.E. et al., 2015. Uric Acid and Cardiovascular Events: A Mendelian Randomization Study. *Journal of the American Society of Nephrology*, 26(11), pp.2831–2838.
- Kojima, S. et al., 2017. Rationale, design, and baseline characteristics of a study to evaluate the effect of febuxostat in preventing cerebral, cardiovascular, and renal events in patients with hyperuricemia. *Journal of Cardiology*, 69(1), pp.169–175.
- Kong, A.P.S. et al., 2013. Associations of uric acid and gamma-glutamyltransferase (GGT) with obesity and components of metabolic syndrome in children and adolescents. *Pediatric Obesity*, 8(5), pp.351–357.
- Köttgen, A. et al., 2013. Genome-wide association analyses identify 18 new loci associated with serum urate concentrations. *Nature genetics*, 45(2), pp.145–54.
- Krishnan, E., Pandya, B.J., et al., 2012. Hyperuricemia in young adults and risk of insulin resistance, prediabetes, and diabetes: a 15-year follow-up study. *American journal of epidemiology*, 176(2), pp.108–16.
- Krishnan, E., Lessov-Schlaggar, C.N., et al., 2012. Nature Versus Nurture in Gout: A Twin Study. *The American Journal of Medicine*, 125(5), pp.499–504.
- Kubota, M. et al., 2011. Investigation on Hyperuricemia in Children with Obesity or Various Pediatric Disorders. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, 30(12), pp.1051–1059.

- Kurahashi, H. et al., 2013. Testosterone replacement elevates the serum uric acid levels in patients with female to male gender identity disorder. *Endocrine journal*, 60(12), pp.1321–7.
- Lanaspa, M.A. et al., 2012. Uric Acid Induces Hepatic Steatosis by Generation of Mitochondrial Oxidative Stress. *Journal of Biological Chemistry*, 287(48), pp.40732–40744.
- Le, M.T. et al., 2012. Effects of high-fructose corn syrup and sucrose on the pharmacokinetics of fructose and acute metabolic and hemodynamic responses in healthy subjects. *Metabolism: clinical and experimental*, 61(5), pp.641–51.
- Legeza, B. et al., 2017. Fructose, Glucocorticoids and Adipose Tissue: Implications for the Metabolic Syndrome. *Nutrients*, 9(5), p.426.
- León-Mimila, P. et al., 2013. Contribution of Common Genetic Variants to Obesity and Obesity-Related Traits in Mexican Children and Adults J. Devaney, ed. *PLoS ONE*, 8(8), p.e70640.
- Levey, A.S. et al., 2009. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Annals of internal medicine*, 150(9), pp.604–12.
- Li, C. et al., 2016. MKS5 and CEP290 Dependent Assembly Pathway of the Ciliary Transition Zone R. Basto, ed. *PLoS Biology*, 14(3), p.e1002416.
- Li, L. et al., 2014. Is hyperuricemia an independent risk factor for new-onset chronic kidney disease?: a systematic review and meta-analysis based on observational cohort studies. *BMC Nephrology*, 15(1), p.122.
- Li, W.-D. et al., 2013. A genome wide association study of plasma uric acid levels in obese cases and never-overweight controls. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 21(9), pp.E490-4.
- Lin, W.-T. et al., 2016. Fructose-Rich Beverage Intake and Central Adiposity, Uric Acid, and Pediatric Insulin Resistance. *The Journal of Pediatrics*, 171, p.90–96.e1.
- Lisker, R. et al., 1986. Gene frequencies and admixture estimates in a Mexico City population. *American Journal of Physical Anthropology*, 71(2), pp.203–207.
- Liu, J., 2012. *Population substructure and its impact on genome-wide association studies with admixed populations*. University of Southern California.
- Long, W. et al., 2015. Critical Roles of Two Hydrophobic Residues within Human Glucose Transporter 9 (hSLC2A9) in Substrate Selectivity and Urate Transport. *Journal of Biological Chemistry*, 290(24), pp.15292–15303.
- López-Molina, R. et al., 2013. Sweetened beverages intake, hyperuricemia and metabolic syndrome: the Mexico City Diabetes Study. *Salud publica de Mexico*, 55(6), pp.557–63.
- de Luca, C. & Olefsky, J.M., 2008. Inflammation and insulin resistance. *FEBS letters*, 582(1), pp.97–105.
- Mahajan, A. et al., 2014. Genome-wide trans-ancestry meta-analysis provides insight into the genetic architecture of type 2 diabetes susceptibility. *Nature Genetics*, 46(3), pp.234–244.

- Mallamaci, F. et al., 2014. A polymorphism in the major gene regulating serum uric acid associates with clinic SBP and the white-coat effect in a family-based study. *Journal of Hypertension*, 32(8), pp.1621–1628.
- Mandal, A.K. & Mount, D.B., 2015. The Molecular Physiology of Uric Acid Homeostasis. *Annual Review of Physiology*, 77(1), pp.323–345.
- Maples, B.K. et al., 2013. RFMix: A Discriminative Modeling Approach for Rapid and Robust Local-Ancestry Inference. *The American Journal of Human Genetics*, 93(2), pp.278–288.
- Martin, E.R. et al., 2018. Properties of global- and local-ancestry adjustments in genetic association tests in admixed populations. *Genetic epidemiology*, 42(2), pp.214–229.
- Masuo, K. et al., 2003. Serum Uric Acid and Plasma Norepinephrine Concentrations Predict Subsequent Weight Gain and Blood Pressure Elevation. *Hypertension*, 42(4), pp.474–480.
- Matsuo, H. et al., 2009. Common Defects of ABCG2, a High-Capacity Urate Exporter, Cause Gout: A Function-Based Genetic Analysis in a Japanese Population. *Science Translational Medicine*, 1(5), pp.5–11.
- Matsuo, H. et al., 2016. Hyperuricemia in acute gastroenteritis is caused by decreased urate excretion via ABCG2. *Scientific Reports*, 6, p.31003.
- Matsuo, H. et al., 2008. Mutations in Glucose Transporter 9 Gene SLC2A9 Cause Renal Hypouricemia. *The American Journal of Human Genetics*, 83(6), pp.744–751.
- Matsuura, F. et al., 1998. Effect of visceral fat accumulation on uric acid metabolism in male obese subjects: visceral fat obesity is linked more closely to overproduction of uric acid than subcutaneous fat obesity. *Metabolism: clinical and experimental*, 47(8), pp.929–33.
- Mazzali, M. et al., 2001. Elevated uric acid increases blood pressure in the rat by a novel crystal-independent mechanism. *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)*, 38(5), pp.1101–6.
- McCarthy, M.I. et al., 2008. Genome-wide association studies for complex traits: consensus, uncertainty and challenges. *Nature Reviews Genetics*, 9(5), pp.356–369.
- McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, 2017. OMIM - Online Mendelian Inheritance in Man. Available at: <http://omim.org/> [Accessed November 17, 2017].
- Meneses-Leon, J. et al., 2014. Sweetened beverage consumption and the risk of hyperuricemia in Mexican adults: a cross-sectional study. *BMC public health*, 14, p.445.
- Menni, C. et al., 2017. Metabolomic Profiling of Long-Term Weight Change: Role of Oxidative Stress and Urate Levels in Weight Gain. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 25(9), pp.1618–1624.
- Merriman, T.R., 2015. An update on the genetic architecture of hyperuricemia and gout. *Arthritis Research & Therapy*, 17(1), p.98.
- Mersha, T.B., 2015. Mapping asthma-associated variants in admixed populations. *Frontiers in Genetics*, 6, p.292.

- Messerli, F.H. et al., 1980. Serum uric acid in essential hypertension: an indicator of renal vascular involvement. *Annals of internal medicine*, 93(6), pp.817–21.
- Mineo, I. et al., 1987. Myogenic Hyperuricemia. *New England Journal of Medicine*, 317(2), pp.75–80.
- Moreno-Estrada, A. et al., 2014. The genetics of Mexico recapitulates Native American substructure and affects biomedical traits. *Science*, 344(6189), pp.1280–1285.
- Mumford, S.L. et al., 2013. Serum uric acid in relation to endogenous reproductive hormones during the menstrual cycle: findings from the BioCycle study. *Human reproduction (Oxford, England)*, 28(7), pp.1853–62.
- Nakagawa, T. et al., 2006. A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome. *American journal of physiology. Renal physiology*, 290(3), pp.F625-31.
- Nakayama, A. et al., 2013. A common missense variant of monocarboxylate transporter 9 (MCT9/SLC16A9) gene is associated with renal overload gout, but not with all gout susceptibility. *Human Cell*, 26(4), pp.133–136.
- National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III), 2002. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*, 106(25), pp.3143–421.
- Nelson, M.C. et al., 2006. Body Mass Index Gain, Fast Food, and Physical Activity: Effects of Shared Environments over Time\*. *Obesity*, 14(4), pp.701–709.
- Oberbach, A. et al., 2014. Bariatric surgery in severely obese adolescents improves major comorbidities including hyperuricemia. *Metabolism*, 63(2), pp.242–249.
- Obermayr, R.P. et al., 2008. Elevated uric acid increases the risk for kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*, 19(12), pp.2407–13.
- Odden, M.C. et al., 2014. Uric acid levels, kidney function, and cardiovascular mortality in US adults: National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1988-1994 and 1999-2002. *American journal of kidney diseases: the official journal of the National Kidney Foundation*, 64(4), pp.550–7.
- Okada, Y. et al., 2012. Meta-analysis identifies multiple loci associated with kidney function-related traits in east Asian populations. *Nature genetics*, 44(8), pp.904–9.
- Ottley, E.C. et al., 2017. Over-Expression of Activin- $\beta$ C Is Associated with Murine and Human Prostate Disease. *Hormones and Cancer*, 8(2), pp.100–107.
- Pagidipati, N.J. et al., 2017. An examination of the relationship between serum uric acid level, a clinical history of gout, and cardiovascular outcomes among patients with acute coronary syndrome. *American Heart Journal*, 187, pp.53–61.

- Panton, U.H., Bagger, M. & Barquera, S., 2018. Projected diabetes prevalence and related costs in three North American urban centres (2015–2040). *Public Health*, 157, pp.43–49.
- Parsa, A. et al., 2012. Genotype-based changes in serum uric acid affect blood pressure. *Kidney International*, 81(5), pp.502–507.
- Perticone, M. et al., 2017. Risk reclassification ability of uric acid for cardiovascular outcomes in essential hypertension. *International Journal of Cardiology*, 243, pp.473–478.
- Phay, J.E., Hussain, H.B. & Moley, J.F., 2000. Cloning and Expression Analysis of a Novel Member of the Facilitative Glucose Transporter Family, SLC2A9 (GLUT9). *Genomics*, 66(2), pp.217–220.
- Posadas-Romero, C. et al., 2017. Prevalencia y extensión de la calcificación arterial coronaria en población mexicana asintomática cardiovascular: estudio Genética de la Enfermedad Aterosclerosa. *Archivos de Cardiología de México*, 87(4), pp.292–301.
- Posadas-Sánchez, R. et al., 2014. Asociación del ácido úrico con factores de riesgo cardiovascular y aterosclerosis subclínica en adultos mexicanos. *Revista Mexicana de Endocrinología, Metabolismo y Nutrición*, 1(1), pp.14–21.
- Price, A.L. et al., 2006. Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nature Genetics*, 38(8), pp.904–909.
- Purcell, S. et al., 2007. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *American journal of human genetics*, 81(3), pp.559–75.
- Quiñones Galvan, A. et al., 1995. Effect of insulin on uric acid excretion in humans. *The American journal of physiology*, 268(1 Pt 1), pp.E1-5.
- Raivio, K.O. et al., 1975. Stimulation of human purine synthesis de novo by fructose infusion. *Metabolism: clinical and experimental*, 24(7), pp.861–9.
- Ray, S.K. et al., 2014. CtBP and Associated LSD1 Are Required for Transcriptional Activation by NeuroD1 in Gastrointestinal Endocrine Cells. *Molecular and Cellular Biology*, 34(12), pp.2308–2317.
- Robinson, P.C. et al., 2016. Insight into rheumatological cause and effect through the use of Mendelian randomization. *Nature Reviews Rheumatology*, 12(8), pp.486–496.
- Rock, K.L., Kataoka, H. & Lai, J.-J., 2013. Uric acid as a danger signal in gout and its comorbidities. *Nature reviews. Rheumatology*, 9(1), pp.13–23.
- Rovda, I.I., Kazakova, L.M. & Plaksina, E.A., 1990. [Parameters of uric acid metabolism in healthy children and in patients with arterial hypertension]. *Pediatrriia*, (8), pp.19–22.
- Rucker, G. et al., 2011. Treatment-effect estimates adjusted for small-study effects via a limit meta-analysis. *Biostatistics*, 12(1), pp.122–142.
- Sakiyama, M. et al., 2016. Expression of a human NPT1/SLC17A1 missense variant which increases urate export. *Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids*, 35(10–12), pp.536–542.

- Sánchez-Lozada, L.G. et al., 2007. Effects of acute and chronic L-arginine treatment in experimental hyperuricemia. *American journal of physiology. Renal physiology*, 292(4), pp.F1238-44.
- Sánchez-Lozada, L.G. et al., 2005. Mild hyperuricemia induces vasoconstriction and maintains glomerular hypertension in normal and remnant kidney rats. *Kidney international*, 67(1), pp.237–47.
- Sánchez-Lozada, L.G., 2018. The Pathophysiology of Uric Acid on Renal Diseases. In *Contributions to nephrology*. pp. 17–24.
- Sautin, Y.Y. et al., 2007. Adverse effects of the classic antioxidant uric acid in adipocytes: NADPH oxidase-mediated oxidative/nitrosative stress. *AJP: Cell Physiology*, 293(2), pp.C584–C596.
- Sautin, Y.Y. & Johnson, R.J., 2008. Uric acid: the oxidant-antioxidant paradox. *Nucleosides, nucleotides & nucleic acids*, 27(6), pp.608–19.
- Scheepers, L.E.J.M. et al., 2017. Associations of plasma uric acid and purine metabolites with blood pressure in children. *Journal of Hypertension*, 35(5), pp.982–993.
- Secretaría de Salud, 2017. *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016 | Secretaría de Salud | Gobierno | gob.mx*, Cuernavaca.
- Sekula, P. et al., 2016. Mendelian Randomization as an Approach to Assess Causality Using Observational Data. *Journal of the American Society of Nephrology*, 27(11), pp.3253–3265.
- Shetty, P.B. et al., 2015. Variants for HDL-C, LDL-C, and Triglycerides Identified from Admixture Mapping and Fine-Mapping Analysis in African American Families. *CLINICAL PERSPECTIVE. Circulation: Cardiovascular Genetics*, 8(1), pp.106–113.
- Shi, Y., Evans, J.E. & Rock, K.L., 2003. Molecular identification of a danger signal that alerts the immune system to dying cells. *Nature*, 425(6957), pp.516–21.
- Silva-Zolezzi, I. et al., 2009. Analysis of genomic diversity in Mexican Mestizo populations to develop genomic medicine in Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(21), pp.8611–6.
- Sircar, D. et al., 2015. Efficacy of Febuxostat for Slowing the GFR Decline in Patients With CKD and Asymptomatic Hyperuricemia: A 6-Month, Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial. *American Journal of Kidney Diseases*, 66(6), pp.945–950.
- So, A. & Thorens, B., 2010. Uric acid transport and disease. *Journal of Clinical Investigation*, 120(6), pp.1791–1799.
- Stanhope, K.L. et al., 2015. A dose-response study of consuming high-fructose corn syrup-sweetened beverages on lipid/lipoprotein risk factors for cardiovascular disease in young adults. *American Journal of Clinical Nutrition*, 101(6), pp.1144–54.
- Steemers, F.J. et al., 2006. Whole-genome genotyping with the single-base extension assay. *Nature Methods*, 3(1), pp.31–33.

- Stiburkova, B. & Bleyer, A.J., 2012. Changes in Serum Urate and Urate Excretion With Age. *Advances in Chronic Kidney Disease*, 19(6), pp.372–376.
- Stolerman, E.S. et al., 2009. TCF7L2 variants are associated with increased proinsulin/insulin ratios but not obesity traits in the Framingham Heart Study. *Diabetologia*, 52(4), pp.614–620.
- Strazzullo, P. et al., 2001. Relationship of the Trp64Arg polymorphism of the beta3-adrenoceptor gene to central adiposity and high blood pressure: interaction with age. Cross-sectional and longitudinal findings of the Olivetti Prospective Heart Study. *Journal of hypertension*, 19(3), pp.399–406.
- Sun, D. et al., 2014. Uric Acid Is Associated with Metabolic Syndrome in Children and Adults in a Community: The Bogalusa Heart Study Y. Song, ed. *PLoS ONE*, 9(10), p.e89696.
- Tan, P.K. et al., 2016. Coevolution of URAT1 and Uricase during Primate Evolution: Implications for Serum Urate Homeostasis and Gout. *Molecular Biology and Evolution*, 33(9), pp.2193–2200.
- Tanaka, Y. et al., 2004. Tissue distribution and hormonal regulation of the breast cancer resistance protein (Bcrp/Abcg2) in rats and mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 326(1), pp.181–187.
- Taylor, N.M.I. et al., 2017. Structure of the human multidrug transporter ABCG2. *Nature*, 546(7659), pp.504–509.
- Testa, A. et al., 2014. Association of a polymorphism in a gene encoding a urate transporter with CKD progression. *Clinical journal of the American Society of Nephrology: CJASN*, 9(6), pp.1059–65.
- Therneau, T.M., 2015. *coxme: Mixed effects models in R*,
- Topless, R.K. et al., 2015. Association of SLC2A9 genotype with phenotypic variability of serum urate in pre-menopausal women. *Frontiers in genetics*, 6, p.313.
- Toyoki, D. et al., 2017. Insulin stimulates uric acid reabsorption via regulating urate transporter 1 and ATP-binding cassette subfamily G member 2. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 313(3), pp.F826–F834.
- Tsushima, Y. et al., 2013. Uric Acid Secretion from Adipose Tissue and Its Increase in Obesity. *Journal of Biological Chemistry*, 288(38), pp.27138–27149.
- Uhlen, M. et al., 2015. Tissue-based map of the human proteome. *Science*, 347(6220), pp.1260419–1260419.
- Urwyler, S.A. et al., 2017. Interleukin-1 Antagonism Decreases Cortisol Levels in Obese Individuals. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 102(5), pp.1712–1718.
- Viazzi, F. et al., 2016. Increased Serum Uric Acid Levels Blunt the Antihypertensive Efficacy of Lifestyle Modifications in Children at Cardiovascular Risk. *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979)*, 67(5), pp.934–40.

- Villarreal-Molina, M.T. et al., 2007. The ATP-binding cassette transporter A1 R230C variant affects HDL cholesterol levels and BMI in the Mexican population: association with obesity and obesity-related comorbidities. *Diabetes*, 56(7), pp.1881–7.
- Villarreal-Molina, T. et al., 2012. The ABCA1 Gene R230C Variant Is Associated with Decreased Risk of Premature Coronary Artery Disease: The Genetics of Atherosclerotic Disease (GEA) Study M. Stoll, ed. *PLoS ONE*, 7(11), p.e49285.
- Voruganti, V.S. et al., 2009. Genetics of Variation in Serum Uric Acid and Cardiovascular Risk Factors in Mexican Americans. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 94(2), pp.632–638.
- Voruganti, V.S. et al., 2013. Genome-wide association analysis confirms and extends the association of SLC2A9 with serum uric acid levels to Mexican Americans. *Frontiers in Genetics*, 4, p.279.
- Voruganti, V.S. et al., 2015. Serum uric acid concentrations and SLC2A9 genetic variation in Hispanic children: the Viva La Familia Study. *The American journal of clinical nutrition*, 101(4), pp.725–32.
- WANG, B. et al., 2011. Positive Correlation Between Beta-3-Adrenergic Receptor (ADRB3) Gene and Gout in a Chinese Male Population. *The Journal of Rheumatology*, 38(4), pp.738–740.
- Wang, R. et al., 2016. Elevated serum uric acid and risk of cardiovascular or all-cause mortality in people with suspected or definite coronary artery disease: A meta-analysis. *Atherosclerosis*, 254, pp.193–199.
- Wei, W.-H. et al., 2014. Abundant local interactions in the 4p16.1 region suggest functional mechanisms underlying SLC2A9 associations with human serum uric acid. *Human molecular genetics*, 23(19), pp.5061–8.
- Wheeler, J.G. et al., 2005. Serum Uric Acid and Coronary Heart Disease in 9,458 Incident Cases and 155,084 Controls: Prospective Study and Meta-Analysis A. Keech, ed. *PLoS Medicine*, 2(3), p.e76.
- White, J. et al., 2016. Plasma urate concentration and risk of coronary heart disease: a Mendelian randomisation analysis. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 4(4), pp.327–336.
- Willer, C.J. et al., 2013. Discovery and refinement of loci associated with lipid levels. *Nature genetics*, 45(11), pp.1274–83.
- Wingrove, C.S., Walton, C. & Stevenson, J.C., 1998. The effect of menopause on serum uric acid levels in non-obese healthy women. *Metabolism: clinical and experimental*, 47(4), pp.435–8.
- Woodward, O.M. et al., 2013. Gout-causing Q141K mutation in ABCG2 leads to instability of the nucleotide-binding domain and can be corrected with small molecules. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(13), pp.5223–8.
- Woodward, O.M. et al., 2009. Identification of a urate transporter, ABCG2, with a common functional polymorphism causing gout. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(25), pp.10338–10342.

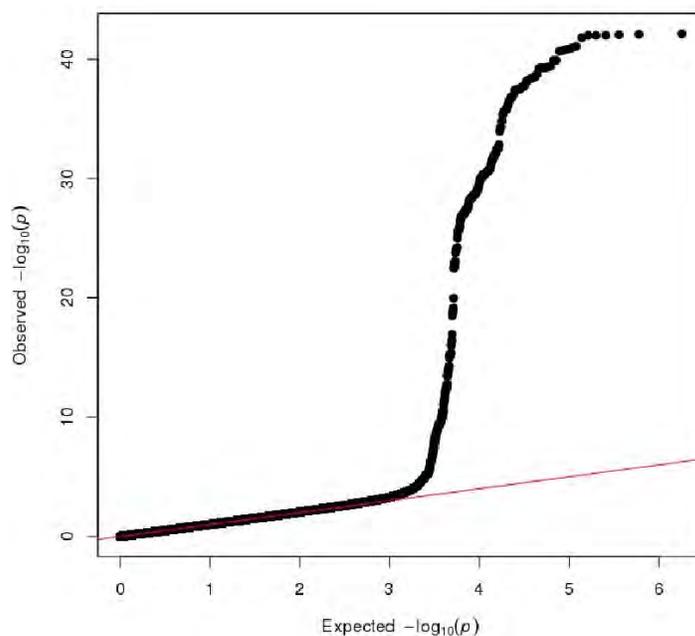
- World Health Organization., 2000. *Obesity: preventing and managing the global epidemic: report of a WHO consultation.*, World Health Organization.
- Xu, M. et al., 2013. Genetic Determinant for Amino Acid Metabolites and Changes in Body Weight and Insulin Resistance in Response to Weight-Loss Diets: The Preventing Overweight Using Novel Dietary Strategies (POUNDS LOST) Trial. *Circulation*, 127(12), pp.1283–1289.
- Yañez-Rivera, T.G. et al., 2014. Relationship between epicardial adipose tissue, coronary artery disease and adiponectin in a Mexican population. *Cardiovascular Ultrasound*, 12(1), p.35.
- Yang, J. et al., 2014. Advantages and pitfalls in the application of mixed-model association methods. *Nature genetics*, 46(2), pp.100–6.
- Yates, A. et al., 2016. Ensembl 2016. *Nucleic acids research*, 44(D1), pp.D710-6.
- Yu, M.-A. et al., 2010. Oxidative stress with an activation of the renin-angiotensin system in human vascular endothelial cells as a novel mechanism of uric acid-induced endothelial dysfunction. *Journal of hypertension*, 28(6), pp.1234–42.
- Yuan, H. et al., 2015. Serum Uric Acid Levels and Risk of Metabolic Syndrome: A Dose-Response Meta-Analysis of Prospective Studies. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 100(11), pp.4198–4207.
- Zeggini, E. & Morris, A.D. eds., 2011. *Analysis of Complex Disease Association Studies | 978-0-12-375142-3 | Elsevier*, Academic Press.
- Zgaga, L. et al., 2012. The Association of Dietary Intake of Purine-Rich Vegetables, Sugar-Sweetened Beverages and Dairy with Plasma Urate, in a Cross-Sectional Study. *PLoS ONE*, 7(6), p.e38123.
- Zhang, L. et al., 2013. Association of functional polymorphism rs2231142 (Q141K) in the ABCG2 gene with serum uric acid and gout in 4 US populations: the PAGE Study. *American journal of epidemiology*, 177(9), pp.923–32.
- Zhang, Y. & Pan, W., 2015. Principal Component Regression and Linear Mixed Model in Association Analysis of Structured Samples: Competitors or Complements? *Genetic Epidemiology*, 39(3), pp.149–155.
- Zheng, G., Freidlin, B. & Gastwirth, J.L., 2006. Robust Genomic Control for Association Studies. *The American Journal of Human Genetics*, 78(2), pp.350–356.
- Zhu, Y., Pandya, B.J. & Choi, H.K., 2011. Prevalence of gout and hyperuricemia in the US general population: The National Health and Nutrition Examination Survey 2007-2008. *Arthritis & Rheumatism*, 63(10), pp.3136–3141.
- Zuo, M. et al., 2000. The C677T mutation in the methylene tetrahydrofolate reductase gene increases serum uric acid in elderly men. *Journal of Human Genetics*, 45(4), pp.0257–0262.

## Anexos

**Anexo 1: Número de individuos ingresados y analizados en la etapa de asociación de genoma completo por grupo de estudio.**

	Muestras de niños normopeso	Muestras de niños con obesidad	Muestras de adultos normopeso	Muestras de adultos con obesidad
Total genotipado	583	556	501	692
Individuos duplicados	7	16	1	5
Número de individuos	576	540	500	687
Baja calidad de genotipificación	5	2	3	2
Sexo discordante	0	0	2	2
Datos mínimos incompletos*	18	11	12	92
Individuos analizados	553	527	483	591

\*se consideraron datos mínimos: edad, sexo, peso, talla y ácido úrico sérico

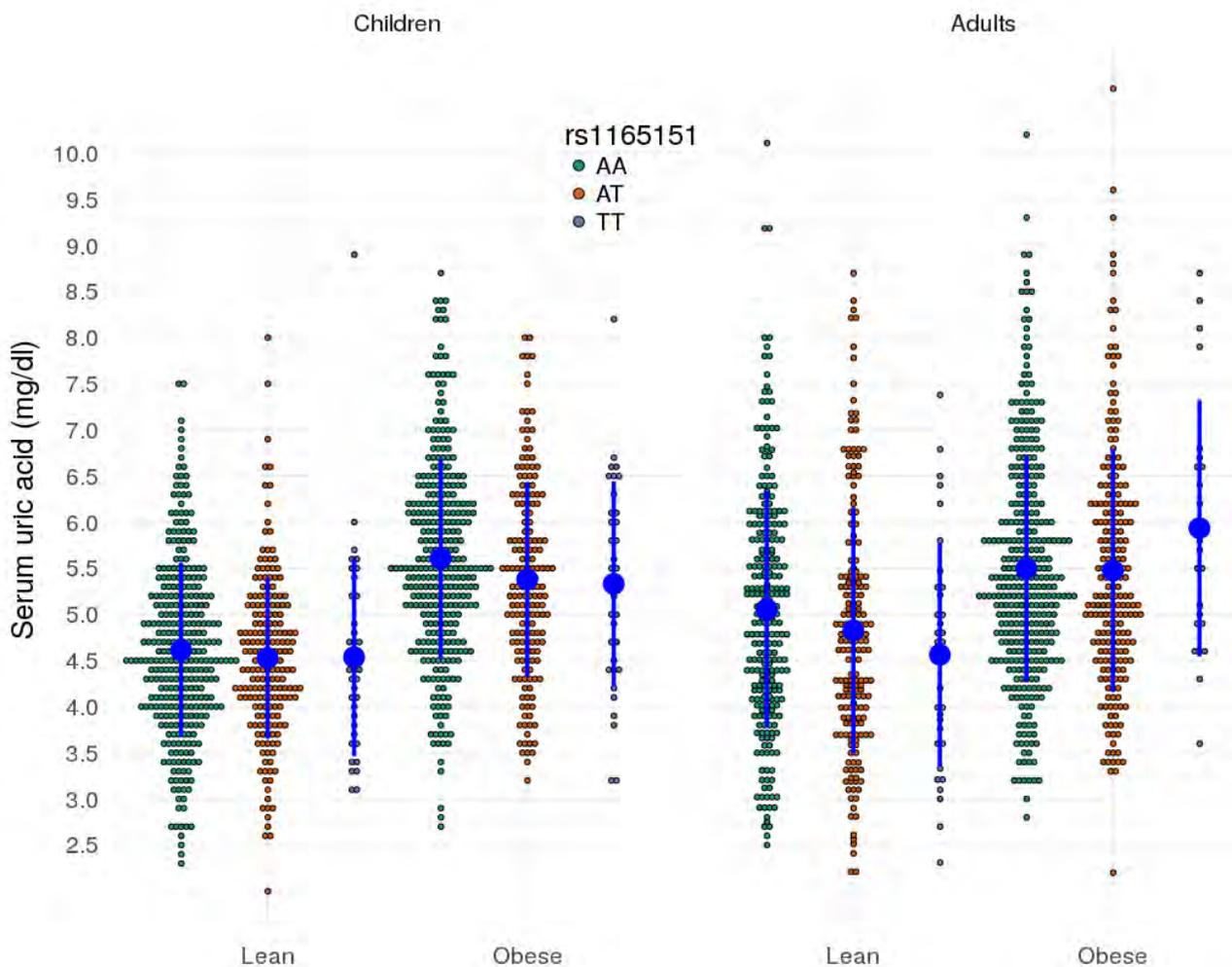


**Anexo 2: Gráfica cuantil-cuantil de los valores de p obtenidos en el metanálisis de asociación genómica para ácido contra los valores de p esperados.** El metanálisis incluyó los resultados de asociación genómica en niños normopeso, niños con obesidad, adultos normopeso y adultos con obesidad. La línea roja representa los valores de p esperados bajo la hipótesis nula de no asociación.

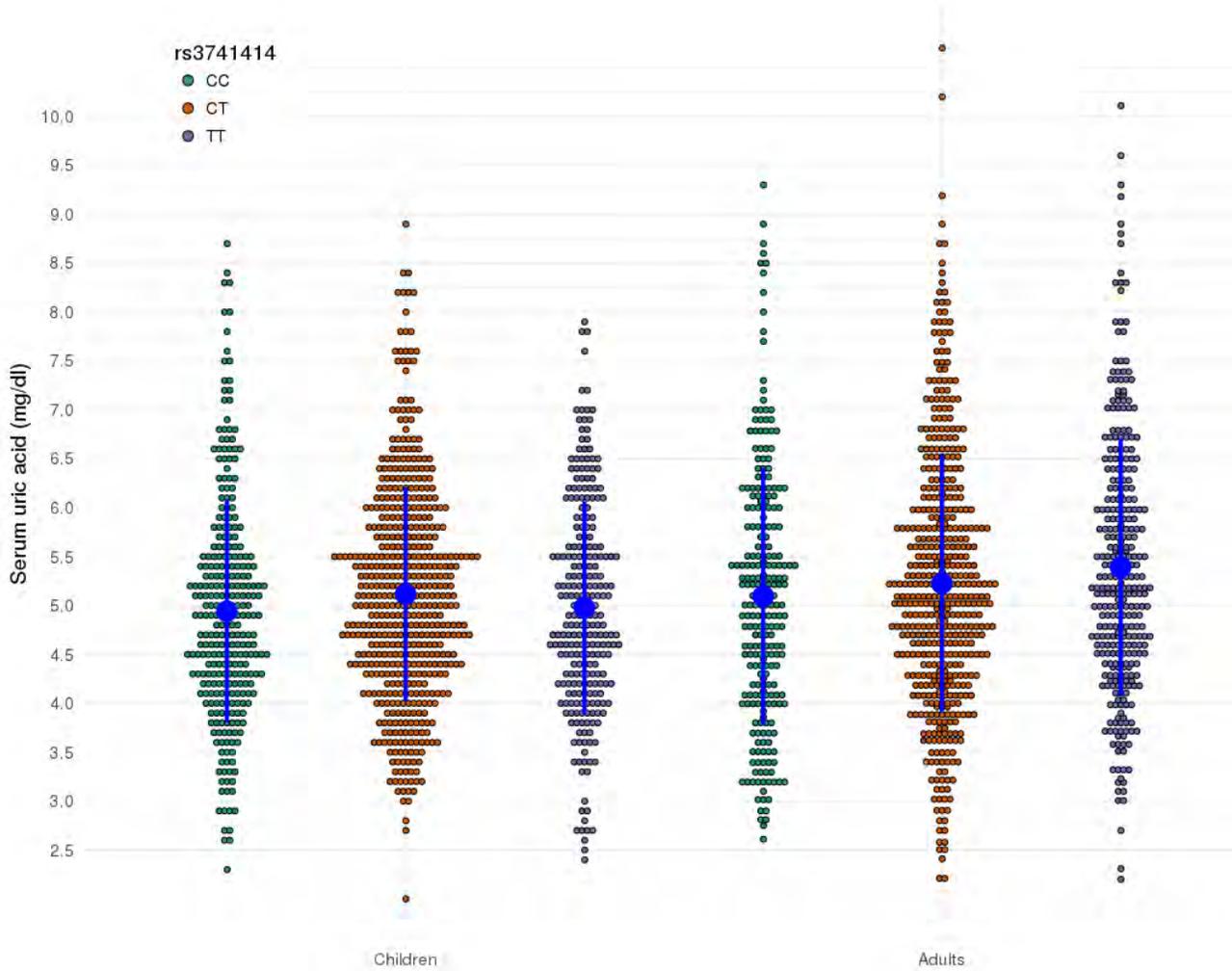
**Anexo 3: Número (%) de combinaciones del origen ancestral del par de homólogos en la región de SLC2A9.**

	NAT	CEU	YRI
NAT	977 (42.18)	465 (39.21)	64 (4.45)
CEU		281 (12.13)	22 (1.86)
YRI			4 (0.17)

La ancestría local se calculó con un método de bosques aleatorios en RFmix a partir de segmentos con la fase haplotípica inferida. Se descartaron aquellos individuos cuyas ventanas que abarcan el gen de interés no fueran todas del mismo origen ancestral en la región de interés. NAT = indígenas americanos CEU = europeo YRI = africano



**Anexo 4: Distribución de valores de ácido úrico sérico por genotipo de rs1165151 en SLC17A1 por grupo de edad y estado nutricional.** El efecto del genotipo fue significativo en niños con obesidad y adultos normopeso, con interacción genotipo\*grupo de edad\*estado nutricional.



Anexo 5: Distribución de valores de ácido úrico sérico por genotipo de rs3741414 en *INHBC* y grupo de edad. El genotipo del genotipo fue significativo únicamente en adultos con interacción genotipo\*grupo de edad.

**Anexo 6: Distribución de rasgos bioquímicos de acuerdo al genotipo de rs7678287 y rs2231142 en sujetos con enfermedad arterial coronaria y controles.**

	SLC2A9 rs7678287								ABCG2 rs2231142							
	Controles				Casos				Controles				Casos			
	GG n=660	GA n=315	AA n=88	p	GG n=426	GA n=204	AA n=66	p	CC n=616	CA n=386	AA n=69	p	CC n=394	CA n= 270	AA n= 34	p
Ácido úrico (mg/dl)	5.8 (4.9-6.8)	5.5 (4.5-6.6)	5.1 (4.1-6.3)	<b>4.84 x10<sup>-8</sup></b>	6.4 (5.5-7.4)	6.2 (5.3-7.2)	5.9 (5.1-6.8)	<b>0.0020</b>	5.7 (4.8-6.6)	5.8 (4.7-6.8)	6.1 (5.3-7.4)	<b>5.59 x 10<sup>-6</sup></b>	6.3 (5.5-7.2)	6.7 (5.8-7.5)	7.4 (6.6-8)	<b>0.0008</b>
Edad, años	53 (47-60)	53 (48-59)	54 (47.5-60)	0.4080	54 (49-58)	54 (49-59)	54.5 (49-58)	0.4330	53 (47-59)	52 (46-58)	52 (44-58)	0.207	52 (47-56)	54 (49-58)	54 (52-59)	0.1370
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	29.1 (26.9-31.9)	29 (27-31.6)	29.4 (26.9-31.6)	0.7250	28.5 (25.9-31.5)	27.8 (25.8-30.8)	28 (26.1-30.3)	0.3705	29.1 (27-31.8)	28.6 (26.7-31.4)	29 (27.4-31.1)	0.2904	28.1 (25.9-31.3)	27.9 (25.5-30.8)	28.5 (26.3-31.3)	0.5332
PA sistólica (mm/Hg)	116.5 (106-127)	115 (106-125)	117 (106-128)	0.9850	117 (109-128)	113.5 (105-125)	118.2 (105-128)	0.8810	115 (107-127)	114.5 (106-125)	114.5 (104-129)	0.8090	114 (105-124)	112.2 (105-124)	114.5 (108-137)	0.7700
PA diastólica (mm/Hg)	72.5 (67-79)	71.5 (66-77)	72.5 (67-79)	0.3859	72.5 (67-78)	70 (65-77)	70.5 (64-79)	0.1899	72.5 (67-79)	71.5 (66-78)	73.5 (67-78)	0.5843	71.5 (66-78)	71.5 (65-78)	70 (67-76)	0.6471
Glucosa (mg/dl)	91 (85-101)	92 (86-99)	92 (85-101)	0.6815	95 (86-118)	95 (87-116)	96 (85-121)	0.9797	90 (85-96)	90 (84-95)	88.5 (84-95)	0.3269	90 (84-96)	90 (83-97)	92 (87-97)	0.3453
HOMA	4.4 (3-6.4)	4.4 (3.2-6.2)	4.9 (3.2-6.8)	0.5400	5.2 (3.7-7.8)	4.9 (3.4-7.9)	4.8 (3.2-7)	0.4363	4.1 (3-5.7)	4.1 (3-5.5)	4.3 (2.8-5.5)	0.5140	4.4 (3.2-6.4)	4.1 (3-5.4)	4.9 (4.3-5.9)	<b>0.0408</b>
Colesterol total (mg/dl)	190.2 (167-210)	193.8 (166-219)	188.6 (167-215)	0.4410	161.6 (134-193)	159.8 (133-197)	162.9 (142-194)	0.4675	191.3 (170-211)	193.5 (169-216)	192.1 (165-215)	0.7940	159 (135-195)	168.5 (139-195)	157 (135-175)	0.8806
Colesterol LDL (mg/dl)	116.5 (97-137)	120.2 (99-141)	107.9 (91-136)	0.9430	93.3 (71-116)	88.9 (68-119)	93.2 (70-117)	0.3323	118 (99-138)	119.6 (98-139)	117.7 (99-135)	0.7692	93 (71-118)	98.7 (76-120)	84.6 (66-99)	0.9961
Colesterol HDL (mg/dl)	43 (36-51.3)	41.8 (35-51)	41 (34-51.7)	0.5680	37.7 (33-44)	36.7 (31-45)	38 (32-45)	0.5601	42.9 (35-51)	42.9 (36-54)	40.1 (34-50)	0.6180	37 (32-44)	38 (32-45)	35.1 (34-41)	0.5017
Triglicéridos (mg/dl)	154.4 (115-211)	160.9 (120-213)	167 (132-233)	<b>0.0437</b>	166.3 (118-223)	163.5 (121-225)	160.6 (129-204)	0.8014	155.2 (116-209)	157 (120-215)	163.2 (128-205)	0.8093	160.9 (116-213)	164 (118-211)	161.9 (141-230)	0.4821
TFGe (ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	93.8 (80-102)	93.1 (79-103)	90.2 (79.8-100)	0.4280	86.7 (75-98)	88.9 (77-100)	86.1 (76-101)	0.7980	92.6 (79-102)	93.2 (80-102)	96 (80-108)	0.7408	88.8 (79-100)	85.7 (75-100)	92.8 (73-101)	0.6350

Los valores son medianas (intervalo cuartilar). Los valores de p de las variables continuas son de regresión lineal con edad, sexo e IMC como covariables; excepto la edad, la tasa de filtración glomerular estimada y el IMC (edad y sexo).

