



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS  
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

Asociación entre el polimorfismo rs13266634 del gen  
*SLC30A8* (proteína transportadora de zinc ZnT8) y las  
concentraciones de zinc, insulina y glucosa en mujeres  
adultas de la zona de Santa Fe de la Ciudad de México  
*Estudio Piloto*

TESIS DE MAESTRÍA

Que para optar por el grado de  
**Maestra en Ciencias de la Salud**

Campo de estudios principal en  
**Epidemiología**

Presenta

**LNCA. Alma Berenice Erazo Tapia**

Tutor

**Dra. María Elizabeth Tejero Barrera**

PROGRAMA DE MAESTRIA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS ODONTOLÓGICAS Y  
DE LA SALUD

Ciudad Universitaria, CDMX

Octubre de 2019



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

## Índice temático

ABREVIATURAS.....	3
ÍNDICE DE CUADROS.....	4
ÍNDICE DE FIGURAS.....	4
RESUMEN.....	5
I. INTRODUCCIÓN.....	6
II. MARCO TEÓRICO.....	7
II.I Zinc.....	7
II.II Absorción, almacenamiento y excreción.....	8
II.III Transportadores de zinc.....	10
II.IV Homeostasis.....	11
II.V Deficiencia de zinc.....	12
II.VI Etapas en la deficiencia de zinc.....	14
II.VII Acción del zinc sobre el metabolismo de la insulina.....	15
II.VIII Zinc y metabolismo de los hidratos de carbono.....	16
II.IX Variantes alélicas del gen <i>SLC30A8</i> .....	17
II.X Meta análisis sobre las variantes alélicas del gen <i>SLC30A8</i> .....	22
II.XI Estudios en México sobre la variante rs13266634 del gen <i>SLC30A8</i> .....	23
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	25
III.I JUSTIFICACIÓN.....	26
IV. HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN.....	27
V. OBJETIVOS DE ESTUDIO.....	27
V.I Objetivo General.....	27
V.II Objetivos Específicos.....	27
VI. METODOLOGÍA.....	28
VI.I Diseño y población de estudio.....	28
VI.II Selección de la muestra de estudio.....	28
VI.III Criterios de selección.....	28
VI.III.1 Criterios de inclusión.....	28
VI.III.2 Criterios de exclusión.....	28
VI.IV Procedimiento.....	29
VII. MODELO CONCEPTUAL.....	30

VII.I	Operacionalización de las variables de estudio .....	32
VIII.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	35
IX.	CONSIDERACIONES ÉTICAS .....	36
X.	RESULTADOS.....	37
XI.	DISCUSIÓN .....	44
XII.	CONCLUSIÓN .....	47
XIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48
XIV.	ANEXO A .....	53
XV.	ANEXO B .....	54
XVI.	ANEXO C Determinación de glucosa.....	56
XVII.	ANEXO D Determinación de zinc .....	58
XVIII.	ANEXO E Determinación de insulina .....	59
XIX.	ANEXO F Extracción de ADN con el reactivo DNAzol .....	60
XX.	ANEXO G Genotipificación.....	61
XXI.	ANEXO H CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	62

## ABREVIATURAS

Zn	Zinc
MTF1	Factor de transcripción de respuesta a metales
SLC	Solute like carrier
ZIP	Zrt, Irt-like protein
GWAs	Estudios de asociación de todo el genoma
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
IMC	Índice de masa corporal
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido

## ÍNDICE DE CUADROS

**Cuadro 1.-** Fuentes dietéticas de zinc

**Cuadro 2.-** Familia de los genes humanos *SLC30A8*

**Cuadro 3.-** Resumen de investigación sobre el rs13266634

**Cuadro 4.-** Distribución de las frecuencias de genotipos y alelos del SNP rs13266634

## ÍNDICE DE FIGURAS

**Figura 1.-** Metabolismo del zinc

**Figura 2.-** Etapas de la deficiencia de zinc

**Figura 3.-** Vista genómica del gen *SLC30A8*

**Figura 4.-** Vista del polimorfismo rs13266634

**Figura 5.-** posible vía del transportador ZnT8

**Figura 6.-** Modelo conceptual de las variables de estudio

## RESUMEN

La variante rs13266634 en el gen *SLC30A8* codifica para una sustitución de un aminoácido (Arg > Trp) en la posición 118,184,783 del cromosoma 8 de un transportador de zinc que se expresa principalmente en el páncreas (ZnT8). Este polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) se ha asociado con el riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 en diversas poblaciones. El zinc es necesario para la producción, el almacenamiento y la liberación de insulina en las células beta del páncreas. La deficiencia de este nutrimento inorgánico se ha asociado con anomalías en el metabolismo de la glucosa. Las concentraciones bajas de zinc son frecuentes entre las mujeres mexicanas. No se han realizado estudios sobre el papel del estado de nutrición del zinc, la presencia de la variante de riesgo del polimorfismo rs13288834 y alteraciones en el metabolismo de la glucosa e insulina. El objetivo de este estudio fue evaluar la asociación entre la variante rs13266634 y la concentración de glucosa, insulina, e indicadores del estado de nutrición del zinc en una muestra de mujeres en edad reproductiva de la zona de Santa Fe de la Ciudad de México. Se realizó un estudio piloto transversal en una muestra de 43 mujeres no embarazadas, que aceptaron participar en el estudio. Las concentraciones de glucosa, insulina y zinc en plasma y eritrocitos se midieron usando técnicas de referencia. Se obtuvo DNA de sangre total. La variante rs13266634 fue genotipificada por discriminación alélica. Los genotipos se encontraron en el equilibrio de Hardy Weinberg. La única variable que mostró diferencia asociada con el genotipo es la concentración de zinc en glóbulos rojos. Las mujeres que tienen al menos una copia del alelo C fueron las que tuvieron menores concentraciones de zinc y las diferencias alcanzaron significancia tanto en el plasma, como en glóbulos rojos.

## I. INTRODUCCIÓN

El zinc es un nutrimento inorgánico que participa en numerosos procesos bioquímicos, por lo que su deficiencia tiene repercusiones graves para la salud.

La prevalencia de la deficiencia de zinc en el mundo es aproximadamente de 20% y probablemente sea más alta en países menos desarrollados.

Las mujeres en edad reproductiva tienen mayor riesgo a presentar deficiencia plasmática de zinc. En la Ciudad de México, el 44% de las mujeres presentó deficiencia severa, aunado a que las mujeres son más propensas que los hombres a desarrollar alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono, 10.3% vs 8.4%, de acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016.

La variante alélica rs1326634 del gen *SLC30A8* se asocia con una disminución en la secreción de la insulina provocando un aumento en las concentraciones de glucosa. La variante de riesgo es más frecuente en la población mexicana (75%) que en países europeos (71.7%) o asiáticos (54.3%). El presente trabajo es un estudio piloto para evaluar si existe una relación entre la frecuencia de la variante rs1326634 del gen *SLC30A8* y la concentración de zinc, insulina y glucosa en población mexicana.



## II. MARCO TEÓRICO

### II.I Zinc

El zinc (Zn) es un nutrimento indispensable presente en todos los tejidos vegetales y animales. (1) El cuerpo humano contiene de dos a cuatro gramos de este nutrimento (2); el 85% se encuentra en el músculo y el hueso. El zinc tiene funciones catalíticas y estructurales y de regulación (3) en el metabolismo de los aminoácidos, en la síntesis de ácidos nucleicos, en la formación de cerca de trescientas metaloenzimas y específicamente participa en el metabolismo de los hidratos de carbono; tiene un papel en la síntesis, almacén, secreción y acción de la insulina (4, 5). Además, como se ha observado en estudios experimentales (6), el zinc tiene una actividad biológica semejante a la insulina en la lipogénesis, en el transporte de la glucosa y en la producción de leptina en humanos (7). El Zn es un nutrimento fundamental en el crecimiento, en el sistema inmune, en el reproductivo y además, promueve la reproducción celular y la reparación de tejidos (1, 8, 9).

En el **cuadro 1** se muestran algunos ejemplos de las principales fuentes dietéticas de zinc, que son, por ejemplo: los cereales integrales, el germen de trigo, la levaduras, los ostiones, las oleaginosas y los tejidos animales (vísceras, clara del huevo), que tienen una mejor biodisponibilidad vs los alimentos vegetales (10).

### Cuadro 1. Fuentes dietéticas de zinc

A continuación algunos ejemplos de alimentos ordenados de mayor a menor contenido de zinc.

ALIMENTO	Contenido de zinc en mg por 100g de alimento crudo
Ajonjolí	7.75
Ostiones sin concha	74.7
Hígado de cerdo	5.76
Hígado de res	4.3
Calamares	4
Lentejas	3.61
Yema de huevo	3.38
Nuez de castilla	3.2
Habas	3.14
Hígado de pollo	3.07
Sardinas en aceite	3
Cacahuete	2.9
Frijol	2.79
Harina de maíz nixtamalizada	2.5
Carne de res	2.46
Carne de pollo	1.21

*Fuente: Tablas de composición de alimentos y productos alimenticios mexicanos 2015 (11)*

### II.II Absorción, almacenamiento y excreción

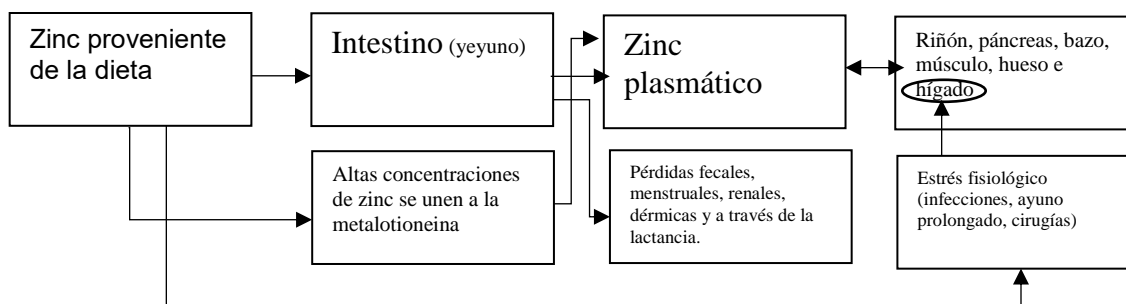
El principal sitio de absorción de zinc proveniente de la dieta es el intestino delgado, especialmente el yeyuno. El proceso digestivo comienza cuando el pH gástrico se eleva y libera el Zn de los alimentos, el cual se une a compuestos orgánicos tales como aminoácidos, fosfatos y otros ácidos orgánicos. El Zn se libera de los enterocitos, atraviesa la membrana basolateral y es transportado a la circulación portal (12).

El zinc que se absorbe depende de la cantidad ingerida y del requerimiento individual del organismo, pero también de la presencia de alimentos que promuevan su absorción como son, por ejemplo, la leche. Por el contrario, la biodisponibilidad de este nutrimento se ve afectada por la presencia de inhibidores de su absorción como es el ácido fítico, un compuesto presente en los cereales (13, 14). La excreción endógena del zinc al igual que la absorción, responden al consumo, a la cantidad absorbida y a las necesidades fisiológicas: como las renales, las dérmicas y las pérdidas fecales (15, 16).

Por otro lado, dado que los metales divalentes como el hierro, cobre, zinc, cadmio y magnesio comparten el mismo factor de transcripción de respuesta a metales en el intestino –MTF1, por sus siglas en inglés- la ingestión excesiva de uno de estos elementos puede limitar la absorción de los otros y en el caso del zinc, conduce a un aumento en la excreción intestinal (17). Los genes transportadores de Zn que responden de manera similar complementan esta adaptación metabólica; sin embargo, esta respuesta puede modificarse por el polimorfismo del gen transportador al no permitir la acumulación de Zn.

Cabe señalar que el organismo no cuenta con una reserva específica de zinc, por lo que un consumo adecuado y el mantenimiento de la homeostasis son indispensables para el correcto funcionamiento del organismo. El ayuno prolongado, el estrés y las infecciones pueden producir cambios en las concentraciones plasmáticas de zinc; además de las pérdidas de zinc a través de la menstruación, el semen, el sudor, la descamación de células epiteliales y durante el crecimiento del cabello y las uñas (18). La **Figura 1** esquematiza el metabolismo del zinc.

**Figura 1. Metabolismo del zinc**



Fuente: adaptado de Shils M. (19)

### II.III Transportadores de zinc

La homeostasis del zinc está regulada por tres familias de proteínas. La primera familia se identifica como SLC (*solute like carrier*, por sus siglas en inglés), también llamada familia transportadora de zinc (ZnT), la segunda familia de transportadores son los ZIP (*Zrt, Irt-like protein* por sus siglas en inglés) (20) y la tercera son las metalotioneinas (MTs) (21, 22, 23). Los transportadores se encuentran localizados en las membranas plasmáticas de las células, específicamente los ZnT están localizados en las membranas de los gránulos secretores de insulina (ISG) (24).

Los ZIP son responsables de transportar el zinc del citoplasma a los espacios extracelulares y a las vesículas intracelulares, mientras que los ZnT regulan el flujo de zinc. (25). Los transportadores responden a la concentración de zinc proveniente de la dieta actuando de la siguiente manera; en estado de deficiencia aumenta el transporte intestinal de zinc y su absorción, por el contrario, esta acción disminuye durante una concentración adecuada de este mineral. (26). Algunos estudios sugieren que este último mecanismo se debe a la producción de metalotioneina (proteína de bajo peso molecular), que se produce cuando hay elevadas concentraciones de zinc, uniéndose a él y evitando su absorción por las células intestinales. (25, 27)

En el 2004, el gen *SLC30A8* que codifica a la proteína transportadora de zinc ZnT8, la cual se expresa en el páncreas, principalmente en las células beta de los islotes de Langerhans y, que además su función depende de factores como la edad, el sexo y la dieta, mostró que facilitaba la acumulación de zinc desde el citoplasma hasta las vesículas intracelulares que contienen insulina (28-31), lo que sugiere dos cosas: su participación en el metabolismo de los hidratos de carbono y que la expresión del gen *SLC30A8* está regulada por el estado de nutrición del zinc (32). El **cuadro 2** muestra las características generales del gen como son la localización cromosómica, el número de exones y el número de acceso para su identificación en la base de datos Gene Bank (33) que corresponde a la familia del gen *SLC30*.

**Cuadro 2.** Familia de los genes humanos *SLC30*

Nombre del gen	Localización cromosómica	Número de exones	Número de acceso en el Banco de Genes	Autor y año
<i>SLC30A1</i>	1q32.3	2	AF323590	Nanji, et al, 2000
<i>SLC30A2</i>	1 p36.11	7	NM_032513	Itsumura N, et al, 2016
<i>SLC30A3</i>	2 p23.3	8	NM_003459	Pérez C, et al, 2016
<i>SLC30A4</i>	a	a	AF025409	Huang L, et al, 1997
<i>SLC30A5</i>	a	a	AY089991	Devergnas S, et al, 2004
<i>SLC30A6</i>	2 p22.3	14	NM_017964	Adelino JE, et al, 2017
<i>SLC30A7</i>	a	a	AY094606	Devergnas S, et al, 2004
<i>SLC30A8</i>	8 q24.11	11	NM_001172815	Seve M, et al, 2004
<i>SLC30A9</i>	4 p13	18	NM_006345	Pérez Y, et al, 2017
<i>SLC30A10</i>	b	b	BK004163	b

Fuente: GeneBank

<sup>a</sup> = información no disponible

<sup>b</sup> = información removida por no tener pruebas experimentales que apoyen lo publicado

## II.IV Homeostasis

El cuerpo tiene una importante capacidad homeostática para aumentar la eficiencia de la absorción y limitar las pérdidas en el organismo en respuesta a las diferentes concentraciones en la dieta. El principal sitio de regulación es el tracto gastrointestinal, específicamente el intestino delgado, el hígado y el páncreas donde ocurren cambios en la absorción y excreción fecal endógena de zinc; éste último actúa como el principal mecanismo para la homeostasis. Sin embargo, se ha demostrado una acción sinérgica entre la absorción y la excreción (34). En la excreción urinaria también ocurren cambios, pero son

menores en comparación con el ajuste que se lleva a cabo en el tracto gastrointestinal. La homeostasis renal se activa solamente cuando la ingestión de zinc es extremadamente baja y tiene un efecto mínimo en la conservación de este mineral, ya que la cantidad de zinc que se pierde a través de la orina es menor que la excretada en las heces, aproximadamente es de 0.5mg por día, pero en circunstancias de agotamiento las pérdidas urinarias son aún menores (35, 36, 37).

A pesar de lo anterior, existen límites en la adaptación, como es en un estado de deficiencia marginal de zinc, en donde el organismo no puede mantener la homeostasis y reemplazar las pérdidas endógenas presentándose entonces un balance negativo (9, 37).

#### **II.V Deficiencia de zinc**

De acuerdo con organismos como la Organización Mundial de Salud (OMS), el Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia (UNICEF) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), las deficiencias de vitaminas y nutrimentos inorgánicos constituyen un problema grave de salud mundial, particularmente las deficiencias de vitamina A, yodo, hierro y zinc (38, 39, 40). En el caso particular del zinc, se estima que la prevalencia de su deficiencia alrededor del mundo es del 20% y probablemente sea más alta en países menos desarrollados (41).

Las personas vulnerables a presentar deficiencia de zinc son las mujeres y los niños (14, 42, 43). La deficiencia se atribuye principalmente a una dieta baja en zinc y a la presencia de inhibidores de su absorción, como es el ácido fítico presente en los cereales (44, 45). En el caso particular de la población mexicana, existen pocos estudios que describan el consumo de zinc, aunque se ha documentado que en general la ingestión de este nutrimento se encuentra por debajo de las recomendaciones por grupo etario y condición fisiológica (11mg/d) (46). Sin embargo, quienes tienen problemas de mala absorción intestinal, por ejemplo: esprúe tropical, enfermedad de Crohn o síndrome de intestino corto, tienen mayor riesgo de deficiencia clínica, así como los individuos con acrodermatitis

enterohepática –asociada con la mutación del gen Zip4- que conduce a una mala absorción y por consiguiente, deficiencia (47).

En cuanto a las mediciones plasmáticas, de acuerdo con la Encuesta Nacional de Nutrición de 1999, el 29.7% de las mujeres en edad reproductiva tienen deficiencia de este nutrimento (48, 49). En el caso del Distrito Federal se observó que la deficiencia severa (70ug/dL o menor) de Zn plasmático en mujeres en edad reproductiva fue del 44%, en tanto que la moderada (85ug/dL) alcanza hasta 88%. Esta última deficiencia fue significativamente más frecuente en mujeres con intolerancia a la glucosa (50), lo que sugiere que la prevalencia de deficiencia está subestimada.

El Zn tiene una participación importante en muchos procesos bioquímicos por lo que su deficiencia tiene diversas repercusiones en la salud. La deficiencia de este nutrimento se asocia con resistencia a la insulina, hiperzincuria y bajas concentraciones de Zn en plasma; (8) asimismo, se asocia con una mayor morbilidad y mortalidad causada por enfermedades infecciosas (51). Destacan también los efectos biológicos y clínicos graves que pueden ocurrir por la deficiencia, tales como alteraciones en el estado de hipercatabolismo y que, entre otros signos, se manifiesta de la siguiente forma (52, 53):

- Pérdida de peso, que cuando es crónica puede frenar el crecimiento en los niños y púberes
- Infecciones intercurrentes
- Hipogonadismo en los varones
- Hipogeusia
- Mala cicatrización y
- Deterioro de la respuesta inmunológica

Además, durante la gestación, la deficiencia de Zn puede tener efectos adversos como mayor riesgo de embarazo pretérmino, malformaciones congénitas, hipertensión, abortos espontáneos, hemorragia y retardo en el crecimiento intrauterino (54).

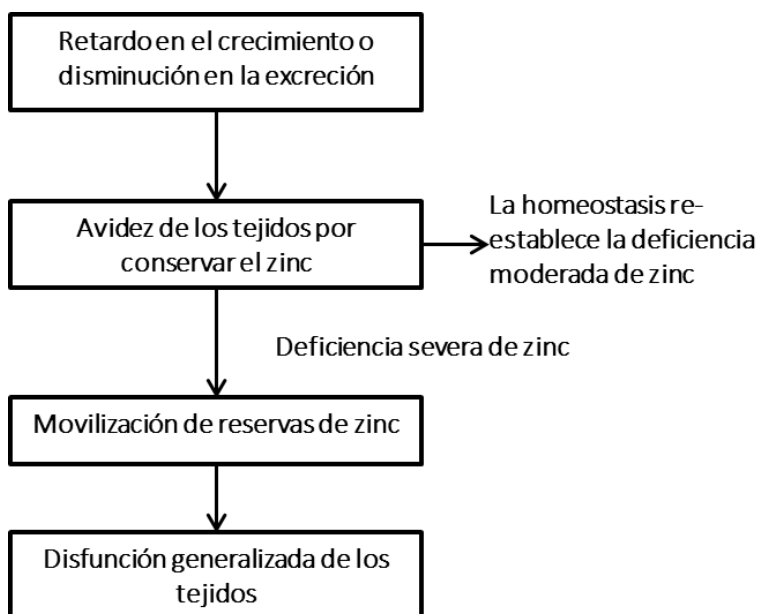
Asimismo, varios ensayos clínicos se ha encontrado que la deficiencia de es un factor de riesgo que se asocia con intolerancia a la glucosa y diabetes mellitus tipo 2; (55) por lo

tanto, las anomalías en el metabolismo de Zn podrían tener un papel en la patogénesis de la diabetes y sus complicaciones.

## II.VI Etapas en la deficiencia de zinc

King propuso los cambios progresivos en la deficiencia de zinc con base en la respuesta metabólica y homeostática. La **Figura 2** muestra este modelo:

**Figura 2.** Etapas de la deficiencia de zinc moderada y severa



*Fuente: King JC (37)*



## II.VII Acción del zinc sobre el metabolismo de la insulina

La insulina se almacena en las células beta del páncreas como un complejo de zinc e insulina que se encuentra dentro de las vesículas secretoras como un hexámero sólido de insulina unido con dos iones de Zn (24). El Zn es un componente estructural para la síntesis, almacenamiento y secreción de la insulina, hormona que interviene en el transporte de la glucosa (56), por lo que, la unión del Zn a la insulina es necesaria para la cristalización y posterior secreción de esta hormona. Las concentraciones bajas de zinc pueden alterar el metabolismo de la insulina y favorecer el estrés oxidativo aumentando la susceptibilidad para diabetes mellitus. (57). En los receptores, los iones de Zn actúan principalmente sobre la proteína tirosina fosfatasa IB (PTF-1B), un regulador clave en la fosforilación del receptor de esta hormona. Asimismo, algunos autores han descrito –aunque no de manera contundente- que este nutrimento estimula la actividad del receptor de la insulina tirosina cinasa (IRTK), lo que incrementa la sensibilidad de los tejidos a esta hormona (58).

Yang y colaboradores (5) en población coreana estudiaron la asociación de las concentraciones en el suero y la resistencia a la insulina y se observó que su asociación fue inversa. Los autores concluyeron que las concentraciones de zinc están asociadas con la edad, al peso y las concentraciones de glucosa. También concluyeron que la relación conocida entre las concentraciones de zinc en el suero y la sensibilidad a la insulina podría no ser aplicable a toda la población.

En el estudio de Gómez y cols. (59), en personas entre 18 y 31 años con obesidad observaron una baja concentración de Zn, hallazgo similar al documentado por Chen en modelos de ratones con obesidad inducida de forma genética y con dieta (60). Gómez y cols. administraron a personas con obesidad sulfato de Zn durante un mes y mostraron un incremento en las concentraciones de leptina en los participantes, sin modificar la sensibilidad a la insulina, ni a los andrógenos.

En un análisis realizado con datos del *The Nurses' Health Study*, uno de los estudios más grandes de factores de riesgo para enfermedades crónicas en mujeres en el mundo, Sun y cols. tras veinticuatro años de seguimiento concluyeron que las mujeres entre 33 a 60 años

el quintil más alto de consumo de zinc tuvieron una disminución de aproximadamente el 20% en el riesgo de DM2 en comparación con el quintil de consumo de zinc más bajo (61).

Por otro lado, aún no es claro si los suplementos de Zn tienen un efecto preventivo sobre la enfermedad en adultos con resistencia a la insulina. En un estudio realizado en población Amish de Lancaster de Estados Unidos de América se observó que la suplementación durante 14 días con 50mg/d de zinc elemental tuvo una respuesta insulínica diferente dependiendo del genotipo rs13266634, o sea de la variación estructural del gen *SLC30A8*; es importante mencionar que los que mejor respondieron a la suplementación fueron aquellos que al menos tuvieron una copia del alelo T (62).

Además, se ha observado que el transportador de zinc ZnT8 tiene un efecto directo en mantener la homeostasis de la insulina periférica. (35) También, Chimienti y col. (24) concluyeron que la regulación de la secreción de insulina en humanos ocurre a través del transportador ZnT8, que es específico de las células beta del páncreas.

## **II.VIII Zinc y metabolismo de los hidratos de carbono**

Se ha establecido mediante múltiples estudios que existe relación entre las alteraciones en la homeostasis del zinc y el metabolismo de los hidratos de carbono; sin embargo, aún no está clara una posible relación causa y efecto (63).

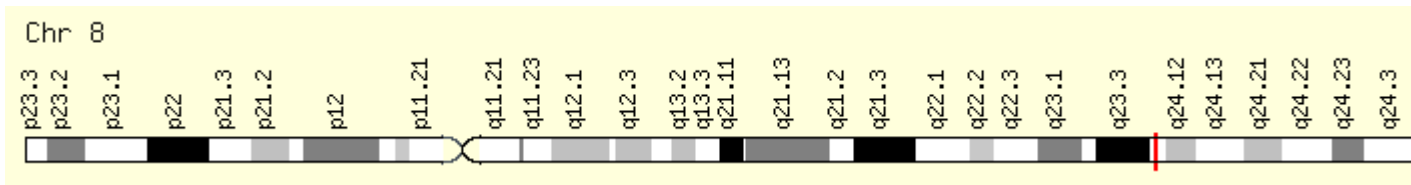
Diversos estudios epidemiológicos han informado una disminución en las concentraciones en suero de zinc aunado a un incremento en las pérdidas urinarias en pacientes con diabetes tipo 1 y tipo 2 en comparación con sujetos sanos (5, 21), mientras que el estudio realizado por Sun y colaboradores muestra una relación inversa entre las concentraciones de zinc y el riesgo de diabetes tipo 2 (61).

## II.IX Variantes alélicas del gen *SLC30A8*

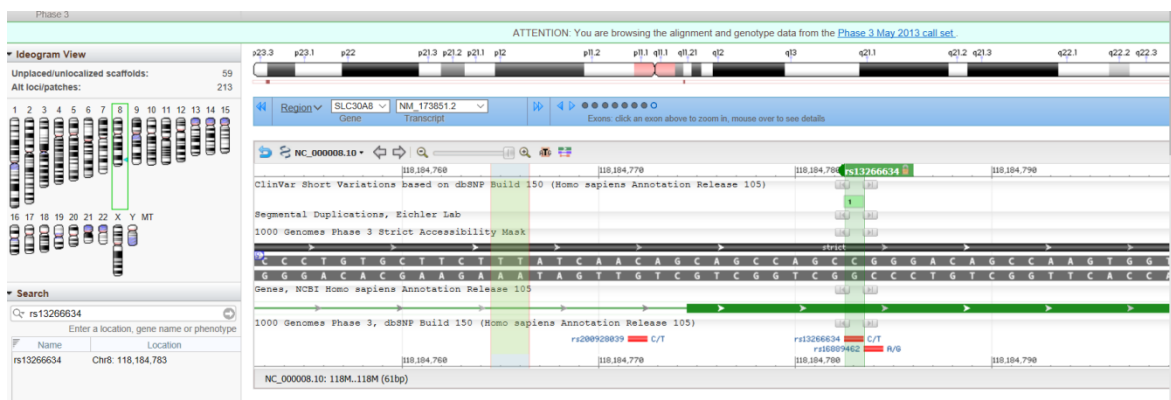
En los estudios de asociación de todo el genoma (en inglés Genome Wide Association Study) se identificó por primera vez en 2007 el polimorfismo rs13266634 del gen *SLC30A8*, que consiste en la sustitución de una timina por una citosina (C/T) que origina el cambio de una arginina por un triptófano en la posición 325 de la cadena de los aminoácidos (Arg325Trp o C325T) (64). Esta variante mostró asociación con la diabetes tipo 2.

El polimorfismo rs13266634 está ubicado en gen *SLC30A8* (ver **Figura 3**) en la posición 118,184,783 del el cromosoma 8 (ver **Figura 4**). De acuerdo con la información proporcionada por el *National Center for Biotechnology Information (NCBI)* este SNP es una molécula de tipo genómico que ha sido validada por múltiples estudios.

**Figura 3.** Vista de un fragmento de la secuencia del gen *SLC30A8*



**Figura 4.** Vista del polimorfismo rs13266634 del gen *SLC30A8*



Fuente: NCBI 2019 (65)

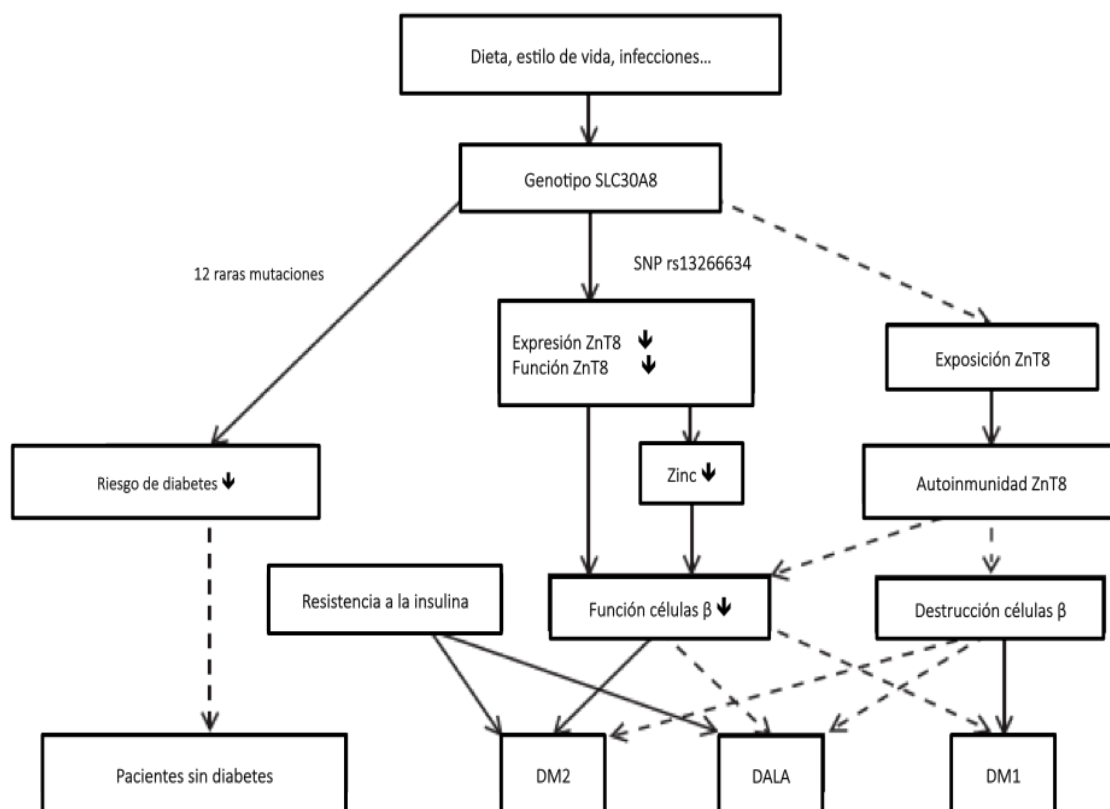
La variante alélica C de este gen se asocia principalmente con riesgo de diabetes tipo 2 y con menor eficiencia en transportar zinc en las células beta del páncreas. La frecuencia del alelo C es del 92.5%, 76.3%, 75.7% y 54.3% en nigerianos, en británicos en Inglaterra, con ascendencia mexicana en Los Ángeles California y en los Chinos Han de Beijing (66). Los estudios hechos en humanos sugieren que los portadores del alelo C tienen alteraciones en las etapas tempranas de secreción de insulina estimulada por glucosa (GSIS por sus siglas en inglés) y en la secreción de insulina (67). Las bajas concentraciones de insulina en el plasma probablemente se deben a que hay un aumento en la eliminación hepática como resultado de la disminución en la concentración en los gránulos secretores de ésta hormona o a una disminución en la acción de la insulina en los tejidos blanco. En este sentido, el estudio EUGENE2 (68) también mostró que los portadores del alelo C de riesgo tuvieron concentraciones más bajas de insulina periférica en la etapa temprana de la prueba de tolerancia a la glucosa, lo que sugiere que el gen *SLC30A8* podría regular la homeostasis de la insulina.

En otro estudio realizado en ratones knock-out (KO) para ZnT8 (69), se demostró que el Zn se secreta en conjunto con la insulina de forma dependiente de este transportador y que tiene además, una función de interruptor endógeno para determinar la velocidad de eliminación de la insulina en el hígado, dependiendo del estado pre o postprandial. En este mismo estudio demostraron que los participantes con el alelo C de riesgo tuvieron mayor depuración de la insulina medida por la proporción de insulina y péptido C.

También este polimorfismo puede afectar la concentración de Zn en los gránulos de insulina de las células beta del páncreas de la siguiente forma; la variante C325 reduce la actividad del transportador de zinc en comparación con la variante T325 ZnT8 en las células beta del páncreas, que es donde se encuentra principalmente. (22).

En diversos estudios se ha encontrado que el polimorfismo rs13266634 del gen *SLC30A8* se asocia con una disminución en la secreción de insulina (70, 71). El estudio de asociación genómica realizado por Sladek y colaboradores (64) reportó al alelo C del polimorfismo mencionado como la variante de riesgo para diabetes tipo 2 (DM2) (OR 1.18 – 1.53), mientras que en un meta análisis se demostró que el polimorfismo rs13266634 está

relacionado con mayor probabilidad de intolerancia a la glucosa (OR 1.15; IC 95% 1.06 – 1.26; P < 0.001) (72). Esta variante se ha asociado con disminución en la función de las células beta del páncreas, principalmente debido a que el SNP del alelo C altera la expresión y actividad de la proteína transportadora ZnT8, ocasionando una disminución en las concentraciones de Zn en plasma. (ver **Figura 5**)



**Figura 5.** Posible vía del transportador ZnT8 en la diabetes

*Fuente: Adaptado de: Yi B, 2016 (73)*

Esta relación entre el polimorfismo rs13266634 y la diabetes tipo 2 ha sido documentada por varios autores señalando que el riesgo de que se desarrolle la enfermedad es más alto. (74). Boesgard y cols. identificaron que las personas sin diabetes homocigotas portadoras del alelo de riesgo del SNP rs13266634 tenían una respuesta de producción de la insulina seguida del consumo de una carga oral de glucosa 19% más baja que los individuos heterocigotos (68). También se ha propuesto que las variaciones en el gen *SLC30A8* pueden afectar la acumulación de Zn en los gránulos de insulina y por lo tanto influir en la estabilidad y el tráfico de esta hormona (75).

EL **cuadro 3** muestra el resumen de varias investigaciones que han documentado la relación entre la diabetes tipo 2, el estado de nutrición en zinc, la glucosa e insulina y el polimorfismo rs13266634.

**Cuadro 3.** Estudios de asociación entre el rs13266634 del gen *SLC30A8* y diabetes tipo 2.

Población	Tipo de estudio	N	OR	IC 95%	Conclusiones	Autor y año
Europea	Casos y controles	5,440	1.27	1.16-1.38	El SNP del gen explica el riesgo de desarrollar DM2	Sladek R, 2007
Británica	Casos y controles	4,416	1.12	1.02-1.23	Se confirmó la susceptibilidad a desarrollar DM2.	Zeggini E, 2007
Europea: <sup>1</sup> Daneses Finlandeses Alemanes Italianos Suecos	Descriptivo: Frecuencia del alelo de riesgo	846	(%) 67 80.3 66.2 56.5 71.3	60.5-73.5 75.0-86.5 62.3-70.3 51.8-61.1 66.0-76.3	Los homocigotos con el alelo de riesgo tuvieron 19% menor liberación de insulina.	Boesgaard TW, 2008
Noruega	Casos y controles	3,496	1.20	1.09-1.33	El SNP del gen está asociado con DM2.	Hertel JK, 2008
China	Casos y controles	1,617	1.25	1.09-1.43	El SNP del gen puede influir en la secreción de	Xiang J, 2008

Población	Tipo de estudio	N	OR	IC 95%	Conclusiones	Autor y año
					insulina.	
Rusa caucásica	Casos y controles	1,185	1.22	1.01-1.49	El SNP modula el riesgo de desarrollar DM2, a través de la función de las células beta.	Potapov VA, 2009
China (Han)	Casos y controles	2,968	1.37	1.20-1.56	El SNP se asoció con DM2.	Lin Y, 2010
Mexicanos Mestizos	Casos y controles	1,372	1.21	1.01-1.46	Se encontró asociación del SNP en sujetos con información de marcadores de ascendencia	Gamboa-Meléndez, 2012
Estados Unidos (Amish)	Ensayo clínico no aleatorizado	57	ND	ND	La suplementación mejoró la respuesta de insulina en aquellos genotipos que tienen al menos una copia del alelo W.	Maruthur NM, 2014
China (Han)	Casos y controles	1,796	1.53	0.85-0.90	Observaron una fuerte interacción entre el SNP y la concentración de Zn en plasma en relación con la DM2 e IGR	Shan, 2014
Mayas	Estudio de asociación	575	0.922	0.340 – 2.50	Se evaluó la asociación de diversos SNPs y la susceptibilidad de desarrollar DM2 y una posible asociación vía metabolismo de lípidos del rs13266634	Lara-Riegos JC, 2015

## **II.X Meta análisis sobre las variantes alélicas del gen SLC30A8**

El grupo de Xu realizó un meta análisis en el 2010 y concluyó que existe asociación entre el polimorfismo del gen rs1326664 y el riesgo de diabetes tipo 2 en población asiática y europea pero no en la africana. Asimismo, concluyeron que este polimorfismo se asocia con la intolerancia a la glucosa, pero no con la diabetes tipo 1. (29)

En el año 2014 el grupo de Chang (76), replicó el análisis de 24 variantes genéticas de riesgo que se han identificado en población europea, pero no se han replicado completamente en población china. El análisis de la interacción del gen y el ambiente mostró una interacción significativa entre el rs13266634, la edad y el riesgo de DM2. En conclusión, el tamaño del efecto para las variantes de riesgo en población china es similar a la observada en la europea, pero la frecuencia de los alelos difiere entre las dos poblaciones.

En otro meta análisis Cheng y cols. (77) en 2015 encontraron que el polimorfismo rs13266634 es un factor genético importante para el desarrollo de diabetes tipo 2 en población asiática y europea en contraste con la población africana, en la cual no representa un riesgo, confirmando los hallazgos previos de Xu y cols. Este trabajo mostró genotipos analizados en diferentes modelos genéticos; los individuos con genotipos CC tuvieron 33% y 16.5% (asiáticos y europeos respectivamente) mayor riesgo de diabetes que aquellos con genotipos TT y CT. En un meta análisis posterior se concluyó que esta variante es un factor genético de riesgo para diabetes tipo 2 en población asiática, europea y también africana, en esta última población se estratificó por etnias en un modelo aditivo. (78)

En el 2018 se llevó a cabo un meta análisis que incluyó estudios en población china desde el 2005 hasta el 2018, para evaluar la asociación entre el rs13266634, DM2 e IGR. El resultado fue que las personas que tienen al menos un alelo C tienen 1.23 veces mayor riesgo de tener diabetes mellitus tipo 2 que los que tienen una copia del alelo T (79). A pesar de ser una variante con una asociación muy replicada con la DM2 en diferentes poblaciones, existen muy pocos estudios en América Latina.



## II.XI Estudios en México sobre la variante rs13266634 del gen SLC30A8

En un estudio de cohorte (n=259), realizado por la Escuela de Medicina de la Universidad de Yucatán en Mérida, se midieron los fenotipos que incluían medidas antropométricas, factores endócrinos de tejido adiposo (leptina, adiponectina), insulina, glucosa y presión arterial. En población yucateca la frecuencia del alelo de menor riesgo fue de 26.1% (80).

Aunque en México la prevalencia de DM2 es de las más altas en el mundo (81), existen muy pocos estudios en población sobre la asociación de esta enfermedad con variantes de riesgo del gen *SLC30A8*. Gamboa y colaboradores (82) en su estudio de casos y controles en población mestiza mexicana encontraron un valor p significativo del rs13266634 del gen *SLC30A8* solo en individuos con marcadores de información de ancestría. El grupo de Gamboa concluyó que la falta de asociación informada para esta variante puede deberse al tamaño insuficiente de muestra (n=1,027), a que no se excluyeron individuos con antecedentes familiares de DM2 y tampoco a personas con obesidad.

La frecuencia de la variante de riesgo de este polimorfismo en población maya es de aproximadamente 75% (80). Esta frecuencia es mayor que la observada en población africana, europea y asiática. (66)

En contraste con lo publicado por Kulkarni y cols, en un estudio realizado en población latinoamericana de San Antonio, Texas, no pudieron establecer una asociación entre la variante antes mencionada y la DM2. (83)

A continuación, con propósitos informativos se muestran en el **cuadro 4** las frecuencias de los genotipos y los alelos en diferentes poblaciones.

**Cuadro 4.** Frecuencias de los alelos y genotipos de la variante rs13266634

Población	Alelos		Genotipos		
	C	T	C/C	C/T	T/T
Europea	0.717	0.283	0.521	0.392	0.087
Asiática	0.543	0.457	0.30	0.486	0.214
Africana	0.926	0.074	0.856	0.139	0.005
Mexicana	0.754	0.245	0.594	0.328	0.078

*Fuente: 1000 Genomes Project Phase 3 (84)*

### III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

De acuerdo con la OMS las deficiencias de nutrimentos inorgánicos -como es el zinc- constituyen el mayor problema de salud mundial. En nuestro país se ha informado que las mujeres en edad reproductiva son potencialmente vulnerables a presentar deficiencia de zinc, aunado a un consumo insuficiente y a la presencia considerable de inhibidores de su absorción, lo que se traduce en una deficiencia plasmática que afecta entre el 30 y 40% de las mujeres entre 12 y 49 años.

El zinc tiene una participación importante en muchos procesos bioquímicos. La deficiencia se asocia con alteraciones en la insulina y en la glucosa. Se ha demostrado que las personas con alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono están en mayor riesgo de desarrollar diabetes tipo 2.

La variante alélica rs13266634 del gen *SLC30A8* se asocia con una disminución en la secreción de la insulina con base en los resultados de un meta análisis, provocando un aumento en las concentraciones de glucosa (72). De acuerdo a la información del proyecto de 1000 Genomas (84), la variante de riesgo es más frecuente en población mexicana (75%) que en europeos (71%) o asiáticos (54%).

Existen muchos estudios sobre polimorfismos en poblaciones europeas y asiáticas. Sin embargo, es importante mencionar que hay muy pocas investigaciones en México que evalúen la presencia del SNP rs13266634 y el riesgo de DM2. Hay datos de asociación en población maya (que tiene una variabilidad genética diferente al resto de la población mexicana) sobre esta variante alélica con concentraciones plasmáticas de glucosa e insulina, pero no se ha establecido si la variante rs13266634 se asocia con las concentraciones de zinc.

¿Existe asociación entre la variante rs13266634 del gen *SLC30A8* y las concentraciones de zinc, glucosa e insulina en mujeres en edad reproductiva de la zona de Santa Fe de la Ciudad de México?

### III.I JUSTIFICACIÓN

Las mujeres en edad reproductiva representan uno de los grupos más susceptibles a desarrollar deficiencia de zinc. El zinc es un nutrimento inorgánico fundamental para el metabolismo de los hidratos de carbono, el sistema inmune y el reproductivo.

Por otro lado, el gen *SLC30A8* tiene una variante alélica rs13266634 que se ha asociado con una menor eficiencia en el transporte de zinc en el páncreas, alteraciones en el metabolismo de la glucosa; principalmente con disminución en la secreción de la insulina y por consiguiente un aumento en el riesgo de desarrollar DM2 en poblaciones europeas y asiáticas. Sin embargo, no se sabe si la información se puede extrapolar a la población mexicana.

La frecuencia de la variante alélica de riesgo varía considerablemente entre las poblaciones africana, europea y asiática. Esta variante de riesgo en población maya fue de 75%, siendo una de las más altas informadas a escala mundial, aunado a que la prevalencia de diabetes mellitus tipo 2 en México ocupa uno de los primeros diez lugares en el mundo.

Existen muy pocos estudios en México sobre la asociación entre la variante de riesgo y la presencia de diabetes mellitus tipo 2, así como las alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono. Hasta la fecha no hay ningún estudio sobre la asociación de la variante alélica del gen *SLC30A8* y las concentraciones de Zn. Es pertinente establecer la asociación del polimorfismo y las concentraciones de Zn para considerar estrategias de intervención adecuadas para nuestra población, así como para detectar el riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2.

#### IV. HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN

La presencia de la variante de riesgo del polimorfismo rs13266634 del gen *SLC30A8* se asocia con bajas concentraciones de zinc en plasma e insulina y por consiguiente, mayores concentraciones de glucosa en mujeres en edad reproductiva residentes de la zona de Santa Fe de la Ciudad de México.

#### V. OBJETIVOS DE ESTUDIO

##### V.I Objetivo General

Evaluar la asociación entre la variante rs13266634 del gen *SLC30A8* y la concentración en ayunas de glucosa, insulina y zinc en mujeres en edad reproductiva de la zona de Santa Fe de la Ciudad de México.

##### V.II Objetivos Específicos

- Describir la edad, IMC e indicadores de glucosa, insulina y zinc.
- Analizar la asociación entre la variante rs13266634 del gen *SLC30A8* y la concentración de zinc en plasma y eritrocitos en mujeres en edad reproductiva de la zona de Santa Fe de la Ciudad de México.
- Analizar la relación entre la variante alélica rs13266634 del gen *SLC30A8* y las concentraciones de insulina y glucosa en ayuno en mujeres en edad reproductiva de la muestra estudiada.
- Estimar el tamaño del efecto de las variantes estudiadas sobre la variación de la concentración de glucosa en ayuno, insulina y zinc.

## VI. METODOLOGÍA

### VI.I Diseño y población de estudio

Se realizó un estudio observacional de tipo transversal. La población de estudio fueron mujeres de la zona de Santa Fe de la Ciudad de México, que cumplieron con los criterios de inclusión.

### VI.II Selección de la muestra de estudio

Dado que se trata de un estudio piloto, se eligió el muestreo por conveniencia. Se incluyeron setenta mujeres en el estudio.

### VI.III Criterios de selección

#### VI.III.1 Criterios de inclusión

- Mujeres entre 19 y 49 años de edad
- Glucosa en ayuno menor a 126 mg/dL
- Sin consumo de medicamentos que alteren el metabolismo de la glucosa, insulina o zinc.
- Sin consumo de suplementos vitamínicos.
- Que aceptaran participar voluntariamente firmando una carta de consentimiento informado previamente al estudio.

#### VI.III.2 Criterios de exclusión

- Haber recibido suplementación de zinc, hierro o calcio tres meses antes de la primera visita.
- Auto reporte de las siguientes enfermedades:
  - Diabetes
  - Cirrosis

- Acrodermatitis enteropática
- Historia de abuso de alcohol
- Esprúe
- Enfermedad de Crohn
- Síndrome de intestino corto
- Cirugía reciente de duodeno

#### VI.IV Procedimiento

Se invitó a mujeres de la zona de Santa Fe a participar en el estudio. Antes de incorporarlas al estudio, se les proporcionó una carta informativa (Anexo A) con los objetivos y detalles del protocolo. Las que estuvieron de acuerdo en participar brindaron su consentimiento informado por escrito. En seguida, se les proporcionó una fecha para la toma de muestra de sangre para el análisis del SNP, concentración de zinc, glucosa e insulina y mediciones antropométricas.

A las participantes se les aplicó un cuestionario (Anexo B) para obtener datos personales y socioeconómicos, así como antecedentes clínicos.

## VII. MODELO CONCEPTUAL

A partir del marco teórico descrito en el apartado en esta tesis y con base en la pregunta de investigación, se desarrolló el modelo conceptual de este proyecto. Éste se encuentra esquematizado en la **figura 6** y a continuación se presenta una breve descripción del mismo.

Se ha establecido una asociación entre las variantes alélicas del gen *SLC30A8* y el riesgo de desarrollar diabetes; sin embargo, muy pocos estudios han investigado la asociación entre las variantes alélicas del mismo gen y las concentraciones de zinc, las cuales al parecer están asociadas inversamente; las personas portadoras de los genotipos CC tienen menores concentraciones de zinc (85).

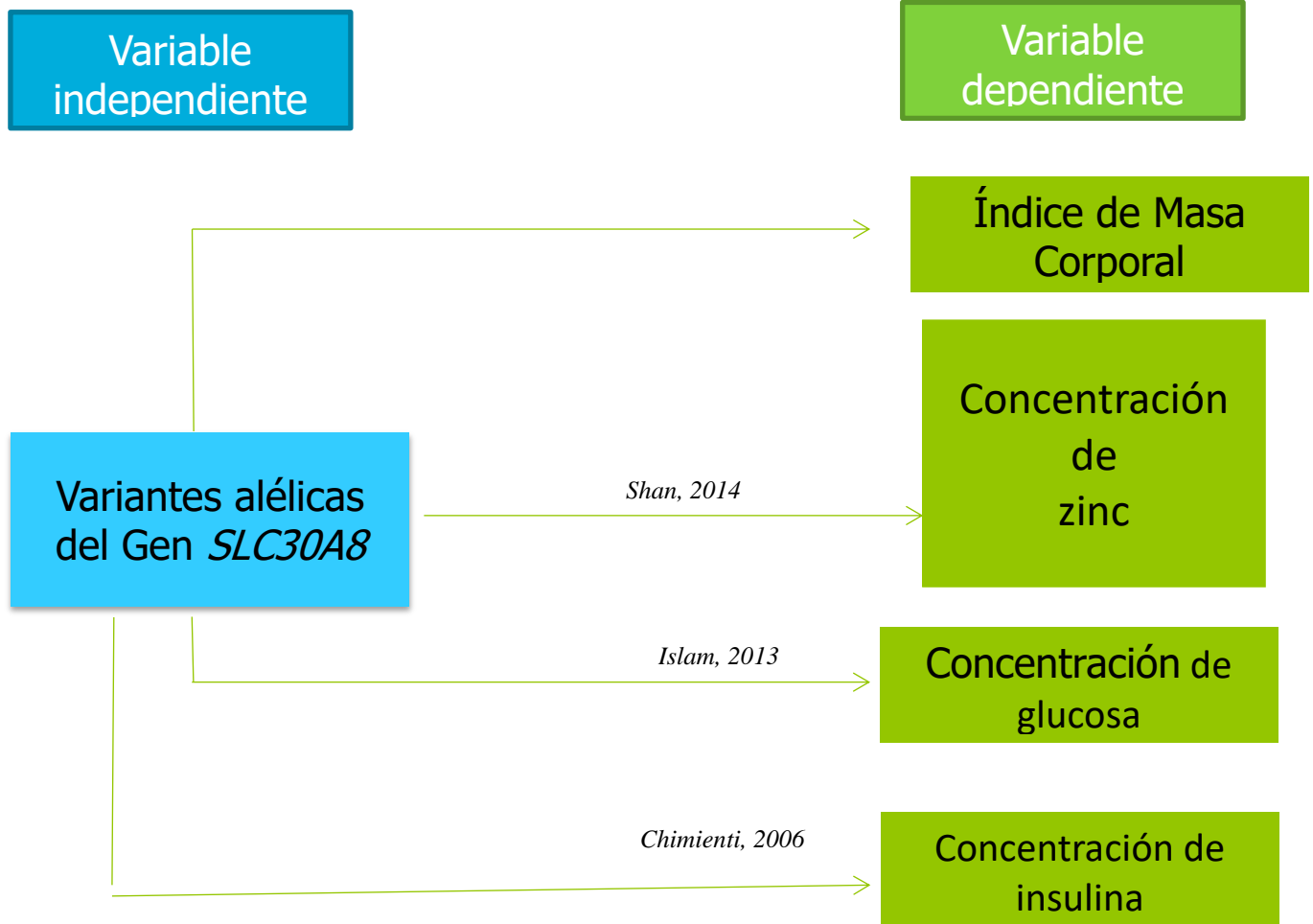
En un estudio en personas con IMC normales se observó que la resistencia a la insulina afectan las concentraciones de zinc (5).

Los estudios en humanos sugieren que los portadores del alelo C de riesgo tienen anormalidades en la secreción de insulina, lo que podría afectar las concentraciones de zinc (62).

Con la intención de evaluar el efecto de las variantes de riesgo se exploró el edad, el IMC, la concentración de zinc, glucosa e insulina



Figura 6. Modelo conceptual



## VII.I Operacionalización de las variables de estudio

VARIABLES dependientes:

- Índice de masa corporal
- Concentración de glucosa en ayuno
- Concentración de insulina en ayuno
- Concentración de zinc en suero y plasma

VARIABLE independiente:

- Variantes alélicas del gen SLC30A8; C (silvestre o común) o T (menos frecuente)

A continuación, se describen las variables de estudio:

VARIABLE	JUSTIFICACIÓN	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE
Variantes alélicas del gen <i>SLC30A8</i>	La variante alélica rs13266634 del gen <i>SLC30A8</i> ZnT8, consiste en la sustitución de una arginina por un triptófano y es una variante de riesgo para diabetes tipo 2.	El alelo de riesgo es la base T, la cual codifica para triptófano, sustituyendo una C codificante para arginina.	Discriminación alélica a través de PCR en tiempo real, en el analizador Via7 mediante el uso de una sonda TaqMan para identificar las variantes alélicas.	Categórica nominal
Concentración de zinc en plasma	El zinc desempeña un papel clave en la síntesis, almacenamiento y secreción de la insulina. Estudios sugieren que una disminución en la concentración de zinc repercute en la producción y secreción de la insulina y por lo tanto en el metabolismo de los hidratos de carbono.	Cantidad de zinc circulante en plasma.	Cuantificación de zinc en plasma (mcg/dL), medida por espectrofotometría de absorción atómica.	Cuantitativa continua

Concentración de zinc en eritrocitos	El zinc desempeña un papel clave en la síntesis, almacenamiento y secreción de la insulina. Estudios sugieren que una disminución en la concentración de zinc repercute en la producción y secreción de la insulina y por lo tanto en el metabolismo de los hidratos de carbono.	Cantidad de zinc presente en eritrocitos.	Cuantificación de zinc en eritrocitos separados de sangre (mcg/dL), medida por espectrofotometría de absorción atómica.	Cuantitativa continua
Concentración de glucosa en ayuno	Cuando las concentraciones de glucosa se encuentran fuera de los rangos establecidos, se dice que hay intolerancia a la glucosa o glucosa alterada en ayuno, esta condición es un factor de riesgo para el desarrollo de la diabetes. Un estudio llevado a cabo en población abierta de la Ciudad de México, concluyó que cerca de la tercera parte de dicha población tiene algún trastorno del metabolismo de los hidratos de carbono. Por otro lado, se ha establecido que existe una relación entre la hiperglucemia y el metabolismo del zinc.	Cantidad de glucosa circulante.	Cantidad de glucosa en sangre (mg/dL). Se obtuvo por medio de una punción venosa. Se midió con 8 horas de ayuno. Se determinó por el método de glucosa oxidasa	Cuantitativa continua
Concentración de insulina	La insulina es un polipéptido, su secreción es regulada principalmente por la glucosa. Una alteración en el metabolismo de la glucosa denominada resistencia a la insulina, la cual puede deberse a deficiencia de algunos minerales como el zinc, aumenta la producción de esta hormona (hiperinsulinemia). Algunos autores han descrito, aunque no de manera contundente que el zinc estimula la acción de la insulina y la actividad de su receptor; la tirosina cinasa (IRTK), lo que incrementa la sensibilidad de la hormona.	Cantidad de insulina circulante.	Se determinó la concentración de insulina en suero obtenida en ayuno, por el método de ELISA usando estuches comerciales.	Cuantitativa continua

IMC	El IMC es un indicador confiable en el diagnóstico del estado de nutrición en poblaciones.	Razón que se establece al dividir el peso corporal expresado en kilogramos (kg), entre la estatura expresada en metros (m) elevada al cuadrado.	Valores de referencia de acuerdo con las OMS <18.5 = bajo peso 18.5 a 24.9 = normopeso 25.0-29.9 = sobrepeso ≥30 = obesidad	Cualitativa ordinal
Edad	Las mujeres en edad reproductiva tienen mayor riesgo a presentar deficiencia plasmática de zinc.	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo.	Años de vida cumplidos hasta el momento de su participación en el estudio	Cuantitativa discreta.

## VIII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se calcularon estadísticos descriptivos: medidas de tendencia central y dispersión para las variables peso, edad, talla, concentración de glucosa, concentración de zinc y concentración de insulina.

El análisis de frecuencias alélicas y genotípicas se realizó mediante la prueba de Hardy-Weinberg.

Las comparaciones de tres o más grupos (genotipos) con una variable dependiente de nivel escalar se realizaron mediante pruebas de ANOVA de una vía.

Las comparaciones de dos grupos (alelos) se realizaron a través de la prueba de *t* de student.

La asociación entre variables numéricas se estimó a través del cálculo del coeficiente de correlación de Pearson.

El tamaño del efecto de los genotipos mediante la prueba de la *d* de Cohen.

Finalmente se calculó el poder estadístico observado con los datos del presente informe y del tamaño de muestra requerido para estudiar de manera suficiente las diferencias observadas. Se consideraron como significativos valores *p* iguales o menores a 0.05.

Los análisis se realizaron en el paquete estadístico SPSS v.21 y el paquete Stata V.14.1.

## IX. CONSIDERACIONES ÉTICAS

El estudio se condujo de acuerdo con lo señalado en la Declaración de Helsinki. Los procedimientos a seguir cumplieron con las normas para realizar un protocolo de investigación ético y asegurar la protección de los sujetos participantes, tales como proteger la vida, la salud, la intimidad y la dignidad del ser humano. El estudio se sometió para su aprobación por el Comité de Investigación de la Universidad Iberoamericana y de ética, investigación y bioseguridad en el INMEGEN.

Por otro lado, las participantes fueron informadas del objetivo del estudio a través de la carta de consentimiento informado (Anexo H) y de la confidencialidad de sus datos.

El estudio se considera de riesgo mínimo de acuerdo con la Ley General de Salud. La punción para la obtención de la muestra fue realizada por personal entrenado y con material desechable. Las muestras fueron destruidas después de ejecutado el estudio.

## X. RESULTADOS

De la población elegible identificada (n=70); 17 tuvieron una concentración de glucosa en ayuno igual o mayor a 126mg/dL, de 4 mujeres no se obtuvo la cantidad de muestra necesaria para llevar a cabo la determinación de zinc en sangre y en el caso de 6 mujeres la muestra no fue suficiente para realizar las pruebas de discriminación alélica. Considerando la información completa de acuerdo con los criterios de selección se incluyeron 43 participantes (61%). El cuadro 1 muestra las características generales de la muestra que se estudió compuesta por 43 mujeres en edad reproductiva. El promedio del IMC de las participantes se encuentra dentro de valores normales (24.1). Se observó una diferencia de aproximadamente 20mg/dL entre el promedio de la glucosa capilar y el valor promedio de glucosa en plasma de ayuno. El promedio de los indicadores de zinc analizados se encuentra dentro de valores normales. Se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para una muestra y se encontró que todas las variables tienen una distribución normal.

**Cuadro 1.** Características generales de la muestra estudiada (n=43)

Características	Media + DE*
Edad (años)	29 + 10.0
IMC	24.1 + 4.7
Glucosa capilar (mg/dL)	103.0 + 19.0
Glucosa en plasma (mg/dL)	83.5 + 11.2
Insulina ( $\mu$ UI/dL)	16.5 + 8.5
Zinc en plasma (Ug/dL)	84.0 + 21.2
Zinc en eritrocitos	1156.0 + 285.6

\*Desviación estándar

En el cuadro 2 se muestra el análisis de la frecuencia de las variantes genéticas en la muestra estudiada y el análisis del equilibrio de Hardy-Weinberg de genotipos y alelos de la variante rs13266634. Los genotipos están en equilibrio ( $p < 0.05$ ), ya que la distribución de las frecuencias se encuentra dentro de lo esperado, esto se debe a que la variante no se ha introducido recientemente a la población.

**Cuadro 2.** Análisis de frecuencia de genotipos y alelos de la variante rs13266634

Total	Homocigoto común TT	Heterocigoto CT	Homocigoto no común CC	Frecuencia por alelos C/T
43	13 (18.49%)	11 (49.02%)	19 (32.49%)	0.57 / 0.43

En el cuadro 3 se encuentran las características de las 43 participantes las cuales fueron analizadas por genotipos.

Se hizo la comparación de los grupos formados por los genotipos mediante la prueba de ANOVA de una vía. No se observó ninguna diferencia significativa entre los tres grupos en cuanto a edad, IMC, insulina, glucosa capilar y en plasma, así como, zinc en plasma. La única variable que mostró una tendencia asociada con el genotipo es el zinc en glóbulos rojos, pero no alcanzó la significancia estadística.



**Cuadro 3.** Valores descriptivos de las variables por genotipos (n=43)

Características	Homocigoto CC	Heterocigoto CT	Homocigoto TT	Valor p*
	n=13	n=11	n=19	
	Media + DE	Media + DE	Media + DE	
Edad (años)	32.46 + 10.34	24.2 + 7.56	30.3 + 11.17	0.131
IMC	24.6 + 4.70	24.7 + 6.73	23.3 + 3.48	0.657
Glucosa capilar (mg/dL)	99.46 + 23.93	101.7 + 14.91	106.89 + 17.70	0.538
Glucosa (mg/dL)	84.36 + 12.10	87.27 + 7.44	80.80 + 12.29	0.310
Insulina ( $\mu$ UI/dL)	14.83 + 5.35	20.26 + 13.86	15.57 + 5.59	0.242
Zinc en plasma (Ug/dL)	79.76 + 13.38	76.45 + 13.48	91.34 + 27.00	0.124
Zinc en eritrocitos	1069 + 193.10	1075.45+ 262.78	1263 + 325.01	0.091

\*ANOVA de una vía

En el cuadro 4 se muestra la comparación de los fenotipos agrupados por alelos. Para este fin se utilizó el modelo dominante que compara a los homocigotos para el alelo C con los portadores del alelo común T. En el siguiente cuadro se observa que las mujeres que tienen al menos una copia del alelo C fueron las que tuvieron menores concentraciones de Zn y las diferencias alcanzaron significancia tanto en el plasma, como en los glóbulos rojos.

**Cuadro 4.** Comparación de la edad, índice de masa corporal, glucosa, insulina y zinc por alelos.

	CC+CT n=24	TT n=19	
Características	Media + DE	Media + DE	Valor p para la prueba t
Edad (años)	28 + 9.9	30 + 11.1	0.553
IMC	24.7 + 5.5	23.3 + 3.4	0.358
Glucosa capilar (mg/dL)	100.5 + 19.0	106.8 + 17.7	0.279
Glucosa en plasma (mg/dL)	85.6 + 10.1	80.8 + 12.2	0.160
Insulina (UI)	17.3 + 10.3	15.5 + 5.5	0.510
Zinc en plasma (Ug/dL)	78.2 + 13.2	91.3 + 27	0.043
Zinc en glóbulos rojos	1071.9 + 222.4	1263.0 + 325	0.028

En el cuadro 5 se muestran los coeficientes de correlación de Pearson, en el cual se observa una correlación positiva y significativa entre insulina e IMC. Por el contrario, no hay correlación entre la insulina y los indicadores de Zn.

**Cuadro 5.** Correlaciones de Pearson

	IMC	INSULINA	ZINC plasma	ZINC glóbulos rojos
IMC	1	r=.339 p=.026*	r= -.149 p= .340	r= .075 p= .635
INSULINA		1.000	r= -.113 p= .470	r= .055 p= .726
ZINC plasma			1.000	r= .012 p= .939
ZINC glóbulos rojos				1.000

\*Se considera una correlación significativa valor p menor a 0.05

Se utilizó la d de Cohen para calcular el tamaño del efecto del alelo. En el cuadro 6 se muestra el tamaño del efecto de los alelos para cada variable utilizando el modelo dominante y se encontró que el alelo C tiene un efecto de tamaño moderado sobre las concentraciones de zinc en plasma y glóbulos rojos.

**Cuadro 6.** Valores promedio de glucosa, insulina, zinc y estimaciones tamaño del efecto mediante la d de Cohen

	N	Media	Tamaño del efecto (d de Cohen)	Interpretación
Glucosa (CC+ CT)	24	85.7		
(TT)	19	80.8		
			0.43	Pequeño
Insulina (CC + CT)	24	17.3		
(TT)	19	15.6		
			0.21	Pequeño
Zinc en plasma (CC + CT)	24	78.2		
(TT)	19	91.3		
			0.61	Moderado
Zinc en glóbulos rojos (CC + CT)	24	1,071.9		
(TT)	19	1,263.0		
			0.68	Moderado

En relación con el tamaño del efecto o las diferencias estandarizadas observadas (cuadro 6), la diferencia más pequeña fue de 0.21 correspondiente a las concentraciones de insulina. Con base en ésta se calculó el poder estadístico del estudio, suponiendo una

asignación de 0.79 ( $n_2/n_1$ ) entre los grupos CC+CT ( $n_1=24$ ) y TT ( $n_2=19$ ), con medias de  $17.3 \pm 10.30$  y  $15.57 \pm 5.59$  para los grupos  $n_1$  y  $n_2$ , respectivamente. Considerando un error alfa de 0.05 y un delta de -1.75 la potencia de este resultado es de 10.9%, considerablemente menor a lo recomendado (80.0%). Al tratarse de un estudio piloto, los valores observados permiten calcular el tamaño de muestra necesario para estudiar estas diferencias o mayores a las observadas en el presente informe. Considerando la distribución de los grupos, las medias, las desviaciones estándar, el valor de delta y alfa observados y una potencia del 80% se requeriría una muestra de 670 mujeres con 374 en el grupo 1 (CC+CT) y 296 en el grupo 2 (TT)

## XI. DISCUSIÓN

La variante rs13266634 se ha asociado con el riesgo de DM2 y alteraciones en las concentraciones de glucosa principalmente en poblaciones asiáticas y africanas. En México existen estudios que han replicado este hallazgo, pero en población maya, que se sabe es genéticamente diferente de la del resto del país. En China, Shan y cols. estudiaron la asociación entre el rs13266634 y las concentraciones de zinc, pero en población mexicana es el primer estudio piloto que busca la misma asociación bajo criterios de inclusión diferentes. También se ha estudiado el efecto de la suplementación de zinc en población con DM2, (88) donde se evaluó la dieta y el consumo del suplemento y se observó interacción entre el genotipo, el IMC y el zinc; un consumo alto de zinc a través de la dieta y el uso de suplementos de zinc tuvieron un efecto protector y éste fue significativamente más alto en los portadores del alelo T vs el alelo C en presencia de sobrepeso.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo se pueden comparar con la frecuencia en población china 54% vs 57% del presente reporte. La población afrodescendiente de Estados Unidos es la única población que muestra una distribución del 92%; muy diferente del resto reportadas.

En nuestra investigación se encontró que la presencia del alelo C del rs13266634 del gen SLC30A8 se asocia con bajas concentraciones de zinc en plasma y glóbulos rojos, en mujeres en edad reproductiva residentes de la zona de Santa Fe de la Ciudad de México. Este hallazgo es similar al que encontró Shan (85) en población china, la cual tiene una prevalencia alta (54%) del alelo C de riesgo, en la que observaron que había una asociación entre las concentraciones de glucosa alterada y las concentraciones de zinc modificadas por el genotipo; los participantes con genotipo TT tuvieron las concentraciones más altas de zinc y esta combinación se asoció con una menor probabilidad de DM2.

Es importante mencionar que el 24% de las participantes evaluadas tuvo una concentración en ayuno igual o mayor a 126mg/dL de glucosa y lo desconocía hasta ese momento del análisis. Lara-Riegos y cols. (89) encontraron que el 20% de los participantes indígenas tenían DM2 y el 60% lo desconocía.

Por otro lado, la variante de riesgo de este genotipo se ha asociado principalmente a diabetes mellitus tipo 2 (DM2), pero estudios previos realizados en mexicoamericanos en San Antonio, Texas y en Arizona no pudieron establecer una asociación entre la variante de riesgo y la DM2 y concluyeron que era poco probable encontrar una asociación en poblaciones con antecedentes étnicos diferentes. Al respecto en el meta análisis publicado por Chen y cols. (77) concluyeron que los antecedentes étnicos contribuyen de manera importante a la asociación descrita entre la variante *rs13266634* y la DM2, como es el caso de la población maya que tiene antecedentes genéticos diferentes de otras poblaciones.

La frecuencia del alelo C de riesgo obtenida en el estudio fue mayor que la del alelo T. Lara Riegos informó también que había una frecuencia mayor del alelo C de riesgo (75%) en población maya. La frecuencia del alelo C informada en el proyecto de variación genética mundial HapMap para poblaciones mexicanas habitantes de Los Ángeles es una de las más altas (75%) a escala mundial, que es la misma reportada para población maya.

Al comparar los datos de las variables de acuerdo con los genotipos, se observó que la presencia del genotipo CC se asoció con un IMC y concentración de glucosa más elevada así como con una concentración de insulina y de zinc tanto en plasma como en glóbulos rojos menor. Sin embargo, no se encontró significancia estadística. Los resultados del presente estudio mostraron diferencias asociadas con los alelos, pero estas diferencias no se encontraron en las comparaciones por genotipos, posiblemente porque el tamaño de muestra es insuficiente y no permite alcanzar significancia estadística. También Cauchi (90) en sus estudios hace mención de que las variaciones genéticas tienen efecto sobre la acción de la insulina en presencia de obesidad, en nuestro estudio podemos ver que a pesar de tener un tamaño de muestra pequeño, hay un efecto moderado del alelo de riesgo sobre la concentración de los indicadores de zinc y una correlación positiva entre el IMC y las concentraciones de insulina.

Los resultados del presente estudio piloto sugieren que podría existir asociación entre la variante y las concentraciones de zinc, pero posiblemente esta asociación no se encuentra en la comparación entre genotipos debido a que este estudio tiene una muestra pequeña y fue diseñado como un estudio piloto que permitiera estudiar una asociación sobre la que

no existe información. Posiblemente, si se llegara al tamaño de muestra deseado podríamos encontrar una mayor fuerza de asociación. Sin embargo, el valor de los hallazgos se encuentra en el aspecto de la reproducibilidad de una asociación ya encontrada en una población de características similares en cuanto a prevalencia del polimorfismo. Es importante que haya más estudios en población mexicana para mostrar la relevancia de esta asociación en una población con alta prevalencia de DM2 como es la mexicana. También es de interés estudiar si el estado de nutrición en zinc y la variante tienen algún tipo de interacción o modificación de efecto que influya sobre el riesgo de diabetes mellitus tipos 2 o el metabolismo de la insulina.

Al tratarse de un estudio piloto, la limitación principal del estudio radica en el tamaño de la muestra que no permitió contar con el poder estadístico adecuado para analizar las asociaciones propuestas, pero los datos obtenidos permiten hacer el cálculo del tamaño de muestra necesario. Además, no se evaluó el consumo de zinc por la dieta; sin embargo, es importante reconocer la susceptibilidad que tiene la población identificando los factores de riesgo: sobrepeso, altas concentraciones de glucosa en ayuno y bajas concentraciones de zinc, destacando que son las mujeres las que tienen los porcentajes más elevados, aunado a una mayor frecuencia del alelo de riesgo en la población.



## XII. CONCLUSIÓN

En conclusión, este es uno de los primeros estudios en población mexicana que busca la asociación del SNP y las concentraciones de Zn, insulina y glucosa en mujeres en edad reproductiva. Dada la alta frecuencia del SNP y su relación con el riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2, es pertinente que se realicen estudios donde se busque intencionadamente datos clínicos y genéticos que ayuden al diagnóstico preventivo para DM2.

En el presente trabajo la única variable que mostró diferencia asociada con el genotipo es la concentración de zinc en glóbulos rojos. Las mujeres que tienen al menos una copia del alelo C fueron las que tuvieron menores concentraciones de zinc y las diferencias alcanzaron significancia tanto en el plasma, como en glóbulos rojos.

### XIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Prasad AS. Discovery of human zinc deficiency: 50 years later. *J Trace Elem Med Biol.* 2012 Jun; 26(2-3): 66-9.
2. Ibs K, Rink L. Zinc-altered immune function. *J Nutr* 2003; 133: 1452S-1456S
3. Sullivan V, Burnett F, Cousins R. Metallothionein expression is increased in monocytes and erythrocytes of young men during zinc supplementation. *J Nutr* 1998; 128: 707 – 713
4. Semba RD, Bloem MW, editors. Nutrition and Health in Developing Countries. Second Edition. “Zinc deficiency”. 2008 Humana Press, a part of Springer Science + Business Media, LLC. Chapter 15, p 459-460. ISBN: 978-1-934115-24-4; e-ISBN: 978-1-59745-464-3; DOI: 10.1007/978-1-59745-464-3
5. Yang HK, Lee SH, Han K, Kang B, Lee SY, et al. Lower serum zinc levels are associated with unhealthy metabolic status in normal-weight adults: The 2010 Korea National Health and Nutrition Examination Survey. *Diabetes & Metabolism.* 2015
6. Liu MJ, Bao S, Bolin ER, Burris DL, Xu X, Sun Q, Killilea DW, et al. Zinc Deficiency Augments Leptin Production and Exacerbates Macrophage Infiltration into Adipose Tissue in Mice Fed a High-Fat Diet. *J Nutr* July 1, 2013 vol. 143 no. 7 1036-1045
7. Tang X, Shay N. Zinc has an insulin-like effect on glucose transport mediated by phosphoinositol-3-kinase and Akt in 3T3-L1 fibroblasts and adipocytes. *J Nutr* 2001; 131: 1414 – 1420
8. Hambidge M. Human zinc deficiency. *J Nutr* 2000; 130(5):1344S – 1349S
9. Wood R. Assessment of marginal zinc status in humans. *J Nutr* 2000; 130: 1350S - 1354S
10. Casanueva E, Kaufer-Horwitz M, Pérez-Lizaur AB, Arroyo P. *Nutriología médica.* 3ª Edición, Editorial Médica Panamericana 2008 p. 449.
11. Tablas de composición de alimentos. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Formato electrónico. Versión 2015.
12. Krebs N. Overview of zinc absorption and excretion in the human gastrointestinal tract. *J Nutr* 2000; 130: 1374S – 1377S
13. Rosado J, Díaz M, González K, Griffin I, Abrams SA, Preciado R. The addition of milk or yogurt to a plant based diet increases zinc bioavailability but does not affect iron bioavailability in women. *J Nutr* 2005; 135: 465 – 468
14. Sazawal S, Habib AA, Dhingra U, Dutta A, Dhingra P, Sarkar A, et al. Impact of micronutrient fortification of yoghurt on micronutrient status markers and growth - a randomized double blind controlled trial among school children in Bangladesh. *BMC Public Health* 2013; 13:514.
15. Baer M, King J. Tissue zinc levels and zinc excretion during experimental zinc depletion in young men. *Am J Clin Nutr* 1984; 39: 556 – 570
16. Song Y, Chung CS, Bruno RS, Traber MG, Brown KH, King JC, et al. Dietary zinc restriction and repletion affects DNA integrity in healthy men. *Am J Clin Nutr* 2009; 90(2):321-8.
17. Jansen J, Karges W, Rink L. Zinc and diabetes – clinical links and molecular mechanisms. *J Nutr Bio* 2009; 20: 399 – 417
18. Overbeck S, Rink L, Haase H. Modulating the immune response by oral zinc supplementation: a single approach for multiple diseases. *Arch Immunol Ther Exp* 2008; 56:15–30
19. Shils M, Olson J, Shike M, Ross AC. *Modern nutrition in health and disease.* 8a ed. EUA: Lea & Febiger. 2006
20. Jeong J, Eide DJ. The SLC39 family of zinc transporters. *Mol Aspects Med.* 2013; 34(2-3):612-9.
21. Chabosseau P, Rutter GA. Zinc and diabetes. *Arch Biochem Biophys.* 2016; 1 (611): 79-85.

22. Nozuri S, et al. Zinc transporters and insulin resistance: therapeutic implications for type 2 diabetes and metabolic disease. *JBS* 2017; 24:87
23. Smidt K, Jessen N, Petersen AB, Larsen A, Magnusson N, Jeppesen JB, Stoltenberg M, et al. SLC30A3 Responds to glucose and zinc variations in beta cells and is critical for insulin production and in vivo glucose metabolism during beta cell stress. *Plos One* 2009; 4 (5): e5684
24. Chimienti F, Devergnas S, Pattou F, Schuit F, Garcia-Cuenca R, Vandewalle B, Kerr-Conte J, et al. In vivo expression and functional characterization of the zinc transporter ZnT8 in glucose-induced insulin secretion. *J Cell Sci* 2006; 119: 4199 – 4206
25. Kimura T, et al. The Functions of Metallothionein and ZIP and ZNT Transporters: An Overview and Perspective. *J Mol Sci.* ;2016:17(3):336.
26. Prasad AS. Discovery of human zinc deficiency: its impact on human health and disease. *Adv Nutr.* 2013; 4(2):176-90
27. Wood RJ. Assessment of marginal zinc status in humans. *J Nutr.* 2000; 130(5S Suppl):1350S-4S.
28. Gohlke H, Koezwarra K, Bonifacio E, Illig T, Ziegler A. SLC30A8 (ZnT8) polymorphism is associated with young age at type 1 diabetes onset. *The Review of diabetes studies* 2008; 5 (1): 25 - 27
29. Xu K, et al. Association between rs132666334 C/T polymorphisms of solute carrier family 30 member 8(SLC30A8) and type 2 diabetes, impaired glucose tolerance, type 1 diabetes. *Meta-analysis Diabetes Research and clinical practice* 2011; 195-202
30. Kawasaki E. ZnT8 and type 1 diabetes. *Endocr J.* 2012 Jul 31;59 (7):531-7.
31. Tamaki M, Fujitani Y, Hara A, Uchida T, Tamura Y et al. The diabetes-susceptible gene SLC30A8 ZnT8 regulates hepatic insulin clearance. *J Clin Invest.* 2013; 123(10): 4513 – 4524
32. Cousins R, McMahon R. Integrative aspects of zinc transporters. *J Nutr* 2000; 130: 1384S -1387
33. GeneCards [sitio de internet]. Weizmann Institute of Science: SLC30A8 Gene protein-coding. [consultado: 10 sept 2019]. Disponible en: <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=SLC30A8>
34. King JC, Shames DM, Woodhouse LR. Zinc homeostasis in humans. *J Nutr* 2000; 130: 1360S – 1366S.
35. Fukada T, Yamasaki S, Nishida K, Murakami M, Hirano T. Zinc homeostasis and signaling in health and diseases: Zinc signaling. *J Biol Inorg Chem.* 2011; 16(7):1123-34.
36. King JC, Keen C. Zinc in: modern nutrition in health and disease. Shilds M, Olson J and Shike M eds. Lea and Febiger, Philadelphia p. 262, 1988
37. King JC. Assessment of zinc status. *J Nutr* 1990; 120: 1474 – 1479
38. OMS [sitio de internet]. Organización Mundial de la Salud: Sistema de Información Nutricional sobre Vitaminas y Minerales. [consultado mayo 2019]. Disponible en: <http://www.who.int/vmnis/es/index.html>
39. UNICEF [sitio de internet]. Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia: El hambre oculta de los niños y niñas con carencia de vitaminas y minerales. [consultado mayo 2019]. Disponible en: [http://www.unicef.org/spanish/nutrition/index\\_hidden\\_hunger.html](http://www.unicef.org/spanish/nutrition/index_hidden_hunger.html)
40. FAO [sitio de internet]. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura: Seguridad alimentaria de los hogares y nutrición de la comunidad. [consultado mayo 2019]. Disponible en: [http://www.fao.org/ag/agn/nutrition/household\\_micronutrients\\_es.stm](http://www.fao.org/ag/agn/nutrition/household_micronutrients_es.stm)
41. Wessells KR, Singh GM, Brown KH. Estimating the global prevalence of inadequate zinc intake from national food balance sheets: effects of methodological assumptions. *PLoS One.* 2012; 7(11):e50565.
42. Baqui AH, Walker CL, Zaman K, El Arifeen S, Chowdhury HR, Wahed MA, Black RE, et al. Weekly iron supplementation does not block increases in serum zinc due to weekly zinc supplementation in Bangladeshi infants. *J Nutr* 2005; 135: 2187S – 2191S

43. Mori R, Ota E, Middleton P, Tobe-Gai R, Mahomed K, Bhutta ZA. Zinc supplementation for improving pregnancy and infant outcome. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012; 7:CD000230.
44. Lönnerdal B. Dietary factors influencing zinc absorption. *J Nutr* 2000; 130: 1378S – 1383S
45. Gibson RS. A historical review of progress in the assessment of dietary zinc intake as an indicator of population zinc status. *Adv Nutr.* 2012; 3(6):772-82.
46. Rosado JL. Zinc en Bourges H, Casanueva E, Rosado JL (editors). Recomendaciones para la ingestión de nutrimentos en la población mexicana. Editorial Panamericana. México 2003 p.265
47. Bin BH, et al. An acrodermatitis enteropathica-associated Zn transporter, ZIP4, Regulates Human Epidermal Homeostasis. *J Invest Dermatol.* 2017;137(4):874-883.
48. Rivera J, Shama T, Villalpando S, González de Cossio T, Hernández B, Sepúlveda J. Encuesta Nacional de Nutrición 1999. Estado nutricional de niños y mujeres en México. Cuernavaca, Morelos, México: Instituto Nacional de Salud Pública, 2001
49. Villalpando S, García-Guerra A, Ramírez-Silva CI, Mejía-Rodríguez F, Matute G, Shamah-Levy T, Rivera JA. Iron, zinc and iodide status in Mexican children under 12 years and women 12-49 years of age. A probabilistic national survey. *Salud Publica Mex* 2003;45 suppl 4:S520-S529.
50. Casanueva E, De Regil LM, Tolentino MC, Morales RM, Hernández MA. Nutritional chronic diseases overlap with vitamin and mineral deficiencies in Mexican women with waist perimeter high than 88cm. *FASEB* 2008
51. Black R. Zinc deficiency, infectious disease and mortality in the developing world. *J Nutr* 2003; 133: 1485S – 1489S
52. Rink L, Kirchner H. Zinc altered immune function and cytokine production. *J Nutr* 2000; 130: 1470S – 1411S
53. Osendarp S, West C, Black R. The need for maternal zinc supplementation in developing countries: an unresolved issue. *J Nutr* 2003; 133: 817S – 827S
54. Uriu-Adams JY, Keen CL. Zinc and reproduction: effects of zinc deficiency on prenatal and early postnatal development. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 2010; 89(4):313-25.
55. Cruz KJC, et al. Zinc and insulin resistance: biochemical and molecular aspects. *Biol Trace Elem Res.* 2018;186 (2): 407-412.
56. Miao X, Sun W, Fu Y, Miao L, Cai L. Zinc homeostasis in the metabolic syndrome and diabetes. *Front Med.* 2013; 7(1):31-52.
57. Chausmer AB. Zinc, insulin and diabetes. *J Am Coll Nut* 1998; 17 (2): 109 – 115
58. Aydemir TB, Blanchard RK, Cousins RJ. Zinc supplementation of young men alters metallothionein, zinc transporter, and cytokine gene expression in leukocyte populations *PNAS* 2006; 6 (130): 1699-1704
59. Gómez A, Hernández E, González M y Martínez E. Efecto de la administración oral de zinc sobre sensibilidad a la insulina y niveles séricos de leptina y andrógenos en hombres con obesidad. *Rev Méd Chile* 2006; 134: 279 – 84
60. Chen MD, Lin PY, Lin WH. [Investigation of the relationships between zinc and obesity]. *Gaoxiang Yi Xue Ke Xue Za Zhi.* 1991; 7(12):628-34.
61. Sun Q, Van Dam RM, Willett WC, Hu FB. Prospective Study of Zinc Intake and Risk of Type 2 Diabetes in Women. *Diabetes Care.* 2009; 32(4): 629 – 634
62. Maruthur NM, Clark JM, Fu M, Linda Kao WH, Shuldiner AR. Effect of zinc supplementation on insulin secretion: interaction between zinc and SLC30A8 genotype in Old Order Amish. *Diabetologia.* 2014.
63. Islam MR, Arslan I, Attia J, McEvoy M, McElduff P, Basher A, et al. Is serum zinc level associated with prediabetes and diabetes?: a cross-sectional study from Bangladesh. *PLoS One.* 2013; 8(4):e61776.

64. Sladek R, Rocheleau G, Rung J, Dina C, Shen L, Serre D, et al. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature*. 2007; 445(7130):881-5.
65. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/169026>
66. NCBI [sitio de internet]. Gene: SLC30A8 solute carrier family 30 (zinc transporter), member 8 [Homo sapiens (human)]. [consultado: 10 de sept 2019]. Disponible en: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/tools/1000genomes/?asm=GCF\\_000001405.25](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/variation/tools/1000genomes/?asm=GCF_000001405.25)
67. Lin Y, Li P, Cai L, Zhang B, Tang X, et al. Association study of genetic variants in eight genes/loci with type 2 diabetes in a Han Chinese population. *BMC Medical Genetics* 2010; 11:97.
68. Boesgaard TW, Zilinskaite J, Vanttinen M, Laakso M, Jansson PA, et al. The common SLC30A8 Arg325Trp variant is associated with reduced first-phase insulin release in 846 non-diabetic offspring of type 2 diabetes patients – the EUGENE2 study. *Diabetología* 2008; 51: 816 – 820
69. Simon SF, Taylor CG. Dietary zinc supplementation attenuates hyperglycemia in db/db mice. *Exp Biol Med (Maywood)* 2001;226: 43-51
70. Lichten L, Cousins R. Mammalian zinc transporters: nutritional and physiologic regulation. *Annu Rev Nutr* 2009; 29: 153 – 176
71. Kang E, Kim MS, Kim YS, Kim CH, Han SJ, Chun SW, et al. A polymorphism in the zinc transporter gene SLC30A8 confers resistance against posttransplantation diabetes mellitus in renal allograft recipients. *Diabetes* 2008; 57: 1043 – 1047
72. Fan M, et al. Association of SLC30A8 gene polymorphism with type 2 diabetes, evidence from 46 studies: a meta-analysis. *Endocrine* 2016; 53: 381-394
73. Yi B, Huang G, Zhou Z. Different role of zinc transporter 8 between type 1 diabetes mellitus and type 2 diabetes mellitus. *J Diabetes Investig*. 2016; 7: 459-465
74. Jing YL, Sun QM, Bi Y, Shen SM, Zhu DL. SLC30A8 polymorphism and type 2 diabetes risk: evidence from 27 study groups. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2011; 21(6):398-405.
75. Xiang J, Li XY, Xu M, Hong J, Huang Y, et al. Zinc transporter 8 gene (SLC30A8) is associated with type 2 diabetes in chinese. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 4107 – 4112.
76. Chang YC, et al. Validation of type 2 diabetes risk variants identified by genome-wide association studies in Han Chinese population: a replication study and meta-analysis. *PLoS One* 2014; 9(4):e95045
77. Cheng L, Zhang D, Zhou L, Zhao J, Chen B. Association between SLC30A8 rs13266634 Polymorphism and Type 2 Diabetes Risk: A Meta-Analysis. *Med Sci Monit*. 2015; 21: 2178 – 2189.
78. Fan M, et al. Association of SLC30A8 gene polymorphism with type 2 diabetes, evidence from 46 studies: a metaanalysis. *Endocrine*. 2016 (2):381-94
79. Dong F, et al. Association Between SLC30A8 rs13266634 Polymorphism and Risk of T2DM and IGR in Chinese Population: A Systematic Review and Meta-Analysis *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018; 25:9:564
80. Hernández-Escalante VM, et al. Replication of obesity and diabetes-related SNP associations in individuals from Yucatán, México. *Front Genet*. 2014 ; 18;5:380.
81. [https://diabetesatlas.org/IDF\\_Diabetes\\_Atlas\\_8e\\_interactive\\_ES/](https://diabetesatlas.org/IDF_Diabetes_Atlas_8e_interactive_ES/)
82. Gamboa MA, et al. Contribution of common genetic variation to the risk of type 2 diabetes in the Mexican mestizo population. *Diabetes* 2012; 3313-3321
83. Kulkarni, et al. Lack of Association between SLC30A8 Variants and Type 2 Diabetes in Mexican American Families. *J Diabetes Res* 2016; 6463214
84. [http://grch37.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Variation/Population?r=8:118184283-118185283;v=rs13266634;vdb=variation;vf=477932091](http://grch37.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?r=8:118184283-118185283;v=rs13266634;vdb=variation;vf=477932091) consultado el día 19 de octubre de 2019

85. Shan Z, et al. Interaction between zinc transporter-8 Gene (SLC30A8) and plasma zinc concentrations for impaired glucose regulation and type 2 diabetes. *Diabetes* 2014; 63: 1796-1803
86. Wu Y, et al. Common variants in CDKAL1, CDKN2A/B, IGF2BP2, SLC30A8 and HHEX/IDE genes are associated with type 2 diabetes and impaired fasting glucose in a Chinese Han population. *Diabetes* 2008; 57 )10=Ñ 2834-42
87. ADA: American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2019. *Diabetes Care* 2019; 42 Suppl1:S3
88. Drake I, Hindy G, Ericson U, Orho- Melander M. A prospective study of dietary and supplemental zinc intake and risk of type 2 diabetes depending on genetic variation in SLC30A8. *Genes Nutr.* 2017; 30: 12-30.
89. Lara-Riegos JC, et al. Diabetes susceptibility in Mayas: Evidence for the involvement of polymorphisms in HHEX, HNF4alfa, PPARy, CDKN2A/2B, SLC30A8, CDC123/CAMK1D, TCF7L2, ABCA1 and SLC16A11 genes. *GENE* 2015; <http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2015.03.065>
90. Cauchi S, et al. Meta-analysis and functional effects of the SLC30A8 rs13266634 polymorphism on isolated human pancreatic islets. *Molecular Genetics and Metabolims* 2010; 77-82

#### XIV. ANEXO A

### CARTA INFORMATIVA

Por este conducto, nos permitimos invitarla a participar en el estudio Asociación entre el polimorfismo rs13266634 del gen *SLC30A8* (proteína transportadora de zinc ZnT8) y las concentraciones de zinc, insulina y glucosa en mujeres adultas de la zona de Santa Fe de la Ciudad de México. Estudio Piloto.

El zinc participa en muchos procesos biológicos, por lo que su deficiencia tiene repercusiones graves para la salud. Las mujeres en edad reproductiva tienen mayor riesgo a presentar deficiencia de zinc. En la Ciudad de México, el 44% de las mujeres presentó deficiencia severa, aunado a que las mujeres son más propensas que los hombres a desarrollar alteraciones en las concentraciones de glucosa 10.3% vs 8.4% de acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016. La variante alélica rs13266634 del gen *SLC30A8* se asocia con una disminución en la secreción de la insulina provocando un aumento en las concentraciones de glucosa. La variante de riesgo es más frecuente en la población mexicana (75%) que en europeos (71.7%) o asiáticos (56.7%).

El presente trabajo pretende evaluar si existe una relación entre la prevalencia del rs13266634 del gen *SLC30A8* y la concentración de zinc, insulina y glucosa en la población mexicana

Si usted acepta, su participación en este estudio consistirá en:

- Asistir a una cita, a la cual deberá venir en ayuno.
- Aceptar que se le tome una muestra de 10ml de sangre, aproximadamente una cucharada sopera. La toma de sangre puede ocasionarle un moretón, pero esto es poco frecuente y las molestias son pasajeras. La toma de sangre se realizará por personal entrenado, con material nuevo y estéril.
- Ponerse una bata para pesarla y medirla.

La evaluación tendrá una duración aproximada de 30 minutos y los estudios serán gratuitos y la información confidencial.

XV. ANEXO B

CUESTIONARIO

Asociación entre el polimorfismo rs13266634 del gen *SLC30A8* (proteína transportadora de zinc ZnT8) y las concentraciones de zinc, insulina y glucosa en mujeres adultas de la zona de Santa Fe de la Ciudad de México. Estudio Piloto.

Nombre: \_\_\_\_\_ No. de expediente: \_\_\_\_\_

Fecha de nacimiento: \_\_\_\_\_ Dirección: \_\_\_\_\_

**Características sociales**

Estado civil: 1. Soltera \_\_\_\_\_ 2. Casada \_\_\_\_\_ 3. UL \_\_\_\_\_ 4. Otros \_\_\_\_\_

Escolaridad en años cumplidos: \_\_\_\_\_ Ocupación: \_\_\_\_\_

¿Cuántas personas viven en su domicilio? \_\_\_\_\_

¿Cuál es el total de habitaciones con que cuenta su hogar? NOTA: no incluya baños, pasillo, patios ni azotehuelas.

1. \_\_\_\_\_ 2. \_\_\_\_\_ 3. \_\_\_\_\_ 4. \_\_\_\_\_ 5. \_\_\_\_\_ 6. \_\_\_\_\_ 7. \_\_\_\_\_

¿Cuántos baños completos con regadera y WC hay para uso exclusivo de los integrantes de su hogar?

0. \_\_\_\_\_ 1. \_\_\_\_\_ 2. \_\_\_\_\_ 3. \_\_\_\_\_ 4. \_\_\_\_\_

En su hogar ¿cuenta con calentador de agua o boiler? 1. Si \_\_\_\_\_ 2. No \_\_\_\_\_

Contando los focos que utiliza para iluminar su hogar incluyendo los de techos, lámparas de buró, paredes o piso ¿cuántos focos tiene en su vivienda? \_\_\_\_\_

¿El piso de su hogar es predominantemente de tierra, de cemento o de algún otro tipo de acabado?

1. Tierra \_\_\_\_\_ 2. Cemento (firme) \_\_\_\_\_ 3. Otro tipo de material y acabado \_\_\_\_\_

¿Cuántos automóviles propios, excluyendo taxis, tienen en su hogar? \_\_\_\_\_



¿Cuenta su hogar con los siguientes aparatos, que funciones?

	1. Si	2. No
Lavadora de ropa		
Horno de microondas		
Tostador de pan		
Videocasetera o DVD		
Computadora		
Televisión		
aspiradora		

### Características biológicas

Fecha de la menarca: \_\_\_\_\_ Estatura cm: \_\_\_\_\_ Peso kg: \_\_\_\_\_

Marque por favor si tiene alguna de las siguientes enfermedades

	1. Si	2. No
Diabetes		
Cirrosis		
Acrodermatitis enteropática		
Alcoholismo		
Sprue		
Enfermedad de Crohn		
Síndrome de intestino irritable		

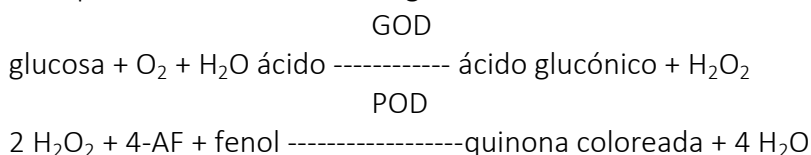
¿Ha consumido suplementos vitamínicos en los últimos tres meses? 1. Si \_\_\_\_\_ 2. No \_\_\_\_\_

## XVI. ANEXO C Determinación de glucosa

### Espectrofotómetro de absorción atómica

Fundamentos del método

El esquema de reacción es el siguiente:



#### REACTIVOS PROVISTOS

**A. Reactivo A:** solución de 4-aminofenazona 25mmol/l en Buffer Tris 0,92 mol/l.

**B. Reactivo B:** solución de fenol 55mmol/l.

**C. Reactivo C:** solución de glucosa oxidasa (1000U/ml) y peroxidasa (120U/ml).

**S. Standard:** solución de glucosa 1g/l

#### Concentraciones finales

GOD..... $\geq 3000\text{U/l}$

POD..... $\geq 400\text{U/l}$

4-AF.....1,25mM

Fenol.....2,75mM

pH.....7,4  $\pm$  0,1

#### INSTRUCCIONES PARA SU USO

**Standard:** listo para usar.

**Reactivo A:** listo para usar.

**Reactivo B:** listo para usar.

**Reactivo C:** homogeneizar por inversión antes de usar, evitando la formación de espuma.

**Reactivo de Trabajo:** de acuerdo al volumen de trabajo, colocar en una probeta 500 partes de agua destilada, 50 partes de Reactivo A, 50 partes de Reactivo B y llevar a 1000 partes con agua destilada. Agregar 3 partes de Reactivo C previamente homogeneizadas. Mezclar por inversión, sin agitar. Rotular y fechar.

Pueden prepararse distintas cantidades respetando las proporciones antes mencionadas. Es importante además, respetar el orden de agregado de los reactivos y asegurar una perfecta homogeneización de los mismos, a fin de que el Reactivo B no deteriore el Reactivo de Trabajo.

#### ALMACENAMIENTO

**Reactivos Provistos:** son estables en refrigerador (2-10° C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No mantener a temperaturas elevadas durante lapsos prolongados.

**Reactivo de Trabajo:** en refrigerador (2-10° C) y en frasco color caramelo es estable un mes a partir de la fecha de su preparación.

#### **MUESTRA**

Suero o plasma

**a) Recolección:** se debe obtener suero o plasma de la manera usual.

**b) Aditivos:** en caso de que la muestra a emplear sea plasma, se recomienda el uso de Anticoagulante G de Wiener.

**d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** los hematíes y leucocitos son los responsables de la destrucción

#### **PROCEDIMIENTO**

En tres tubos marcados B (Blanco) S (Standard) y D (Desconocido) colocar:

**Standard** - 20ul -

**Muestra** - - 20ul

**Reactivo de Trabajo** 2 ml de B, S y D

Incubar 10 minutos en baño de agua a 37°C. Luego leer en espectrofotómetro a 505nm o en fotocolorímetro con filtro verde (490-530nm) llevando el aparato a cero con el blanco.

#### **ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL**

El color de reacción final es estable 1 hora, por lo que la absorbancia debe ser leída dentro de este lapso.

#### **CALCULO DE LOS RESULTADOS**

glucosa g/l =  $D \times f$  donde  $f = \frac{1,00 \text{ g/l}}{S}$

S

## XVII. ANEXO D Determinación de zinc

### Espectrofotómetro de absorción atómica

La cuantificación de zinc se llevó a cabo por espectrofotometría de absorción atómica. La técnica de absorción atómica consiste en medir la cantidad de energía luminosa absorbida por los átomos cuando estos se encuentran en estado basal y a una longitud de onda determinada.

El número de átomos se incrementa en la trayectoria de la luz y la cantidad de luz absorbida también se incrementa, de tal manera que conociendo la cantidad de luz absorbida se puede determinar cuantitativamente la cantidad del analito presente en una muestra determinada.

## XVIII. ANEXO E Determinación de insulina

### Método ELISA

El kit insulina por el método de ELISA de dos sitios en fase sólida, está basado en la técnica de sándwich directo en que dos anticuerpos monoclonales son dirigidos a dos determinados antígenos separados de moléculas de insulina. La insulina en la muestra reacciona al conjugado enzimático anti-insulina-HRP y al anticuerpo antiinsulina unido al micropozo. Un simple paso de lavado remueve el conjugado enzimático no unido. El conjugado HRP unido es detectado gracias a la aplicación del sustrato. La reacción es frenada al agregar ácido para brindar una concentración colorimétrica que es leída utilizando un lector de ELISA

#### **Recolección de muestra**

Recolectar la sangre por venopunción y separar el suero de inmediato, de lo contrario, refrigerar la muestra a (2-8º C) por cinco días, en caso de exceder dicho plazo, congelar a -20º C hasta por un mes.

Previo al ensayo la mue deberá ser descongelada y homogeneizada.

#### **Preparación del reactivo**

Conjugado enzimático: preparar una solución 1X a 1:20 con el diluyente de ensayo requerido.

Solución de lavado: preparar una solución de lavado a 1X, adicionado el contenido de la botella (25ml, 20X) a 475ml de agua destilada. Conservar a temperatura ambiente.

## XIX. ANEXO F Extracción de ADN con el reactivo DNAzol

DNAzol® es un reactivo completo y listo para usar para el aislamiento de ADN genómico o viral de muestras sólidas y líquidas de origen humano, animal y vegetal. El procedimiento de DNAzol se basa en el uso de una solución de lisis de guanidina y detergente que hidroliza el ARN y promueve la precipitación selectiva del ADN del lisado celular. El DNAzol® es una solución no tóxica y el procedimiento no requiere el uso de fenoles. El ADN se puede obtener a partir de un gran número de muestras de pequeño o gran volumen; 50ml de DNAzol® son suficientes para procesar 50 muestras, cada una con 25 - 50mg de tejido. El aislamiento del ADN genómico se puede completar en 10-30 minutos con una recuperación del ADN de 70 - 100%. El ADN aislado se puede usar para análisis Southern, hibridación de transferencia de puntos, clonación molecular y reacción en cadena de la polimerasa. El procedimiento es el siguiente:

1. Inocular una colonia de *E. coli* en 10ml de LB, crecer hasta fase log tardía con agitación (37°C, 180 a 200rpm).
2. Centrifugar 10 minutos a 3.000rpm. Descartar sobrenadante con pipeta.
3. Agregar 250mcg de DNAzol. Homogeneizar bien con la pipeta para romper el pellet.
4. Centrifugar 10 minutos a 10.000rpm
5. Trasvasar el sobrenadante a otro tubo sin tocar el pellet.
6. Agregar 250mcg de etanol 100%. Mezclar con la pipeta.
7. Centrifugar a máxima durante 10 minutos.
8. Descartar el sobrenadante y lavar el pellet con 250mcg de etanol al 70%.
9. Centrifugar a máxima durante 5 minutos.
10. Dejar secar el pellet al aire (no colocar en secador).
11. Resuspender en agua bidestilada estéril. Vortear suavemente.
12. Medir concentración de ADN extraído.

## XX. ANEXO G Genotipificación

### TaqMAN

Para los experimentos de genotipado, el tipo de ensayo Custom (Personalizado) incluye Custom TaqMan® SNP Genotyping Assays. Custom TaqMan SNP Genotyping Assays son conjuntos de cebadores y sondas TaqMan MGB con el marcaje de los fluorocromos FAM y VIC que están diseñados, sintetizados y formulados por el servicio Custom TaqMan® Genomic Assays de acuerdo con la información de secuencia remitida. La mezcla del ensayo está disponible en un solo tubo de 40X u 80X preformulado.

**XXI. ANEXO H CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Marque con una paloma la opción elegida

	1. Si	2. No
¿Usted ha comprendido la carta informativa?		
¿Usted está dispuesta a venir en ayuno a la cita?		
¿Usted está de acuerdo en que se le tome una muestra de sangre?		
¿Sabe usted que este estudio es totalmente gratuito?		
¿Sabe usted que su participación es voluntaria y podrá retirarse cuando guste?		
¿sabe usted que la información que nos proporcioné será confidencial?		

Si usted contestó **NO** a alguna pregunta, usted no está dispuesta a participar en este estudio.

Si usted ha contestado **SI** a todas la preguntas y acepta participar en este estudio firme por favor.

\_\_\_\_\_  
Nombre de la participante

\_\_\_\_\_  
Firma

**Testigos:**

\_\_\_\_\_  
Nombre

\_\_\_\_\_  
Parentesco

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Nombre

\_\_\_\_\_  
Parentesco

\_\_\_\_\_  
Firma

FECHA: \_\_\_\_\_