



Variaciones de número de copias: marcadores y predictores de diabetes tipo 2

Alan Gilberto Ramírez-Valverde,^a Diana Lizzete Antúnez-Ortiz,^a Alberto Méndez-Beleche,^a Eugenia Flores-Alfaro,^b Iván de Jesús Ascencio-Montiel,^c Miguel Cruz^a

Copy number variation: markers and predictors for type 2 diabetes

Type 2 diabetes (T2D) is a disease characterized by a deficiency in production or action of insulin. It is the result mainly of the interaction of the environment, lifestyle, as well as genetic factors. It is considered as one of the major health issues in the world because it affects severely the psychological well-being and overall life quality. Recently it has been shown that DNA copy number variations (CNVs) are associated with several diseases, including obesity and T2D. The CNVs are present from 9 to 18 % of the genome and can modify the expression levels of mRNA and proteins encoded by genes located near their localization. Less is known about their contribution to the pathogenesis of metabolic diseases, which is necessary to characterize so that these variations can be potentially used as biomarkers of genetic risk CNVs of T2D.

Keywords Palabras clave

Type 2 diabetes	Diabetes tipo 2
DNA copy number variation	Variaciones en el número de copia de ADN
Single nucleotide polymorphism	Polimorfismo de un solo nucleótido

La diabetes tipo 2 (DT2) es un desorden metabólico caracterizado por hiperglucemia crónica con alteraciones en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas. Se origina por un defecto en la secreción y/o acción de la insulina.¹ Esta epidemia es reconocida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una amenaza mundial. Se calcula que en el mundo existen más de 346 millones de personas con DT2 y ocurren 3.4 millones de muertes por las complicaciones. Se prevé que aumente más del doble para el año 2030,² situación que también representa un problema de salud pública en México.³ La prevalencia del padecimiento se estimó en 14.42 % según la ENSANUT 2006, que representa 7.3 millones de mexicanos mayores de 20 años de edad.⁴ En la ENSANUT 2012 sobre prevalencia de DT2, se demostró un 9.2 % por diagnóstico médico previo, mayor a lo reportado en la encuesta anterior.⁵

La DT2 es una enfermedad multifactorial, con una alta influencia de la genética del individuo. Los factores asociados en la población mexicana son la edad, la escolaridad baja, la coexistencia de enfermedad renal o hipercolesterolemia y la obesidad abdominal.^{6,7} En cuanto a las variaciones genéticas se ha observado que la presencia de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, del inglés single nucleotide polymorphisms) se asocia a obesidad y a DT2.⁸ A la fecha se han identificado 70 *loci* asociados con DT2; de esta manera, se ha demostrado un mayor riesgo para el desarrollo de diabetes en portadores de SNP en los genes *FTO* y *MC4R* con una dieta inadecuada,⁹ así como disminución del riesgo para DT2 en portadores de SNP en *TCF7L2* sometidos a intervenciones en el estilo de vida.¹⁰ A pesar de contar con más 70 genes implicados, los casos atribuibles a estos SNP no exceden el 10 % del total de casos de DT2, por lo que se han explorado nuevas posibilidades, como las variaciones en el número de copias (CNV).

^aUnidad de Investigación Médica en Bioquímica, Hospital de Especialidades "Bernardo Sepúlveda", Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, Distrito Federal

^bUnidad Académica de Ciencias Químico Biológicas, Universidad Autónoma de Guerrero, Chilpancingo, Guerrero

^cCoordinación de Vigilancia Epidemiológica, Unidad de Atención Primaria a la Salud, Dirección de Prestaciones Médicas, Instituto Mexicano del Seguro Social, Distrito Federal

México

Comunicación con: Miguel Cruz

Teléfono: (55) 5761 2358

Correo electrónico: mcruzl@yahoo.com

Recibido: 30/06/2014

Aceptado: 15/07/2014

La diabetes tipo 2 (DT2) es una enfermedad caracterizada por una deficiencia en la producción o acción de la insulina; es el resultado de la interacción principalmente de factores ambientales, el estilo de vida, así como factores genéticos. Se considera como uno de los problemas de salud más importantes en el mundo debido a que afecta seriamente la independencia, el bienestar psicológico y en general la calidad de vida. Recientemente se ha demostrado que las variaciones en el número de copias de ADN (CNV, del inglés copy

number variations) se asocian con diferentes enfermedades, entre ellas la obesidad y DT2. Las CNV se presentan en el 9 al 18 % del genoma y pueden modificar los niveles de expresión de mRNA y proteína codificados por genes cercanos a su ubicación. Poco se conoce acerca de su contribución en la patogénesis de las enfermedades metabólicas, por lo cual es necesario caracterizar estas variaciones para que potencialmente sean utilizadas como biomarcadores genéticos de riesgo de DT2.

Resumen

Diversidad genética en la población mexicana

La población mexicana se caracteriza por un alto grado de diversidad genética. La población está formada de una mezcla de genes nativos amerindios que oscila entre el 49 y el 65 %, de europeos entre 30 y 45.8 % y africanos del este entre 1.8 y 6 %, dependiendo de la región geográfica del país estudiada.¹¹⁻¹⁴ De esta manera, en la actualidad se han demostrado variantes genéticas asociadas a población europea y para población amerindia, entre otras. La medición de la ancestría en estudios genéticos en poblaciones con mezclas étnicas es necesaria, dado que la estratificación constituye un factor de confusión para las asociaciones genéticas.¹⁵ Las diferencias étnicas entre la población mexicana y las poblaciones de origen europeo, en quienes se han realizado la mayor parte de los estudios de asociación genómica (GWAS, por sus siglas en inglés: genome-wide association studies), han evidenciado diferencias en las señales genéticas asociadas a la DT2.¹⁶⁻¹⁸ En el primer GWAS para DT2 realizado en mexicanos se demostró replicación de únicamente cuatro regiones génicas del total de las 46 regiones reportadas en la literatura en el 2011 (*HNF1A*, *KCNQ1*, *CDKN2A*, *CDKN2B*).¹⁹ Hasta este momento, se han descrito 18 genes *loci* asociados a DT2 en población mexicana, los cuales han sido obtenidos en su mayoría de estudios comparativos y de casos y controles (cuadro I). Recientemente un metaanálisis de 26 488 casos de DT2 y 83 964 controles de origen europeo, de Asia del este, de Asia del sur, mexicano y méxicoamericano demostró siete *loci* asociados a diabetes, independientemente de su ancestría (*TMEM154*, *SSR1-RREB1*, *FAF1*, *POU5F1-TCF19*, *LPP*, *ARL15*, *MPHOSPH9*).¹⁶

Variantes de número de copia en el genoma

El genoma humano varía como resultado de los cambios en su secuencia y estructura. Las variaciones en la

secuencia comprenden a los SNP y a pequeñas inserciones y eliminaciones (deleciones) de unos pocos nucleótidos. La variación estructural comprende las CNV y las aneuploidías cromosómicas.³⁷ Mediante el análisis completo del genoma y al utilizar arreglos basados en hibridación genómica comparativa y otros tipos de tecnologías de escaneo del genoma se han identificado y clasificado las CNV de acuerdo con su tamaño. Típicamente los fragmentos de ADN son mayores a 1 kb, cuya diferencia en número de copias se evidencia al comparar con dos o más genomas,³⁸ y comprenden inserciones, eliminaciones, traslocaciones e inversiones del material genómico.³⁹ Se considera que al menos el 12 % del genoma humano contiene CNV.⁴⁰ Estos son comunes entre los individuos sanos; de hecho, dos personas serán diferentes en el número de copias alrededor del 0.78 % de sus genomas.⁴¹ Inicialmente, las CNV fueron identificadas durante los estudios específicos de *locus*⁴² o durante el análisis de las familias de genes.⁴³ La identificación de las CNV a través de todo el genoma puede realizarse mediante secuenciación o bien mediante microarreglos. El uso de los microarreglos ha sido el instrumento más utilizado que ha permitido avanzar en el conocimiento de las CNV.⁴⁴ Actualmente se ha determinado que las CNV pueden afectar la variación fenotípica humana y contribuir a la proclividad a enfermedades tales como el autismo,⁴⁵ la psoriasis,⁴⁶ la esquizofrenia,⁴⁷ la obesidad⁴⁸ y la enfermedad de Crohn.⁴⁹

Impacto funcional de las CNV

Las CNV presentes en los genes pueden influenciar los niveles de expresión tanto del ARNm como la proteína. Se estima que entre 9 y 18 % de la variación heredable puede estar asociada con el número de copias.⁵⁰ Además es posible que las CNV afecten directa o indirectamente la expresión de genes vecinos, por ejemplo,

Cuadro I *Loci* asociados con diabetes tipo 2 (DT2) en población mexicana

Autor, año	Gen/Locus	Nombre del gen	Localización	Asociación
Ortega-Pierres, 2007 ²⁰	<i>ACE</i>	Enzima convertidora de angiotensina I	17q23.3	Nefropatía diabética
Santos, 2002 ²¹	<i>APOE</i>	Apolipoproteína E	19q13.2	Edema macular
Del Bosque-Plata, 2004 ²²	<i>CAPN10</i>	Calpaina 10	2q37.3	Diabetes tipo 2
Gamboa-Meléndez, 2012 ²³	<i>CDK-N2AIPNL</i>	Proteína N-terminal de interacción CDKN2A	5q31.1	Diabetes tipo 2
	<i>CDKN2A</i>	Inhibidor de ciclina dependiente de cinasa 2A	9p21	Diabetes tipo 2
Quiroz-Mercado, 2002 ²⁴	<i>HLADR7</i>	HLA-DR7	6p21.3	Retinopatía diabética
Pérez-Luque, 2003 ²⁵	<i>HLADB1</i>	HLADB1	6p21.3	Diabetes tipo 2 y enfermedad renal terminal
Weissglas-Volkov, 2006 ²⁶	<i>HNF1A</i>	HNF1 homebox A	12q24.2	Diabetes tipo 2 y niveles de lípidos
Martínez-Gómez, 2011 ²⁷	<i>IRS1</i>	Sustrato 1 de receptor de insulina	2q36	Diabetes tipo 2
Long, 2012 ²⁸	<i>IGF2BP2</i>	Proteína de unión a ARNm del factor de crecimiento similar a insulina	3q27.2	Diabetes tipo 2
Valladares-Salgado, 2010 ²⁹	<i>LTBP1</i>	Proteína de unión al factor de crecimiento transformante beta 1 latente	2p22-p21	Nefropatía diabética
Gutiérrez-Vidal, 2011 ³⁰	<i>LOC387761</i>	LOC387761	11p12	Diabetes tipo 2
Cameron, 2007 ³¹	<i>MGEA5</i>	Antígeno 5 de expresión en meningioma	10q24.1-q24.3	Diabetes tipo 2
Campbell, 2012 ³²	<i>KCNQ1</i>	Miembro 1 de la subfamilia KQT de canales de K voltaje-dependiente	11p15.5	Diabetes tipo 2
Williams, 2014 ³³	<i>SLC16A11</i>	Miembro 11 de la familia de acarreadores de solutos 16	17p13.1	Diabetes tipo 2
Huertas-Vázquez, 2008 ³⁴	<i>TCF7L2</i>	Factor de transcripción 7 similar a 2	10q25.3	Diabetes tipo 2 y niveles de triglicéridos
Pérez-Luque, 2012 ³⁵	<i>TNF</i>	Factor de necrosis tumoral	6p21.3	Diabetes tipo 2
Duggirala, 1999 ³⁶	<i>10q</i>	---	10q	Diabetes tipo 2

la eliminación de regiones reguladoras (como aumentadores) disminuye la expresión del gen blanco y la cantidad de proteína producida. Por otro lado, la pérdida de regiones exónicas produce isoformas de la proteína que frecuentemente no es funcional.⁵¹ Otra explicación alternativa para la modificación observada en los niveles relativos de expresión de genes mapeados cerca de CNV sobre los cambios de su número de copias se basa en la evidencia reciente de la transcripción de todo el genoma.⁵² Estudios recientes revelan que múltiples regiones transcripcionalmente activas se asocian para formar una gran variedad de transcritos en un *locus* dado con más de la mitad, las cuales son transcripciones alternativas no codificantes de genes codificadores de proteínas. Del mismo modo, los genes utilizan el promotor de los genes vecinos en células y etapas de desarrollo específicas.⁵³

Se ha descrito la aparición de la transcripción inducida de quimeras, mediante la cual los exones en tándem son transcritos en una sola molécula de ARNm, que parece ser generalizada y que afecta a más de la mitad de los *loci* investigados (figura 1).⁵⁴

Estos genes podrían tener varias regiones reguladoras alternativas, independientes de promotores, y con frecuencia se superponen sus límites con los de otros genes, además de que es posible que se modifique el nivel relativo de expresión de esta unidad de transcripción.⁵⁵

Antecedentes científicos: CNV y DT2

Se cuenta con pocos estudios que evalúan la asociación entre las CNV y la DT2 (cuadro II).

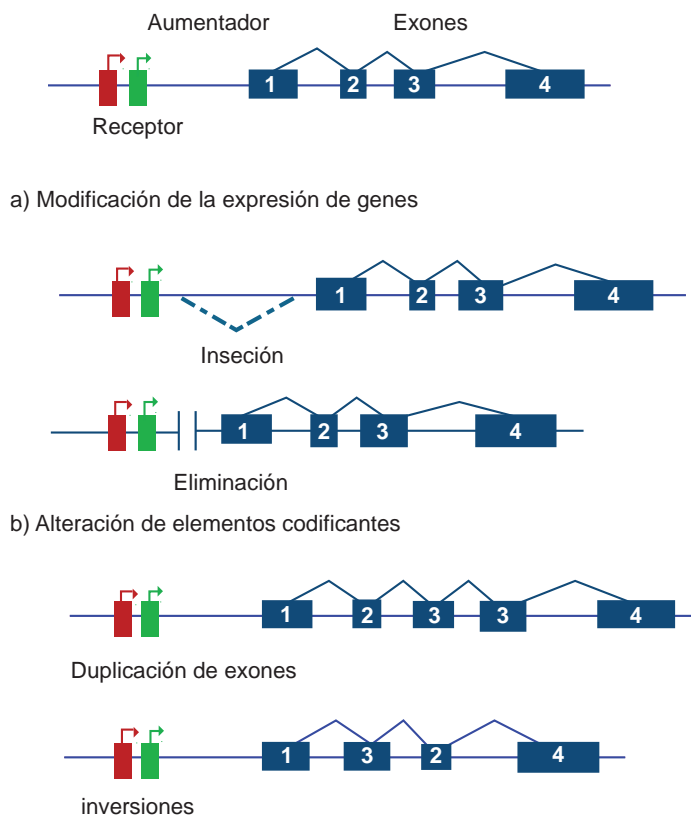
En 2010, Jeon *et al.* encontraron una asociación entre DT2 y el número de copias < 2 en el gen *LEPR* (razón de momios [RM] 1.92) en 137 casos y 258 controles de origen coreano.⁵⁹ En estudios conducidos en población asiática y publicados en 2011, Kudo *et al.* reportaron la asociación entre eliminación de la región 4p16.3 y la DT2 de inicio temprano en 100 casos y 100 controles de origen japonés;⁶⁰ en tanto Bae *et al.*, en un estudio de 275 casos y 496 controles de origen coreano, reportaron tres regiones asociadas (15q21.1,

22q11.22 y 22q11.22) a DT2.⁶¹ En un estudio publicado en *Nature* en 2010, se encontró una asociación entre la región de número variable CNVR5583.1 (rs1798090), localizada en el gen de tetraspanina 8 (*TSPAN8*) 12q14.1 y la DT2, demostrada en 2000 casos de DT2 y 3000 controles.⁶² De manera similar, utilizando las muestras de pacientes genotipificadas con el microarreglo Affymetrix Mapping 500K, Chen *et al.* identificaron tres regiones asociadas a la DT2 (1p34.3, rs16824514; 1q41, rs337147; y 19q13.2, rs2016070) utilizando una nueva estrategia de análisis de asociaciones de CNV en GWAS.⁶³ En un estudio publicado en 2011 por Grassi *et al.* se encontró asociación entre la retinopatía diabética severa y la región CNVR6685.1 de 28.5 Mb, localizada en el intrón del gen *CCDC101* ($p = 3.4 \times 10^{-6}$) en el cromosoma 16p11.2. El estudio incluyó 281 sujetos con retinopatía diabética y 1856 controles.⁶⁴ En 2011 Irvin *et al.* publicaron un estudio realizado en 1040 afroamericanos sin diabetes para buscar la asociación entre los niveles de insulina y la resistencia a la insulina (medida por el HOMA-IR) con las CNV. Para los niveles de insulina se asociaron dos regiones (rs10277702 y rs361367 del gen *TCRVB*; rs12552047 en cromosoma 9), mientras que para la resistencia a la insulina los cuatro marcadores (rs10277702 y rs361367 del gen *TCRVB*; rs13003829 del gen *ARHGEF4*; y rs12509348 del gen *DCK*). Así, las asociaciones más significativas se dieron con el gen *TCRVB*.⁶⁵ En 2012, Plengvidhya *et al.* condujeron un estudio de casos y controles en 305 pacientes con DT2 y 250 controles del Hospital Siriraj, de Bangkok, Tailandia, para buscar CNV en la región del gen *CAPN10*. No se encontraron diferencias en la presencia de duplicaciones o eliminaciones entre casos y controles (3.9 frente a 2.9, 1.3 frente a 0.3, $p = 0.692$); sin embargo, la inserción/eliminación (in/del) 19 se encontró asociada con la DT2 en el modelo recesivo (RM: 0.66, IC 95 %: 0.47-0.94, $p = 0.022$).⁶⁶ Recientemente en un estudio realizado en 1677 sujetos mexicanoamericanos en San Antonio, Texas, se estudió la heredabilidad de 2937 CNV detectadas mediante los algoritmos PennCNV y QuantiSNP; se encontraron regiones con bajas frecuencias (0.2 %) y 765 previamente no reportadas.⁶⁷

Conclusiones y perspectivas

La diabetes es una enfermedad metabólica multifactorial con grado variable de predisposición hereditaria y que se origina principalmente por la exposición a factores ambientales. La enfermedad se caracteriza por hiperglucemia persistente debido a la deficiencia en la producción o acción de la insulina, lo cual afecta el metabolismo de los carbohidratos, proteínas y gra-

Figura 1 Influencia de las CNV en el genoma



La presencia de las CNV afecta la expresión del gen a nivel del mRNA y de la proteína: a) La presencia de inserciones o eliminaciones a nivel de regiones reguladoras de la transcripción (aumentador y represor) impiden la interacción de estas con el promotor del gen, lo que lleva a una disminución de su expresión. b) La duplicación de exones y la inversión de regiones codificantes lleva a la producción de proteínas quiméricas (modificado de Hurles *et al.*, 2008⁶⁶).

sas. Los datos epidemiológicos indican que el riesgo de padecer esta enfermedad es más alto en poblaciones de origen amerindio que en poblaciones de origen europeo. Además, existe evidencia que indica que hay factores genéticos de riesgo implicados en dichas diferencias de prevalencia. México es de los países con mayor ocurrencia de DT2 a nivel mundial y esto está relacionado con las diferencias genéticas de la población mexicana, aunadas a la exposición ambiental. Diversos estudios se han enfocado en conocer las variaciones genómicas que contribuyen a la proclividad a la enfermedad. De esta manera se han caracterizado los SNP y las CNV como factores que contribuyen a la diversidad genética entre individuos. Las CNV son variantes en el genoma de tamaño mayor a 1 kb; se encuentran en aproximadamente del 9 al 18 % del genoma y afectan a genes cercanos y modifican su expresión a nivel del ARNm y de la proteína. Esta variabilidad representa la base para

Cuadro II Antecedentes científicos de estudios de las CNV y diabetes tipo 2

Autor, Año	N (casos/controles)	Población	Microarreglo	Hallazgos
Shtir, 2009 ⁵⁷	407 (194 213)	Caucásica	Affymetrix 500K	No asociación
Wang, 2009 ⁵⁸	256 (128 128)	Africana/caucásico-americana	PCR	No asociación con región 1q
Jeon, 2010 ⁵⁹	395 (137 258)	Coreana	Affymetrix 50K	Delección Gen LEPR
Kudo, 2011 ⁶⁰	200 (100 100)	Japonesa	deCODE-Illumina CNV 370K Bead Chip	Región 4p16.3
Bae, 2011 ⁶¹	771 (275 496)	Coreana	Illumina HumanHap 300 BeadChip	Regiones 15q21.1, 22q11.22 y 22q11.22
Craddock, 2010 ⁶²	5000 (2000 3000)	Caucásica	Aglient CGH, Nimble-Gen CGH, Illumina iSelect	Región 12q14.1, CNVR5583.1(rs 1798090) el gen TSPAN8
Chen, 2010 ⁶³	5000 (2000 3000)	Caucásica	Affymetrix 500K	1p34.3 (gen INPP5B), 1q41, gen MOSC2 y 19q13.2
Grassi, 2011 ⁶⁴	2137 (281 1856)	Caucásica	Affymetrix 5.0	Retinopatía diabética y CNVR6685, 1 gen CCDC 101
Irvin, 2011 ⁶⁵	1040	Africana-Americana (sin diabetes)	Affymetrix 6.0	Asociación gen TCRVB y resistencia a la insulina
Plengvidhya, 2012 ⁶⁶	555 (305 250)	Tailandesa	PCR multiple	No asociación CNVs-DT2 en gen CAPN10
Blackburn, 2013 ⁶⁷	1677	Mexicoamericana	Illumina Infinium Beadchip	765 CNVs previamente no reportados

CNV = variación en el número de copias

diferentes características fenotípicas asociadas con las CNV. A pesar de su importancia, las CNV han sido poco estudiadas, por lo cual es importante continuar analizándolas para determinar su tamaño y ubicación y, de esta manera, conocer su contribución a la fisiopatología de la enfermedad. Las CNV afectan regiones importantes del genoma, las cuales están implicadas en diversas vías de señalización y son metabólicas, por lo que la comprensión de sus mecanismos de acción es requisito previo para considerar posibles estrategias

pronósticas, preventivas y de tratamiento para la DT2, no sin reiterar el papel de las modificaciones al estilo de vida como el principal esfuerzo para el control de esta patología

Declaración de conflicto de interés: los autores han completado y enviado la forma traducida al español de la declaración de conflictos potenciales de interés del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, y no fue reportado alguno en relación con este artículo.

Referencias

- World Health Organization. Department of Noncommunicable Disease Surveillance Geneva. Definition, Diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Report of a WHO consultation. Part 1. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. WHO/NCD/NCS/99.2 Disponible en http://whqlibdoc.who.int/hq/1999/who_ncd_ncs_99.2.pdf. [Último acceso 15 de marzo de 2014.]
- Organización Mundial de la Salud. Diabetes. Datos Fundamentales. Disponible en <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/index.html>. [Último acceso 10 de marzo de 2014.]
- Hunt KJ, Gonzalez ME, Lopez R, Haffner SM, Stern MP, Gonzalez-Villalpando C. Diabetes is more lethal in Mexicans and Mexican-Americans compared to Non-Hispanic whites. *Annals of epidemiology*. 2011;21:899-906.
- Villalpando S, de la Cruz V, Rojas R, Shamah-Levy T, Avila MA, Gaona B et al. Prevalence and distribution of type 2 diabetes mellitus in Mexican adult population: a probabilistic survey. *Salud Publica Mex*. 2010;52 Suppl 1, S19-26.
- Gutierrez J, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Villalpando-Hernandez S, Franco A, Cuevas-Nasu L et al. Encuesta nacional de salud y nutrición 2012. Instituto Nacional de Salud Publica, Cuernavaca.
- Schulze MB, Hoffmann K, Boeing H, Linseisen J, Rohrmann S, Møhlig M et al. An accurate risk score based on anthropometric, dietary, and lifestyle factors to predict the development of type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2007;30,510-5.
- Ali O. Genetics of type 2 diabetes. *World journal of diabetes*. 2013;4:114-23.
- Murea M, Ma L, Freedman BI. Genetic and environ-

- mental factors associated with type 2 diabetes and diabetic vascular complications. The review of diabetic studies. *Rev Diabet Stud.* 2012;9:6-22.
9. Ortega-Azorin C, Sorli JV, Asensio EM, Coltell O, Martínez-González MA, Salas-Salvado J, et al. Associations of the FTO rs9939609 and the MC4R rs17782313 polymorphisms with type 2 diabetes are modulated by diet, being higher when adherence to the Mediterranean diet pattern is low. *Cardiovascular diabetology.* 2012;11:137.
 10. Florez JC, Jablonski KA, Bayley N, Pollin TI, de Bakker PI, Shuldiner AR, et al. TCF7L2 polymorphisms and progression to diabetes in the Diabetes Prevention Program. *The New England Journal of Medicine.* 2006;355:241-50.
 11. McCarthy MI, Zeggini E. Genome-wide association studies in type 2 diabetes. *Current diabetes reports,* 2009;9:164-71.
 12. Galanter JM, Fernández-López JC, Gignoux CR, Barnholtz-Sloan J, Fernández-Rozadilla C, Via M, et al. Development of a panel of genome-wide ancestry informative markers to study admixture throughout the Americas. *PLoS genetics.* 2012;8:e1002554.
 13. Martínez-Fierro ML, Beuten J, Leach RJ, Parra EJ, Cruz-López M, Rangel-Villalobos H, et al. Ancestry informative markers and admixture proportions in northeastern Mexico. *Journal of Human Genetics.* 2009;54:504-9.
 14. Silva-Zolezzi I, Hidalgo-Miranda A, Estrada-Gil J, Fernández-López JC, Uribe-Figueroa L, Contreras A, et al. 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.* 2009;106, 8611-6.
 15. Salazar-Flores J, Dondiego-Aldape R, Rubi-Castellanos R, Anaya-Palafox M, Nuno-Arana I, Canseco-Avila LM, et al. Population structure and paternal admixture landscape on present-day Mexican-Mestizos revealed by Y-STR haplotypes. *American Journal of Human Biology: The Official Journal of the Human Biology Council.* 2010;22:401-9.
 16. (2014). Genome-wide trans-ancestry meta-analysis provides insight into the genetic architecture of type 2 diabetes susceptibility. *Nature genetics.* 46, 234-44.
 17. Krithika S, Valladares-Salgado A, Peralta J, Escobedo-de La Peña J, Kumate-Rodríguez J, Cruz M, et al. Evaluation of the imputation performance of the program IMPUTE in an admixed sample from Mexico City using several model designs. *BMC Medical Genomics.* 2012;5:12.
 18. Villarreal-Molina MT, Flores-Dorantes MT, Arellano-Campos O, Villalobos-Comparan M, Rodríguez-Cruz M, Miliar-García A, et al. Association of the ATP-binding cassette transporter A1 R230C variant with early-onset type 2 diabetes in a Mexican population. *Diabetes.* 2008;57:509-13.
 19. Parra EJ, Below JE, Krithika S, Valladares A, Barta JL, Cox NJ, et al. Genome-wide association study of type 2 diabetes in a sample from Mexico City and a meta-analysis of a Mexican-American sample from Starr County, Texas. *Diabetologia.* 2011;54:2038-46.
 20. Ortega-Pierres LE, Gómez García A, Rodríguez Ayala E, Figueroa-Núñez B, Fariás-Rodríguez VM, Higareda-Mendoza AE, et al. [Angiotensin-1 converting enzyme insertion/deletion gene polymorphism in a Mexican population with diabetic nephropathy]. *Medicina Clínica.* 2007;129:6-10.
 21. Santos A, Salguero ML, Gurrola C, Muñoz F, Roig-Melo E, Panduro A. The epsilon4 allele of apolipoprotein E gene is a potential risk factor for the severity of macular edema in type 2 diabetic Mexican patients. *Ophthalmic Genetics.* 2002;23:13-19.
 22. Del Bosque-Plata L, Aguilar-Salinas CA, Tusie-Luna MT, Ramírez-Jiménez S, Rodríguez-Torres M, Auro-Gómez M et al. Association of the calpain-10 gene with type 2 diabetes mellitus in a Mexican population. *Molecular Genetics and Metabolism.* 2004;81:122-6.
 23. Gamboa-Meléndez MA, Huerta-Chagoya A, Moreno-Macias H, Vázquez-Cardenas P, Ordóñez-Sánchez ML, Rodríguez-Guillen R, et al. Contribution of common genetic variation to the risk of type 2 diabetes in the Mexican Mestizo population. *Diabetes.* 2012;61:3314-21.
 24. Quiroz-Mercado H, Suárez-Licona A, Fromow-Guerra J, López-Carasa G, Cardenas-Hernández R, Ruiz-Morales JA, et al. Human lymphocyte antigen DR7 protects against proliferative retinopathy with type II diabetes mellitus. *Archives of Medical Research.* 2002;33:123-7.
 25. Pérez-Luque E, Alaez C, Malacara JM, Garay ME, Fajardo ME, Nava LE, et al. Protective effect of DRB1 locus against type 2 diabetes mellitus in Mexican Mestizos. *Human Immunology.* 2003;64:110-8.
 26. Weissglas-Volkov D, Huertas-Vázquez A, Suviolahti E, Lee J, Plaisier C, Canizales-Quinteros S, et al. Common hepatic nuclear factor-4alpha variants are associated with high serum lipid levels and the metabolic syndrome. *Diabetes.* 2006;55:1970-7.
 27. Martínez-Gómez LE, Cruz M, Martínez-Nava GA, Madrid-Marina V, Parra E, García-Mena J, et al. A replication study of the IRS1, CAPN10, TCF7L2, and PPARG gene polymorphisms associated with type 2 diabetes in two different populations of Mexico. *Annals of Human Genetics.* 2011;75:612-20.
 28. Long J, Edwards T, Signorello LB, Cai Q, Zheng W, Shu XO, et al. Evaluation of genome-wide association study-identified type 2 diabetes loci in African Americans. *American Journal of Epidemiology.* 2012;176:995-1001.
 29. Valladares-Salgado A, Angeles-Martínez J, Rosas M, García-Mena J, Utrera-Barillas D, Gómez-Díaz R, et al. Association of polymorphisms within the transforming growth factor-beta1 gene with diabetic nephropathy and serum cholesterol and triglyceride concentrations. *Nephrology (Carlton, Vic).* 2010;15:644-8.
 30. Gutiérrez-Vidal R, Rodríguez-Trejo A, Canizales-Quinteros S, Herrera-Cornejo M, Granados-Silvestre MA, Montufar-Robles I, et al. LOC387761 polymorphism is associated with type 2 diabetes in the Mexican population. *Genetic Testing and Molecular Biomarkers.* 2011;15:79-83.
 31. Cameron EA, Martínez-Marignac VL, Chan A, Valladares A, Simmonds LV, Wacher N, et al. MGEA5-

- 14 polymorphism and type 2 diabetes in Mexico City. *American Journal of Human Biology. The Official Journal of the Human Biology Council.* 2007;19:593-6.
32. Campbell DD, Parra MV, Duque C, Gallego N, Franco L, Tandon A, et al. Amerind ancestry, socioeconomic status and the genetics of type 2 diabetes in a Colombian population. *PLoS One.* 2012;7:e33570.
 33. Williams AL, Jacobs SB, Moreno-Macias H, Huerta-Chagoya A, Churchhouse C, Marquez-Luna C, et al. Sequence variants in SLC16A11 are a common risk factor for type 2 diabetes in Mexico. *Nature.* 2014;506:97-101.
 34. Huertas-Vazquez A, Plaisier C, Weissglas-Volkov D, Sinsheimer J, Canizales-Quinteros S, Cruz-Bautista I, et al. TCF7L2 is associated with high serum triacylglycerol and differentially expressed in adipose tissue in families with familial combined hyperlipidaemia. *Diabetologia.* 2008;51:62-9.
 35. Perez-Luque E, Malacara JM, Garay-Sevilla ME, Fajardo ME. Association of the TNF-alpha -308G/A polymorphism with family history of type 2 diabetes mellitus in a Mexican population. *Clinical Biochemistry.* 2012;45:12-5.
 36. Duggirala R, Blangero J, Almasy L, Dyer TD, Williams KL, Leach RJ, et al. Linkage of type 2 diabetes mellitus and of age at onset to a genetic location on chromosome 10q in Mexican Americans. *American Journal of Human Genetics.* 1999;64:1127-40.
 37. Feuk L, Carson AR, Scherer SW. Structural variation in the human genome. *Nature Reviews Genetics.* 2006;7:85-97.
 38. Lee C, Scherer SW. The clinical context of copy number variation in the human genome. *Expert Reviews in Molecular Medicine.* 2010;12:e8.
 39. Estivill X, Armengol L. Copy number variants and common disorders: filling the gaps and exploring complexity in genome-wide association studies. *PLoS Genet.* 2007;3:1787-99.
 40. Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, Feuk L, Perry GH, Andrews TD, et al. Global variation in copy number in the human genome. *Nature.* 2006;444:444-54.
 41. Conrad DF, Pinto D, Redon R, Feuk L, Gokcumen O, Zhang Y, et al. Origins and functional impact of copy number variation in the human genome. *Nature.* 2010; 464:704-12.
 42. Barber JC, Joyce CA, Collinson MN, Nicholson JC, Willatt LR, Dyson HM, et al. Duplication of 8p23.1: a cytogenetic anomaly with no established clinical significance. *Journal of Medical Genetics.* 1998;35:491-6.
 43. Trask BJ, Friedman C, Martin-Gallardo A, Rowen L, Akinbami C, Blankenship J, et al. Members of the olfactory receptor gene family are contained in large blocks of DNA duplicated polymorphically near the ends of human chromosomes. *Hum Mol Genet.* 1998;7:13-26.
 44. Zhang X, Du R, Li S, Zhang F, Jin L, Wang H. Evaluation of copy number variation detection for a SNP array platform. *BMC Bioinformatics.* 2014;15:50.
 45. Sebat J, Lakshmi B, Malhotra D, Troge J, Lese-Martin C, Walsh T, et al. Strong association of de novo copy number mutations with autism. *Science.* 2007;316:445-9.
 46. Huffmeier U, Bergboer JG, Becker T, Armour JA, Traupe H, Estivill X, et al. Replication of LCE3C-LCE3B CNV as a risk factor for psoriasis and analysis of interaction with other genetic risk factors. *The Journal of Investigative Dermatology.* 2010;130:979-84.
 47. McCarthy SE, Makarov V, Kirov G, Addington AM, McClellan J, Yoon S, et al. Microduplications of 16p11.2 are associated with schizophrenia. *Nat Genet.* 2009;41:1223-7.
 48. Bochukova EG, Huang N, Keogh J, Henning E, Purmann C, Blaszczak K, et al. Large, rare chromosomal deletions associated with severe early-onset obesity. *Nature.* 2010;463:666-70.
 49. McCarroll SA, Huett A, Kuballa P, Chilewski SD, Landry A, Goyette P, et al. Deletion polymorphism upstream of IRGM associated with altered IRGM expression and Crohn's disease. *Nat Genet.* 2008;40:1107-12.
 50. Stranger BE, Forrest MS, Dunning M, Ingle CE, Beazley C, Thorne N, et al. Relative impact of nucleotide and copy number variation on gene expression phenotypes. *Science.* 2007;315:848-53.
 51. Reymond A, Henrichsen CN, Harewood L, Merla G. Side effects of genome structural changes. *Current Opinion in Genetics & Development.* 2007;17:381-6.
 52. Denoeud F, Kapranov P, Ucla C, Frankish A, Castelo R, Drenkow J, et al. Prominent use of distal 5' transcription start sites and discovery of a large number of additional exons in ENCODE regions. *Genome Research.* 2007;17:746-59.
 53. Branco MR, Pombo A. Intermingling of chromosome territories in interphase suggests role in translocations and transcription-dependent associations. *PLoS Biology.* 2006;4:e138.
 54. Parra G, Reymond A, Dabbouseh N, Dermitzakis ET, Castelo R, Thomson TM, et al. Tandem chimerism as a means to increase protein complexity in the human genome. *Genome Research.* 2006;16:37-44.
 55. Perry GH. The evolutionary significance of copy number variation in the human genome. *Cytogenetic and Genome Research.* 2008;123:283-7.
 56. Hurles ME, Dermitzakis ET, Tyler-Smith C. The functional impact of structural variation in humans. *Trends in Genetics.* 2008;24:238-45.
 57. Shtir C, Pique-Regi R, Siegmund K, Morrison J, Schumacher F, Marjoram P. Copy number variation in the Framingham Heart Study. *BMC Proceedings.* 2009;3 Suppl 7:S133.
 58. Wang H, Hays NP, Das SK, Craig RL, Chu WS, Sharma N. Phenotypic and molecular evaluation of a chromosome 1q region with linkage and association to type 2 diabetes in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94:1401-8.
 59. Jeon JP, Shim SM, Nam HY, Ryu GM, Hong EJ, Kim HL, et al. Copy number variation at leptin receptor gene locus associated with metabolic traits and the risk of type 2 diabetes mellitus. *BMC Genomics.* 2010;11:426.
 60. Kudo H, Emi M, Ishigaki Y, Tsunoda U, Hinokio Y, Ishii

- M, *et al.* Frequent loss of genome gap region in 4p16.3 subtelomere in early-onset type 2 diabetes mellitus. *Experimental Diabetes Research*. 2011: 498460.
61. Bae JS, Cheong HS, Kim JH, Park BL, Park TJ, Kim JY, *et al.* The genetic effect of copy number variations on the risk of type 2 diabetes in a Korean population. *PLoS One*. 2011;6:e19091.
 62. Craddock N, Hurles ME, Cardin N, Pearson RD, Plagnol V, Robson S, *et al.* Genome-wide association study of CNVs in 16,000 cases of eight common diseases and 3,000 shared controls. *Nature*. 2010;464:713-20.
 63. Chen X, Li X, Wang P, Liu Y, Zhang Z, Zhao G, *et al.* Novel association strategy with copy number variation for identifying new risk Loci of human diseases. *PLoS One*. 2010;5:e12185.
 64. Grassi MA, Tikhomirov A, Ramalingam S, Below JE, Cox NJ, Nicolae DL. Genome-wide meta-analysis for severe diabetic retinopathy. *Human Molecular Genetics*. 2011;20:2472-81.
 65. Irvin MR, Wineinger NE, Rice TK, Pajewski NM, Kabagambe EK, Gu CC, *et al.* Genome-wide detection of allele specific copy number variation associated with insulin resistance in African Americans from the HyperGEN study. *PLoS One*. 2011;6: e24052.
 66. Plengvidhya N, Chanprasert K, Tangjittipokin W, Thongnoppakhun W, Yenchitsomanus PT. Identification of copy number variation of CAPN10 in Thais with type 2 diabetes by multiplex PCR and denaturing high performance liquid chromatography (DH-PLC). *Gene*. 2012;506:383-6.
 67. Blackburn A, Goring HH, Dean A, Carless MA, Dyer T, Kumar S, *et al.* Utilizing extended pedigree information for discovery and confirmation of copy number variable regions among Mexican Americans. *European Journal of Human Genetics*. 2013;21:404-9.