



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

UNAM
POSGRADO

FACULTAD DE QUÍMICA

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO
EN CIENCIAS BIOQUÍMICAS

ANÁLISIS DE DISTINTOS GENES COMO
CANDIDATOS PARA EL DESARROLLO
DE LA DIABETES TIPO 2 Y LA DIABETES
GESTACIONAL EN POBLACIÓN MESTIZA
MEXICANA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE :

MAESTRA EN CIENCIAS BIOQUÍMICAS

P R E S E N T A :

ALICIA HUERTA CHAGOYA



Tutora: DRA. MARÍA TERESA TUSIÉ LUNA

MÉXICO, D. F.

Abril 2010



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.

ANÁLISIS DE DISTINTOS GENES COMO CANDIDATOS PARA EL DESARROLLO DE LA DIABETES TIPO 2 Y LA DIABETES GESTACIONAL EN POBLACIÓN MESTIZA MEXICANA

RECONOCIMIENTOS

Esta tesis de maestría se realizó bajo la dirección de la *Dra. María Teresa Tusié Luna* en la Unidad de Biología Molecular y Medicina Genómica, del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán” (INCMNSZ), sede externa del Instituto de Investigaciones Biomédicas (IIB) de la Universidad Nacional Autónoma de México.

El Comité Tutorial que asesoró el desarrollo de esta tesis estuvo formado por:

Dra. María Teresa Tusié Luna	Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM
Dra. Patricia Coello Coutiño	Facultad de Química, UNAM
Dra. Marcela Lizano Soberón	Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

Se reconoce la colaboración del *Dr. Adalberto Parra Covarrubias*, jefe del Departamento de Endocrinología del Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes”; del *Dr. Fernando Escobedo Aguirre*, jefe del Departamento de Medicina Materno Fetal del Centro Médico Nacional “20 de Noviembre” del ISSSTE y; del *Dr. Carlos Aguilar Salinas*, subjefe del Departamento de Endocrinología y Metabolismo de lípidos, del INCMNSZ, quienes facilitaron la colección de muestras y participaron en el estudio inicial de los pacientes incluidos en este trabajo.

Se reconoce la colaboración y asesoría del *M en C. Marco Alberto Gamboa Meléndez* y de la *M en C. Paola Vázquez Cárdenas*, en los experimentos y análisis de los datos.

Se reconoce el apoyo técnico de *T.S. Maribel Rodríguez*, *M en C. Laura Riba*, *Biol. Salvador Ramírez* y *Angélica Flores* en la toma de muestras y su procesamiento.

El proyecto fue apoyado parcialmente por CONACYT (40400M, 14495) y DGAPA-UNAM (IN227007). Durante los estudios de maestría gocé de una beca otorgada por CONACYT para la realización de la presente tesis.

El Jurado del Examen estuvo constituido por:

Presidente	Dr. Luis Fernando Covarrubias Robles	Instituto de Biotecnología, UNAM
Vocal	Dra. Marcia Hiriart Urdanivia	Instituto de Fisiología, UNAM
Secretario	Dra. Marcela Lizano Soberón	IIB, UNAM
Suplente	Dr. Armando Tovar Palacio	INCMNSZ
Suplente	Dr. Ignacio Camacho Arroyo	Facultad de Química, UNAM

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	
1.1. Historia y epidemiología de la DM.....	1
1.2. Bases metabólicas de la DM.....	2
1.3. Definición de DM y su clasificación.....	3
1.3.1. Diabetes mellitus Tipo 1 (DT1).....	4
1.3.2. Diabetes mellitus Tipo 2 (DT2).....	5
1.3.3. Diabetes mellitus Gestacional (DG).....	6
1.3.4. Otros tipos específicos de DM.....	7
1.4. Genética y estrategias de estudio.....	8
1.5. Genes asociados y mecanismos de acción.....	11
JUSTIFICACIÓN.....	18
OBJETIVOS.....	20
HIPÓTESIS.....	20
2. DISEÑO EXPERIMENTAL	
2.1. Sujetos de estudio.....	21
2.1.1. Muestra de DT2.....	21
2.1.2. Muestra de DG.....	21
2.2. Mediciones bioquímicas y cálculos.....	22
2.3. Genotipificación.....	23
2.4. Análisis estadístico.....	25
2.5. Consideraciones éticas.....	27
3. RESULTADOS	
3.1. Muestra de DT2.....	28
3.1.1. Características de la muestra de DT2.....	28
3.1.2. Genotipificación y LD de las variantes alélicas analizadas en la muestra de DT2.....	31
3.1.3. Análisis de asociación a DT2.....	31
3.1.4. Análisis de rasgos bioquímicos en DT2.....	35
3.1.5. Análisis de interacción en DT2.....	38
3.1.6. Análisis de alelos múltiples en DT2.....	39
3.2. Muestra de DG.....	40
3.2.1. Características de la muestra de DG.....	40
3.2.2. Genotipificación de las variantes alélicas analizadas en la muestra de DG.....	41
3.2.3. Análisis de asociación a DG.....	42
3.2.4. Análisis de alelos múltiples en DG.....	44
4. DISCUSIÓN	
4.1. Diferencias fenotípicas en los subgrupos de DT2.....	46
4.2. Diferencias genotípicas en los subgrupos de DT2.....	48
4.2.1. Efecto conjunto de las variantes alélicas asociadas a DT2.....	53
4.2.2. Relevancia de la carga alélica en el desarrollo de la DT2.....	54
4.3. Influencia de la DT2 en la predisposición a DG.....	58
5. CONCLUSIONES.....	61
6. PERSPECTIVAS.....	62
REFERENCIAS.....	64
GLOSARIO.....	72
APÉNDICE I. Cuestionarios y hojas de consentimiento	
I.1. Muestra de DT2.....	74
I.2. Muestra de DG.....	77
APÉNDICE II. Poderes estadísticos de los modelos de regresión logística	
II.1. Asociaciones a la DT2.....	82
II.2. Asociaciones a la DG.....	83

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Estadísticas de la DM en México.....	2
Tabla 1.2. Criterios de diagnóstico de la DM según la ADA, 2007.....	3
Tabla 1.3. Similitudes entre la DT2 y la DG.....	6
Tabla 1.4. Criterios de diagnóstico de la DG según Carpenter y Coustan, 1982.....	7
Tabla 1.5. Resumen de GWAS realizados para la DT2.....	13
Tabla 1.6. Genes asociados a la DT2.....	15
Tabla 1.7. Evidencia biológica de la participación de los genes asociados a la DT2.....	16
Tabla 1.8. Magnitud del efecto de los genes asociados a la DT2 en diferentes poblaciones.....	17
Tabla 1.9. Magnitud del efecto de los genes inicialmente asociados a DT2, en mujeres con DG...17	
Tabla 2.1. Criterios de inclusión y exclusión para la muestra de DT2.....	21
Tabla 2.2. Criterios de inclusión y exclusión para la muestra de DG.....	22
Tabla 3.1. Características generales de la muestra de DT2 y según la edad de diagnóstico de los casos.....	29
Tabla 3.2. Características de la muestra de DT2 según la procedencia de los casos.....	30
Tabla 3.3. Características de la muestra de DT2 según el estado de obesidad.....	30
Tabla 3.4. LD en población mestiza mexicana.....	31
Tabla 3.5. Asociación a DT2 en población mestiza mexicana general.....	33
Tabla 3.6. Asociación a DT2 según la edad de diagnóstico de los casos.....	33
Tabla 3.7. Asociación a DT2 según la procedencia de los casos.....	34
Tabla 3.8. Asociación a DT2 según el estado de obesidad.....	34
Tabla 3.9. Asociación a obesidad en población mestiza mexicana general.....	35
Tabla 3.10. Efectos de <i>KCNJ11</i> (rs5219) sobre la glucosa y la secreción de insulina.....	36
Tabla 3.11. Efectos de <i>HHEX/IDE</i> (rs1111875) sobre la glucosa y los triglicéridos.....	37
Tabla 3.12. Efecto de <i>ARHGEF11</i> (rs945508) sobre la glucosa.....	38
Tabla 3.13. Interacciones génicas entre variantes de riesgo a DT2.....	38
Tabla 3.14. Riesgo a DT2 cuando de poseen 8 o más alelos de riesgo.....	40
Tabla 3.15. Características generales de la muestra de DG.....	41
Tabla 3.16. Comparación de las frecuencias alélicas de riesgo entre mujeres con DT2 y DG.....	42
Tabla 3.17. Comparación de las frecuencias alélicas de riesgo según los antecedentes familiares de DT2.....	42
Tabla 3.18. Características de la muestra de DG según los antecedentes familiares de DT2.....	43
Tabla 3.19. Asociación a DG en población mestiza mexicana.....	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Papel de la insulina en el metabolismo.....	3
Figura 1.2. Secreción de la insulina y resistencia a esta, en condiciones de normoglucemia o cuando se padece algún tipo de DM.....	4
Figura 1.3. Interacción genes-ambiente en el desarrollo de la DT2.....	9
Figura 1.4. Estrategias de estudio de los genes relacionados con la DT2 y; los genes identificados con ellas, el riesgo que confieren a la enfermedad (OR) y su posible participación biológica.....	11
Figura 1.5. Localización de las proteínas codificadas por los genes asociados a la DT2 en la célula β pancreática.....	14
Figura 2.1. Funcionamiento de los ensayos KASPar.....	24
Figura 3.1. Efectos de <i>KCNJ11</i> (rs5219) sobre la glucosa y la secreción de insulina.....	36
Figura 3.2. Efectos de <i>HHEX/IDE</i> (rs1111875) sobre la glucosa y los triglicéridos.....	37
Figura 3.3. Efecto de <i>CDKN2A/2B</i> (rs10811661) sobre la secreción de insulina.....	37
Figura 3.4. Efecto de <i>ARHGEF11</i> (rs945508) sobre la glucosa.....	38
Figura 3.5. Distribución del número de alelos de riesgo a DT2 en diferentes grupos de diabéticos.....	39
Figura 3.6. Distribución de alelos de riesgo a DT2 en mujeres con DG y DT2.....	44
Figura 4.1. Influencia de siete variantes alélicas en la DT2 y sus subgrupos, en población mestiza mexicana.....	57

LISTA DE ABREVIATURAS

ADA	<i>American Diabetes Association</i>
AUC	<i>Area Under the Curve</i>
CNV	<i>Copy Number Variants</i>
CTOG	Curva de Tolerancia Oral a la Glucosa
DG	Diabetes Gestacional
DM	Diabetes Mellitus
DS	Desviación estándar
DT1	Diabetes Tipo 1
DT2	Diabetes Tipo 2
ENSA	Encuesta Nacional de Salud
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
GWAS	<i>Genome Wide Association Studies</i>
H20N	Hospital 20 de Noviembre
HDL	<i>High Density Lipoprotein</i>
HOMA	<i>Homeostasis Model Assessment</i>
IC	Intervalo de confianza
IMC	Índice de Masa Corporal
IMSS	Instituto Mexicano de Seguridad Social
INCMNSZ	Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán
INPer	Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes
ISSSTE	Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado
LD	<i>Linkage Disequilibrium</i>
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>
MALD	<i>Mapping by Admixture Linkage Disequilibrium</i>
MDR	<i>Multifactor Dimensionality Reduction</i>
MNT	Muerte neonatal
MODY	<i>Maturity Onset Diabetes of the Young</i>
OMS	Organización Mundial de la Salud
OR	<i>Odds ratio</i>
PAD	Presión arterial diastólica
PAS	Presión arterial sistólica
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
TG	Triglicéridos

RESUMEN

La Diabetes Tipo 2 (DT2) se ha convertido en una pandemia; es alarmante que una proporción importante de los que la padecen sea gente joven y lo es aún más que muchos enfermos desconozcan tenerla. La DT2 comparte muchas características fisiopatológicas y genéticas con la Diabetes Gestacional (DG), por lo que se han considerado como entidades relacionadas. Por ejemplo, las mujeres que padecieron DG tienen mayor riesgo de desarrollar DT2. Ambas son enfermedades complejas en las que participa un conjunto de genes de susceptibilidad donde cada uno aporta un efecto modesto sobre el riesgo. Utilizando diversas estrategias de estudio, se ha corroborado la participación de al menos 18 regiones génicas (*loci*), cuyas variantes alélicas son comunes entre distintas poblaciones y confieren riesgo a desarrollar DT2.

En este trabajo analizamos la contribución de 16 variantes alélicas en 13 de estos *loci* en la susceptibilidad a la DT2 en sujetos de la población mestiza mexicana. Adicionalmente, investigamos si 5 de ellas también participan en la predisposición genética a la DG. Se realizó un estudio de asociación caso-control que incluyó 1299 sujetos no relacionados de la población mestiza mexicana en la muestra de DT2 (997 casos y 302 controles) y 356 mujeres embarazadas en la muestra de DG (243 casos y 113 controles).

Nuestros resultados mostraron que las variantes alélicas de *KCNJ11* (rs5219), *HHEX/IDE* (rs1111875), *CDKN2A/2B* (rs10811661) y *ARHGEF11* (rs945508) se asociaron a la DT2. El efecto de esta última fue mayor en los individuos no obesos. Además, la variante *SLC30A8* (rs13266634) confirió riesgo sólo en el grupo de pacientes diagnosticados antes de los 45 años, mientras que las variantes *IGF2BP2* (rs4402960) y *CDC123/CAMK1D* (rs12779790) se asociaron únicamente en el grupo de sujetos captados de población abierta. Estas variantes también ejercieron efectos sobre algunos rasgos de la enfermedad y su efecto individual puede estar modulado por factores ambientales e, incluso, por otros genes. El número de variantes alélicas que posea un individuo incrementa el riesgo que tiene para desarrollar la DT2; esta influencia fue mayor en algunos subgrupos. En la muestra de DG, ninguna de las variantes alélicas analizadas se asoció al riesgo para el desarrollo de la enfermedad.

En la población mestiza mexicana, la contribución de las variantes alélicas comunes en el riesgo a la DT2 fue modesta y llamó la atención que el efecto de algunas haya sido evidente sólo en algunos subgrupos de diabéticos. La carga alélica resultó de gran importancia en el riesgo a padecer DT2; sin embargo, no confirió ningún efecto en el desarrollo de la DG. Queda clara la necesidad de buscar variantes genéticas que contribuyan a la predisposición a la DT2 y la DG presentes en el componente amerindio de la población mestiza mexicana, mediante el uso de otras estrategias.

ABSTRACT

Type 2 Diabetes (T2D) has become pandemic. It is alarming that a great proportion of people who suffer from it are young; even more, they have not been diagnosed. T2D shares physiopathologic and genetic characteristics with Gestational Diabetes (GD), consequently, they have been considered as being related. For example, women who suffered from GD are at greater risk to develop T2D. Both are such complex diseases determined by a group of susceptibility genes, each conferring risk for them. By means of several research strategies, at least 18 genetic regions (*loci*), whose allelic variants are shared by different populations, have been confirmed to confer risk for T2D.

In the present work, we analyze 13 of those *loci* the 16 allelic variants' contribution to T2D susceptibility in Mexican mixed individuals. Additionally, we have investigated if 5 of them take part in genetic predisposition to GD. We developed a case-control association study that included 1299 Mexican mixed non-related individuals in a sample for the study of T2D (including 997 cases and 356 controls) and 356 pregnant women in a sample for the study of GD (including 243 cases and 113 controls).

Results show that the following allelic variants are associated with T2D: *KCNJ11* (rs5219), *HHEX/IDE* (rs1111875), *CDKN2A/2B* (rs10811661) and *ARHGEF11* (rs945508). The last one's effect on obese individuals is greater. Another allelic variant *SLC30A8* (rs13266634) confers risk only for those patients diagnosed before they are 45 years old, while variants *IGF2BP2* (rs4402960) and *CDC123/CAMK1D* (rs12779790) confers risk only for individuals from open population. These variants do influence on some features of the disease and their effect can be modulated by environmental factors, and even by other genes. An individuals' risk for T2D depends on the own amount of allelic variants; their influence increases in some subgroups. In the GD sample, no allelic variant was associated to the risk for this disease.

In Mexican mixed population, contribution of common allelic variants to risk for T2D is low and remarkable evidence has been found of the effect that some of them have on specific diabetic subgroups. Allelic load was significantly important in the risk for T2D. However, it does not confer risk for GD. Research on genetic variants contribution to predisposition to T2D and GD in the American component of Mexican mixed population is needed. This should be based on the use of other strategies.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Historia y epidemiología de la DM

La Diabetes Mellitus (DM) se ha convertido en una de las enfermedades con mayor impacto epidemiológico en el mundo; sin embargo no es una enfermedad nueva. La primera referencia que de ella se hace, se encuentra en el papiro egipcio de Ebers, que data del año 1500 AC, donde se describen síntomas que parecen corresponder a la DM. El término “diabetes” fue usado por primera vez por Areteo de Capadocia en el segundo siglo DC, y significa en griego “sifón”; es decir, se refiere a la eliminación exagerada de orina. Durante los siguientes años, Galeno, Susruta y Sharuka, entre otros, hicieron observaciones importantes respecto a las características de la enfermedad como, por ejemplo, la asociación de la poliuria con una sustancia que daba sabor dulce a la orina. Incluso, la medicina india ya distinguía entre una forma que se daba en jóvenes delgados que no sobrevivían mucho tiempo, y otra que se daba en personas mayores y obesas. En 1679, Thomas Willis describió la diabetes, la designó con el nombre de *diabetes mellitus* (haciendo referencia al sabor dulce de la orina) y a partir de entonces quedó considerada como una entidad clínica. Sobre la DM escribió que:

“antiguamente esta enfermedad era bastante rara pero en nuestros días, la buena vida y la afición por el vino hacen que encontremos casos a menudo...”

Las observaciones hechas por Willis son ciertas hasta la actualidad, incluyendo el aumento explosivo de los casos debido a las dietas no sanas, la obesidad y las formas de vida sedentarias. Actualmente la DM ha alcanzado proporciones pandémicas. En el año 2000, se calculó que había 171 millones de diabéticos alrededor del mundo, y se estima que la cifra aumentará a 366 millones antes del 2030. El número de muertes atribuidas anualmente a la diabetes es alrededor de 3.2 millones en el mundo, lo que corresponde a 6 muertes cada minuto. Los 10 países con mayor número de víctimas son la India, China, EUA, Indonesia, Japón, Paquistán, Rusia, Brasil, Italia y Bangladesh (Córdova, 2008).

El panorama no es diferente para nuestro país, donde ocupa el primer lugar en número de defunciones por año. La tendencia de mortalidad es ascendente en ambos sexos, con más de 60 mil muertes y 400 mil casos nuevos anuales. La mortalidad por DM ha tenido un ritmo de crecimiento del 6% en los últimos 7 años (Córdova, 2008). La Encuesta Nacional de Salud (ENSA) 2000 (Olaiz, 2000), informó que la prevalencia nacional de DM para adultos mayores de 20 años es de 7.5%. Por su parte, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2006 (Olaiz, 2006) informó que dicha prevalencia aumentó a 14.42%. El número de adultos jóvenes diabéticos (20-40 años de edad) también ha incrementado, siendo el 13.2% del total de pacientes en 2000

(Olaiz, 2000) y el 21.5% en 2006 (Olaiz, 2006). Un porcentaje importante de estos pacientes no se sabía diabético, sino que fue diagnosticado durante la realización de las Encuestas (tabla 1.1).

Tabla 1.1. Estadísticas de la DM en México.

	ENSA 2000	ENSANUT 2006
Tasa de mortalidad (por 100 mil habitantes)	46.8	65.2
No. de causa de muerte	3	1
No. de causa de muerte (♀)	1	1
No. de causa de muerte (♂)	2	1
% de muertes ocurridas	10.7	13.8
Prevalencia (diagnóstico médico previo) (%)	5.8	7
% diabéticos con diagnóstico previo	77	n.d.
Prevalencia global (%)	7.5	14.42
Prevalencia en mujeres (%)	7.8	n.d.
Prevalencia en hombres (%)	7.2	n.d.
% de inicio temprano (%)	13.2	21.5
Número de casos (millones)	3.6	7.7

n.d.: no disponible. Datos obtenidos de (INEGI, 2002;Olaiz, 2006;Olaiz, 2000).

Además, la prevalencia es mayor: 1) en mujeres, 2) entre la población con antecedentes familiares de DM (padre, madre o ambos), 3) entre la población obesa, 4) entre grupos de edad mayores y 5) en la región norte del país y el área metropolitana de la Ciudad de México (Córdova, 2008). La mayoría de la población diabética detectada a través de las Encuestas presentó niveles altos de hemoglobina glucosilada (marcador de un pobre cuidado médico), lo que refleja una cobertura de control de apenas 20% en el país. Los costos directos totales de la atención médica de DM van desde 2.5% hasta 15% de los presupuestos anuales, dependiendo del predominio local y de la sofisticación del tratamiento disponible. Además, la DM ocupó el noveno lugar como causa de egreso hospitalario en el Sector Salud con 130 223 casos que representaron el 3% del total de egresos en las instituciones del Sector Salud (Córdova, 2008).

1.2. Bases metabólicas de la DM

Para poder entender la fisiopatología de la DM, es necesario conocer la fisiología normal. En individuos sanos, las concentraciones de glucosa plasmáticas están finamente controladas por un sistema complejo, cuyo regulador principal es la insulina. Cualquier alteración en ese sistema puede causar hipoglucemia o hiperglucemia. La insulina es una hormona sintetizada y secretada por las células β de los islotes pancreáticos, en respuesta al incremento en los niveles de glucosa. Los efectos principales de la insulina son: 1) supresión de la liberación de ácidos grasos del tejido adiposo, 2) supresión de la producción endógena de glucosa hepática y, 3) incorporación de glucosa circulante en músculo. La insulina se une a sus receptores en los órganos blanco y en la misma célula β ; a partir de los cuales se desencadenan las respuestas fisiológicas (figura 1.1).

La normoglucemia (70-125 mg/dL) se mantiene mediante el balance entre la acción de la insulina y su secreción. Cuando la acción de la insulina disminuye (resistencia a la insulina), el

sistema compensa incrementando la función β pancreática (mayor secreción). Sin embargo, las concentraciones de insulina podrían mantenerse altas y, eventualmente dañar a la célula (Stumvoll *et al.*, 2008). Existen diferentes condiciones biológicas en las que puede presentarse disfunción de las células β o resistencia a la insulina y, una de ellas es la DM.

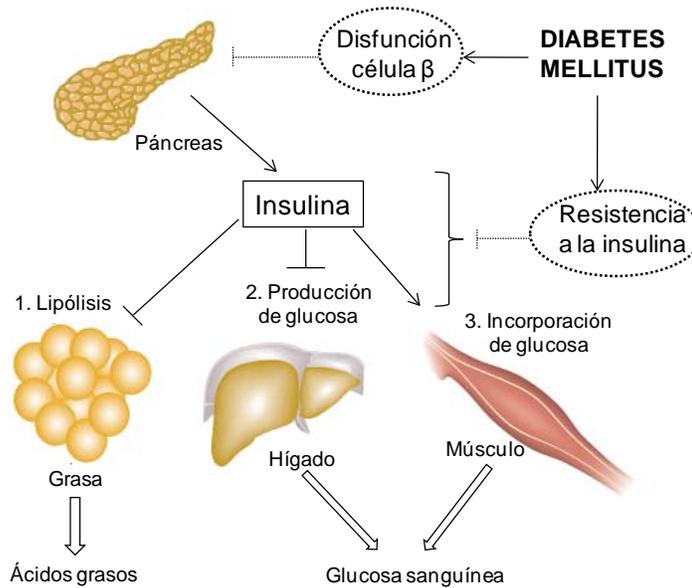


Figura 1.1. Papel de la insulina en el metabolismo. La secreción de la insulina por parte de las células β del páncreas tiene tres efectos principales en el organismo. Estos se ven modificados cuando hay una disminución en la secreción de insulina o su acción en los órganos blanco y, consecuentemente se produce un exceso de ácidos grasos circulantes e hiperglucemia. *Modificada de (Stumvoll et al., 2008).*

1.3. Definición de DM y su clasificación

La DM es un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia que resulta de defectos en la secreción de insulina, su acción o ambas ("Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus," 2008). De acuerdo con la Asociación Americana de Diabetes (ADA, *American Diabetes Association*) hay tres formas de diagnosticarla, todas deben ser confirmadas, a menos que haya síntomas inequívocos de hiperglucemia.

Tabla 1.2. Criterios de diagnóstico de la DM según la ADA, 2007.

Normoglucemia		
CTOG de 75 g	Glucosa ayuno	<110 mg/dL
	Glucosa 2 hrs	<140 mg/dL
Intolerancia a los carbohidratos		
CTOG de 75g	Glucosa ayuno	110-125 mg/dL
	Glucosa 2 hrs	140-199 mg/dL
Diabetes Mellitus		
CTOG de 75g	Glucosa ayuno	≥ 126 mg/dL
	Glucosa 2 hrs	≥ 200 mg/dL
Casual	Glucosa sin ayuno	≥ 200 mg/dL + síntomas de DM

* Se diagnóstica DM cuando el paciente cumple con cualquiera de las condiciones.

En dos de ellas, se utiliza la información arrojada durante una Curva de Tolerancia Oral a la Glucosa (CTOG) en la que se administran 75 g de glucosa en 375 mL de agua en ayuno y, se realizan mediciones de esta, antes y a las 2 horas de la ingestión. La interpretación se realiza siguiendo puntos de corte ya establecidos (tabla 1.2). La DM puede clasificarse en cuatro tipos principales que se describen a continuación ("Standards of Medical Care in Diabetes," 2007).

1.3.1. Diabetes mellitus Tipo 1 (DT1)

Es un trastorno autoinmune en el cual el cuerpo ataca y destruye sus células β pancreáticas. Esto resulta en la producción casi nula de insulina (causa directa de la hiperglucemia), y los pacientes que la padecen, necesitan la administración exógena de dicha hormona, de modo que también es llamada diabetes mellitus dependiente de insulina (figura 1.2). Además, estos pacientes son muy propensos a la cetosis (acidosis causada por una producción excesiva de cuerpos cetónicos) y presentan anticuerpos contra los islotes pancreáticos, característica utilizada para su diagnóstico (Porterfield, 2007). Generalmente, los pacientes tienen síntomas agudos de la enfermedad y niveles muy elevados de glucosa sanguínea; debido a esto, son diagnosticados muy jóvenes ("Standards of Medical Care in Diabetes," 2007). El 90% de los casos comienzan en la infancia (entre 10-14 años de edad).

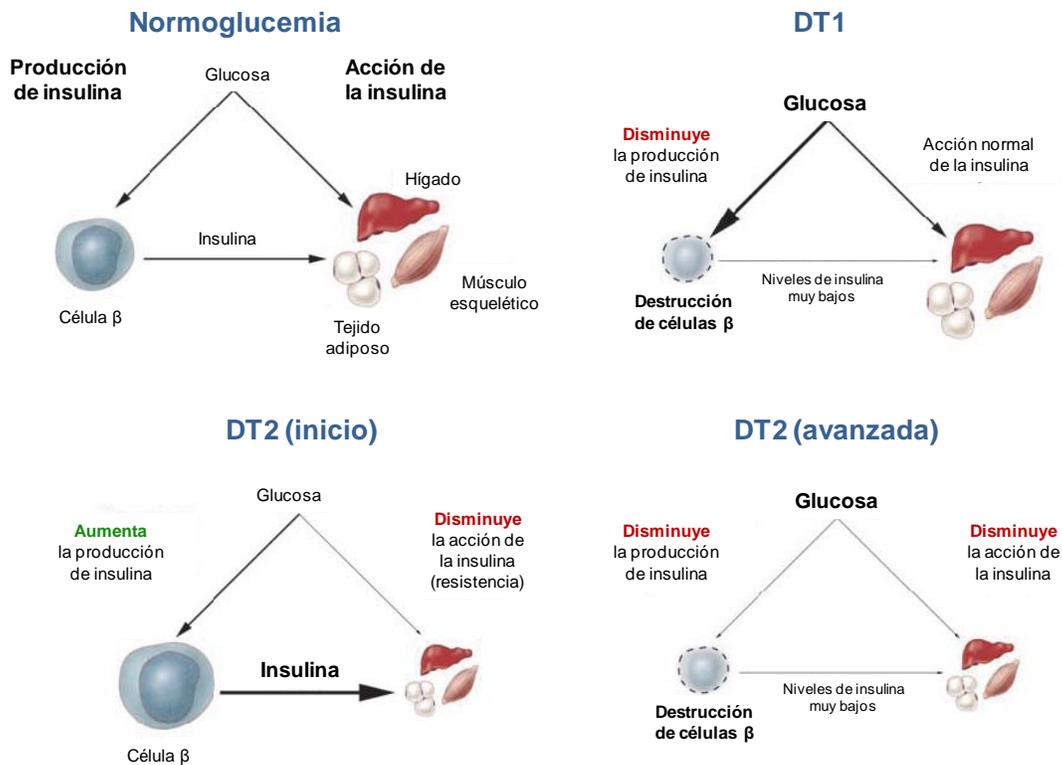


Figura 1.2. Secreción de la insulina y resistencia a esta, en condiciones de normoglucemia o cuando se padece algún tipo de DM. Modificada de (Permutt et al., 2005).

1.3.2. Diabetes mellitus Tipo 2 (DT2)

Es la forma más común, en México representa el 97% de los casos diagnosticados (Salud, 2008). Generalmente, se diagnostica hasta que aparecen complicaciones, y aproximadamente un tercio de los afectados permanecen no diagnosticados ("Standards of Medical Care in Diabetes," 2007). La causa de la hiperglucemia en este tipo de diabetes es más compleja debido a que es resultado tanto de defectos progresivos en la secreción de la insulina como de la resistencia a dicha hormona. En un inicio, los pacientes continúan secretando insulina, incluso suelen presentar hiperplasia de las células β e hiperinsulinemia; sin embargo, los órganos blancos no responden adecuadamente a la hormona (Permutt *et al.*, 2005). Conforme avanza la enfermedad, las células β van perdiendo poco a poco su función (figura 1.2).

No es posible establecer una secuencia causal única puesto que la gravedad de estas dos alteraciones varía en cada paciente; no obstante, se pueden distinguir diferencias si se clasifica de acuerdo a ciertos factores clínicos. Uno de los más importantes es la edad a la cual son diagnosticados; en función a esta se han establecido puntos de corte (Frayling *et al.*, 2003). En lo que respecta a la población mestiza mexicana, hay estudios que contemplan diferentes intervalos de edad y, han demostrado las siguientes diferencias:

- 1) *DT2 de inicio temprano*: se da en aquellos pacientes diagnosticados entre los 20-39 años de edad. Su principal característica es la deficiencia severa de insulina, y por tanto, requieren tratamiento con insulina mucho más rápido. Se trata de una forma mucho más agresiva de la enfermedad, en la que los pacientes tienen mayor riesgo de sufrir complicaciones crónicas (Aguilar-Salinas *et al.*, 2001;Garcia-Garcia *et al.*, 2002).
- 2) *DT2 de inicio tardío*: se da en aquellos pacientes diagnosticados a partir de los 40 años de edad. Su principal característica es la resistencia a la insulina. Presentan mayor índice de masa corporal (IMC); y perfiles lipídicos adversos, incluyendo: niveles altos de triglicéridos, colesterol y lipoproteínas de baja densidad (LDL, *Low Density Lipoprotein*). Como consecuencia a lo anterior, la proporción de personas hipertensas es mucho mayor en este grupo (Aguilar-Salinas *et al.*, 2001;Garcia-Garcia *et al.*, 2002).

Existe un estudio similar en población estadounidense donde los resultados son opuestos a los de población mestiza mexicana; es decir, sus pacientes diabéticos de inicio temprano (edad de diagnóstico menor a 45 años de edad) presentan mayor IMC, mayor frecuencia de dislipidemias e hipertensión, aunque mantienen el riesgo elevado de sufrir más complicaciones (Hillier *et al.*, 2001;2003). Esto podría reflejar la existencia de diferentes mecanismos de desarrollo de la enfermedad entre diferentes poblaciones. Por otro lado, en población mestiza mexicana, también

se ha observado que los pacientes que requieren acudir a un hospital para su control, son casos de mayor gravedad y desarrollan más complicaciones. Estos sujetos son delgados y necesitan administración constante y temprana de insulina (Aguilar-Salinas *et al.*, 2002). De acuerdo a lo anterior, es posible definir grupos que poseen mayor riesgo a desarrollar DT2 (tabla 1.3).

1.3.3. Diabetes mellitus Gestacional (DG)

Se define como una intolerancia a los carbohidratos de severidad variable que se presenta o se diagnostica por primera vez durante el embarazo (Buchanan *et al.*, 2007). Durante la gestación, se producen cambios drásticos en el metabolismo materno que son necesarios para asegurar las demandas de nutrimentos del feto en crecimiento, aún cuando estos sigan incorporándose a la madre (Torgersen *et al.*, 2006). Uno de los cambios es un aumento en la resistencia a la insulina (cuyo mayor pico se da al final del segundo trimestre), a lo que el cuerpo compensa aumentando la secreción de la hormona; sin embargo, en las mujeres con DG no es suficiente y se genera hiperglucemia (Buchanan *et al.*, 2005; Vambergue *et al.*, 2002).

Tabla 1.3. Similitudes entre la DT2 y la DG.

	DT2 y DG	DT2	DG
Aparición		Adultos	Embarazo
Síntomas	Hiperglucemia Glucosuria Poliuria, polidipsia, polifagia Pérdida de peso inexplicable		
Factores de riesgo	Obesidad Antecedentes familiares Etnicidad Intolerancia a la glucosa previa Resistencia a la insulina previa Sedentarismo, tabaquismo Bajo peso al nacer		Edad avanzada Productos macrosómicos Multiparidad
Tratamiento	Dieta Ejercicio Hipoglucemiantes Insulina		
Complicaciones		Retinopatías Neuropatías Nefropatías Microangiopatías Problemas visuales	Macrosomía fetal Complicaciones en parto Hipoglucemia fetal Riesgo a DT2 fetal DT2 en la madre

La forma mundialmente aceptada para el diagnóstico de la DG es mediante la realización de una CTOG de 100 g de 3 hrs en las semanas 24-28 de gestación. Se diagnostica DG, cuando hay dos o más valores alterados de los establecidos por Carpenter y Coustan, 1982 (tabla 1.4). La curva debería realizarse a todas las mujeres embarazadas; sin embargo, dado su alto costo, se reemplaza por una prueba de escrutinio o tamiz de 50 g en las semanas 13-28 de gestación que permite identificar a las mujeres con mayor probabilidad de sufrir DG. Sólo a ellas, se les realiza la CTOG de 100g para verificar su estado metabólico (*Endocrinología Clínica*, 2004).

La DG puede desaparecer horas después del parto; sin embargo, un porcentaje alto de las pacientes pueden desarrollar DT2 (17-63% en un periodo de 5-16 años después de resuelto el embarazo), principalmente si: 1) son obesas; 2) el diagnóstico se estableció en etapas tempranas del embarazo y; 3) la hiperglucemia fue muy elevada (*Endocrinología Clínica*, 2004). Adicionalmente, la recurrencia de DG es del 35 al 80% y está influenciada por el IMC, la paridad, características del embarazo afectado (etapa de la gestación en que se diagnosticó la primera vez, requerimientos de insulina y ganancia de peso), y el intervalo entre los embarazos (Ben-Haroush *et al.*, 2004).

Tabla 1.4. Criterios de diagnóstico de la DG, según Carpenter y Coustan, 1982.

	Glucosa (mg/dL)
Ayuno	85
1 h	180
2 h	155
3 h	140

La prevalencia de la DG también ha aumentado en los últimos años y varía entre las diferentes poblaciones étnicas; por ejemplo, en asiáticas es de 5-10%, en mexicoamericanas de 5-7%, en árabes de 5-7%, mientras que en europeas es de 2-4% (Shaath *et al.*, 2007). Es importante mencionar que las diferencias en los métodos de diagnóstico impiden la comparación de las prevalencias entre poblaciones; ya que a diferencia de la DT2, aún no hay un consenso mundial. Un estudio realizado por el Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes (INPer) de la Ciudad de México reveló una prevalencia del 8.4% en población mestiza mexicana en 2005 (Ramírez, 2005). Si se le suma el hecho de que algunas mujeres pueden tener diabetes preexistente no diagnosticada, las cifras de prevalencia son aún menos confiables primordialmente en aquellas poblaciones con alto riesgo de DT2 de inicio temprano, como lo es la población mestiza mexicana. Todo esto ha hecho muy complejo el estudio de la DG.

Podemos distinguir varias características comunes por las que se han propuesto a la DT2 y a la DG como entidades relacionadas, e incluso a esta última como un estado prediabético: 1) ambos grupos presentan resistencia a la insulina y disfunción de la célula β pancreática, 2) comparten factores de riesgo y, 3) la prevalencia de la DG varía proporcionalmente con la de DT2. Con respecto a su relación con la DT1, algunas pacientes con DG presentan anticuerpos contra la insulina y los islotes pancreáticos; sin embargo, son muy poco frecuentes (<10%) (Ben-Haroush *et al.*, 2004).

1.3.4. Otros tipos específicos de DM

Dentro de este grupo se ubican todos los tipos de DM que se desarrollan debido a otras causas, entre las que destacan ("Standards of Medical Care in Diabetes," 2007):

- 1) Defectos genéticos en la función de la célula β (MODY, *Maturity Onset Diabetes in the Young*; y otras): son causas no comunes de DM que puede ser confundida con la DT2, puesto que ambas no dependen de la administración exógena de insulina, al menos en las primeras etapas de la enfermedad. Son monogénicas (causadas por la mutación de un solo gen) y, se heredan como un rasgo autosómico dominante. El diagnóstico generalmente se da en la niñez o adolescencia (antes de los 25 años de edad), aunque la hiperglucemia puede ser muy ligera o ausente. Se han definido a la fecha, seis subtipos de MODY. Por otro lado, también se han descrito mutaciones puntuales en el DNA mitocondrial que causan DM; por ejemplo: tRNA Leu 3243.
- 2) Defectos genéticos en la acción de la insulina: se trata de síndromes cuya característica es la presencia de una severa resistencia a la insulina; ya sea por: mutaciones dominantes o recesivas en el receptor de insulina (p.ej.: resistencia a la insulina tipo A, leprechaunismo, síndrome de Rabson-Mendenhall); atrofia del tejido adiposo (p.ej. síndrome de Berardinelli-Seip); o autoinmunidad al receptor de insulina (p.ej. resistencia a la insulina tipo B).
- 3) Enfermedades en el páncreas exocrino: la función de esta porción del páncreas es la secreción de enzimas digestivas que son enviadas al duodeno; cualquier proceso que dañe el páncreas puede resultar en DM; por ejemplo: pancreatitis, trauma o remoción quirúrgica del páncreas, cáncer de páncreas, fibrosis quística.
- 4) Enfermedades del páncreas endocrino: esta parte del páncreas se encarga fundamentalmente de la secreción de hormonas, cualquier desorden que resulte en la producción excesiva de hormonas (cortisol, hormona del crecimiento, glucagón) que antagonicen la acción y secreción de la insulina, pueden provocar DM. Por ejemplo: síndrome de Cushing, feocromocitoma, acromegalia.
- 5) Inducción por administración de medicamentos u otros químicos: algunas sustancias pueden desacoplar la secreción de la insulina; aunque no causan directamente DM, pueden precipitar su desarrollo cuando se padece resistencia a la insulina previa; por ejemplo: terapia con interferón α . Además, la administración excesiva de tratamientos hormonales, pueden desacoplar la acción de la insulina; por ejemplo: glucocorticoides, hormona tiroidea.

1.4. Genética y estrategias de estudio

La DM es una enfermedad heterogénea y multifactorial, en la que participan factores genéticos que van desde mutaciones puntuales que por sí mismas son suficientes para desarrollar la enfermedad –en las formas monogénicas de la enfermedad, como los casos MODY (*Maturity Onset Diabetes of the Young*), hasta combinaciones de variantes alélicas en distintos *loci* –en las formas más comunes– que resultan en el fenotipo diabético en presencia de diversos factores ambientales de diferente magnitud tales como alimentación, sedentarismo, obesidad, exposición a agentes

genotóxicos, etc. Es el factor genético influenciado por el ambiente y el estilo de vida lo que determina la susceptibilidad de un individuo a desarrollar diabetes (figura 1.3).

Entre la evidencia que apoya que la DT2 tiene un fuerte componente genético destaca que: 1) la tasa de concordancia en gemelos monocigóticos idénticos (35-58%) es mayor a de gemelos dicigóticos no idénticos (17-20%) pues éstos sólo comparten el 50% de sus genes; 2) los antecedentes familiares confieren 2.4 veces más riesgo de desarrollar DT2 y aumenta cuando ambos padres la padecen (Stumvoll *et al.*, 2008). Esto demuestra también la existencia de factores ambientales predisponentes; entre ellos podemos mencionar que el riesgo a desarrollar DT2: 1) aumenta 20 veces en individuos obesos, 2) aumenta en individuos que tuvieron bajo peso al nacer y que en la vida adulta llevan mala nutrición (la malnutrición fetal puede provocar un pobre desarrollo de las células β pancreáticas y resistencia a la insulina) (Permutt *et al.*, 2005).

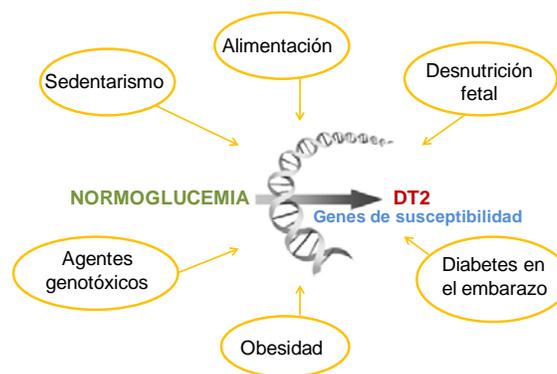


Figura 1.3. Interacción genes-ambiente en el desarrollo de la DT2.

En 1962, Neel propuso la hipótesis del gen ahorrador. En esta, plantea que ciertas poblaciones (cazadores y recolectores) tienen rasgos genéticos que alguna vez confirieron ventajas de sobrevivencia en tiempos antiguos porque mejoraban la eficiencia metabólica y el almacenamiento de calorías como grasa; pero en la actualidad, donde las provisiones de alimentos son abundantes y la actividad física es mínima, esos mismos rasgos se han vuelto perjudiciales. En un esfuerzo por identificar aquellos genes o regiones genéticas que generen susceptibilidad a la DT2, se han desarrollado dos estrategias principales (análisis de ligamiento y análisis de asociación) con sus respectivas variantes (figura 1.4). Se distinguen tres de ellas:

- 1) *Análisis de ligamiento*: se realizan en núcleos familiares o pares de hermanos afectados con la enfermedad bajo la premisa de que compartirán regiones genómicas no al azar y, el propósito es identificarlas. Tiene dos desventajas importantes: 1) tienen poco poder estadístico para detectar efectos modestos; 2) la resolución del mapeo es muy baja, por lo que aún cuando se ha identificado la región, detectar el gen funcional resulta complicado (Freeman *et al.*, 2006).

- 2) *Análisis de genes candidatos*: tiene como objetivo estudiar genes individuales de los cuales se tiene sospecha de su contribución en la enfermedad, ya sea porque participan en vías metabólicas relacionadas o bien, porque se tiene evidencia en modelos animales. Es un tipo de estudio de asociación y, su propósito es analizar la relación entre la enfermedad y alelos particulares, genotipos, o haplotipos de un marcador o conjunto de marcadores. Un estudio de este tipo compara la frecuencia de un marcador entre individuos afectados y no afectados (diseño caso-control).

El desarrollo de esta técnica se facilitó gracias al uso de los polimorfismos de una sola base (SNP, *Single Nucleotide Polymorphism*), ya que permiten no sólo evaluar las regiones funcionales del gen, sino también aquéllas que son intrónicas o intergénicas. Por otra parte, el desarrollo de proyectos como el *HapMap* ayudó a conocer cuáles SNP serían redundantes de estudiar, debido a que se heredan en bloque junto con un conjunto de SNP (desequilibrio de ligamiento, LD). A partir de este momento, fue evidente la importancia de usar miles de casos y controles, además de estudios de replicación, generalmente en diferentes poblaciones, para tener suficiente evidencia de la asociación (Freeman *et al.*, 2006; Perry *et al.*, 2008).

- 3) *Análisis de asociación del genoma completo* (GWAS, *Genome Wide Association Studies*): es otra variante de los estudios de asociación en los que en lugar de ser restringidos a una sola región génica, se tipifican cientos de miles de marcadores polimórficos (de 100 mil a 500 mil) espaciados a lo largo de todo el genoma en un mismo experimento. Al no tenerse ninguna hipótesis de la participación de los genes en la enfermedad, permite detectar regiones inesperadas y ampliar así el entendimiento de los mecanismos fisiopatológicos implicados en la enfermedad.

El desarrollo de nueva tecnología permitió diseñar chips de DNA que capturan una proporción importante de la variación genética en miles de muestras. Hay dos plataformas comerciales principales de genotipificación del genoma completo: 1) el panel *Illumina*, diseñado con información de LD procedente del *HapMap*, lo cual permite una cobertura completa del genoma y, 2) los chips de *Affymetrix*, diseñados sin considerar el LD (elección de los SNP al azar), por lo que no son específicos para una población y, al ser redundantes ayudan a compensar las fallas de genotipificación. La desventaja de ambos es que no cubren los SNP raros (frecuencia del alelo menor < 5%) que son particulares de ciertas poblaciones, ni variaciones estructurales como las variantes de número de copias (CNV) (Perry *et al.*, 2008).

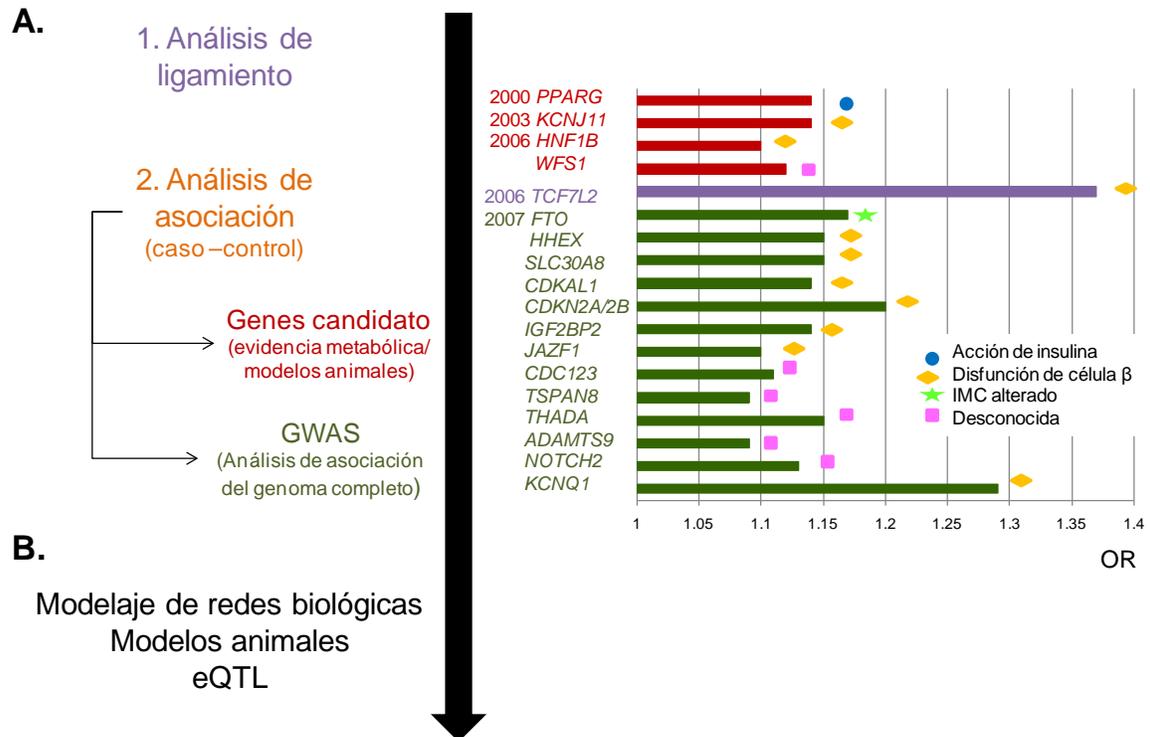


Figura 1.4. Estrategias de estudio de los genes relacionados con la DT2 (*izquierda*) y, los genes identificados con ellas, el riesgo que confieren a la enfermedad (OR) y su posible participación biológica (*derecha*). El primer paso en la identificación de genes asociados es la realización de análisis genéticos (A); luego, se amplía su investigación funcional usando métodos bioinformáticos y experimentales. Los valores de OR proceden de meta-análisis estimados a partir de información en poblaciones europeas (excepto *KCNQ1*, que incluye también información de población asiática), los datos se reportan en (Prokopenko *et al.*, 2008).

1.5. Genes asociados y mecanismos de acción

Los GWAS son los análisis que han tenido el mayor avance en poco tiempo; tan sólo en un año, de 2007 a 2008 se realizaron más de 10 GWAS en diferentes poblaciones, la mayoría europeas (tabla 1.5). Los primeros estudios no sólo permitieron identificar nuevas variantes alélicas, sino confirmar aquéllas que ya habían sido identificadas mediante otras estrategias (p.ej. *KCNJ11* rs5219, *TCF7L2* rs7903146). A excepción de *TCF7L2*, la contribución de los SNP que se han identificado en el riesgo a la DT2 es baja, evidenciado por los valores de OR (*Odds Ratio*) de entre 1.1-1.2, lo cual explica por qué es necesario analizar un número mucho mayor de muestras, o bien, realizar meta-análisis para alcanzar poderes estadísticos suficientes (figura 1.4).

El rango de frecuencia del alelo de riesgo va del 10-90%, en parte como consecuencia del uso de los arreglos de genotipificación, que se han orientado a detectar variantes comunes (presentes en la mayoría de las poblaciones humanas), pero que tienen muy bajo poder para detectar asociaciones causadas por variantes raras (exclusivas de una o pocas poblaciones). La frecuencia de las variantes raras sólo es alta en aquellas poblaciones donde se fijó el alelo y donde

el riesgo que confieren es mucho mayor comparado con el resto. Ejemplos de estas variantes son: G319S del gen *HNF1 α* en población Oji-Cree (población indígena del norte de Canadá) y R230C del gen *ABCA1* en población mestiza mexicana. La selección de los paneles de genotipificación también ha provocado que para la mayoría de los *loci*, la variante causal no se conozca con certeza. Es probable que estén en LD con la variante funcional; es decir, la responsable real del efecto.

Los estudios realizados en otras poblaciones han mostrado que muchas de las variantes inicialmente identificadas en población europea, también ejercen efectos similares en ellas, aún cuando presentan frecuencias alélicas diferentes. De este modo, cambia la facilidad para detectarlas y la magnitud de su efecto poblacional (tabla 1.8). Esto mismo ha sucedido a la inversa; por ejemplo, el gen *KCNQ1* fue detectado de forma más fácil en población asiática, puesto que las frecuencias del alelo de riesgo son mucho más altas (Unoki *et al.*, 2008; Yasuda *et al.*, 2008). Es por esto, que la realización de estudios en pacientes no europeos será útil para identificar nuevos *loci* que dadas las diferencias en frecuencias alélicas, estructura de haplotipos, fondo genético o exposición ambiental, serían difíciles de encontrar en poblaciones europeas.

Todos los esfuerzos para detectar a estos genes están impulsados, en un principio, por el hecho de encontrar asociaciones genotipo-fenotipo que ayuden a dilucidar los mecanismos de la enfermedad y más adelante, que estos conocimientos puedan ser aplicados en la profilaxis y tratamiento. Sin embargo, con las estrategias más recientes sorprende que en varios de los genes encontrados, no sea tan obvia su responsabilidad en la enfermedad. Sólo de algunos genes asociados a la DT2, la evidencia es clara respecto a su participación y es posible concluir cuál es el polimorfismo responsable (p.ej. *SLC30A8*). En otros casos, más de un gen candidato está en la región donde se encuentra la señal de asociación (p.ej. *HHEX/IDE*). En los más recientes, la relación es mucho menos obvia e, incluso, los efectos se traslapan con alguna otra enfermedad (p.ej. cáncer).

Sin embargo, a la mayoría se les ha atribuido un papel importante en la disfunción de la célula β pancreática debido a que las proteínas para las cuales codifican se expresan dentro de la misma (figura 1.5). Son pocos a los que se les ha relacionado con la resistencia a la insulina. Entre las razones que explican la ausencia de genes directamente asociados con dicho rasgo destacan las siguientes: 1) el diseño del estudio podría favorecer la detección de variantes de riesgo asociadas a un defecto secretorio de insulina; 2) los rasgos asociados a la resistencia a la insulina están fuertemente influenciados por covariables ambientales; 3) podría haber pocas variantes que afecten la sensibilidad a la insulina; 4) las variantes podrían ser menos frecuentes y 5) las variantes podrían tener efectos muy modestos. Todo esto sugiere que aún hay muchos genes y mecanismos por identificar (Florez, 2008).

Tabla 1.5. Resumen de GWAS realizados para la DT2.

Estudio	Casos/ controles	Origen	Arreglo	Fenotipo de casos
<i>Wellcome Trust Case Control Consortium</i> (Zeggini <i>et al.</i> , 2007)	1924/ 2938	Inglaterra	<i>Affymetrix</i> 500K	Con historia familiar de DT2, edad de diagnóstico <65 años
<i>Diabetes Genetics Initiative</i> (Saxena <i>et al.</i> , 2007)	1464/ 1467	Finlandia, Suecia	<i>Affymetrix</i> 500K	Con historia familiar de DT2, pacientes delgados
<i>deCODE Genetics</i> (Steinthorsdottir <i>et al.</i> , 2007)	1399/ 5275	Islandia	<i>Illumina</i> 300K	Ningún tipo de enriquecimiento
<i>Finland-US Investigation of NIDDM Genetics (FUSION)</i> (Scott <i>et al.</i> , 2007)	1161/ 1174	Finlandia	<i>Illumina</i> 300K	Con historia familiar de DT2
<i>Diabetes Gene Discovery Group</i> (Sladek <i>et al.</i> , 2007)	694/ 645	Francia	<i>Illumina</i> 300K + <i>Illumina</i> 100K	Con historia familiar de DT2, edad de diagnóstico menor a 45 años, IMC<30
<i>DiaGen</i> (Salonen <i>et al.</i> , 2007)	500/ 497	Finlandia del Este, Alemania, Inglaterra, Ashkenazi	<i>Illumina</i> 300K	Con historia familiar, edad de diagnóstico <60 años
Pima (Hanson <i>et al.</i> , 2007)	300/ 334	Indios Pima	<i>Affymetrix</i> 100K	Con historia familiar de DT2, edad de diagnóstico <25 años
Starr Country, Texas (Hayes <i>et al.</i> , 2007)	281/ 280	Mexico- Americanos	<i>Affymetrix</i> 100K	Controlado por mezcla étnica
<i>BioBank</i> (Unoki <i>et al.</i> , 2008)	194/ 1556	Japón	Panel de diseño ~268K	Con retinopatía
<i>Japanese multi-disease collaborative genome scan</i> (Yasuda <i>et al.</i> , 2008)	187/ 1504	Japón	Panel de diseño 100K	Ningún tipo de enriquecimiento
<i>Old Order Amish</i> (Rampersaud <i>et al.</i> , 2007)	124/ 295	Amish	<i>Affymetrix</i> 100K	Con historia familiar de DT2
<i>Framingham Health Study</i> (Florez <i>et al.</i> , 2007)	91/ 1087	Massachusetts	<i>Affymetrix</i> 100K	Ningún tipo de enriquecimiento
WTCCC, DGI, FUSION (Zeggini <i>et al.</i> , 2008)	4549/ 5579	Inglaterra, Finlandia, Suecia	<i>Affymetrix</i> 500K <i>Illumina</i> 300K	Con historia familiar de DT2, edad de diagnóstico <65 años, pacientes delgados

Modificada de (Prokopenko *et al.*, 2008).

Son pocos los estudios genéticos de DT2 en la población mestiza mexicana. A la fecha, en nuestra población sólo se han obtenido asociaciones positivas en los genes *TCF7L2* rs12255372 (OR=1.78, IC 95%: 1.11-2.88, $p=0.017$) (Parra *et al.*, 2007) y *ABCA1* rs9282541 (OR=2.76, IC 95%: 1.87-3.92, $p=9.4 \times 10^{-8}$) en diabéticos de inicio temprano (Villarreal-Molina *et al.*, 2008). La primera es la variante común con mayor efecto de riesgo reportada hasta el momento; mientras que la segunda es una variante rara (específica de poblaciones amerindias), que también se ha asociado con bajos niveles séricos de lipoproteínas de alta densidad (HDL, *High Density Lipoprotein*) y obesidad (Villarreal-Molina *et al.*, 2007). En cuanto a la DG, los reportes son más escasos aún. Sólo hay tres reportes donde se replican en poblaciones europeas y asiáticas, algunas de las variantes inicialmente asociadas a la DT2 (Cho *et al.*, 2009; Lauenborg *et al.*, 2009; Shaat *et al.*, 2005); para población mestiza mexicana, aún no hay estudios genéticos de la DG.

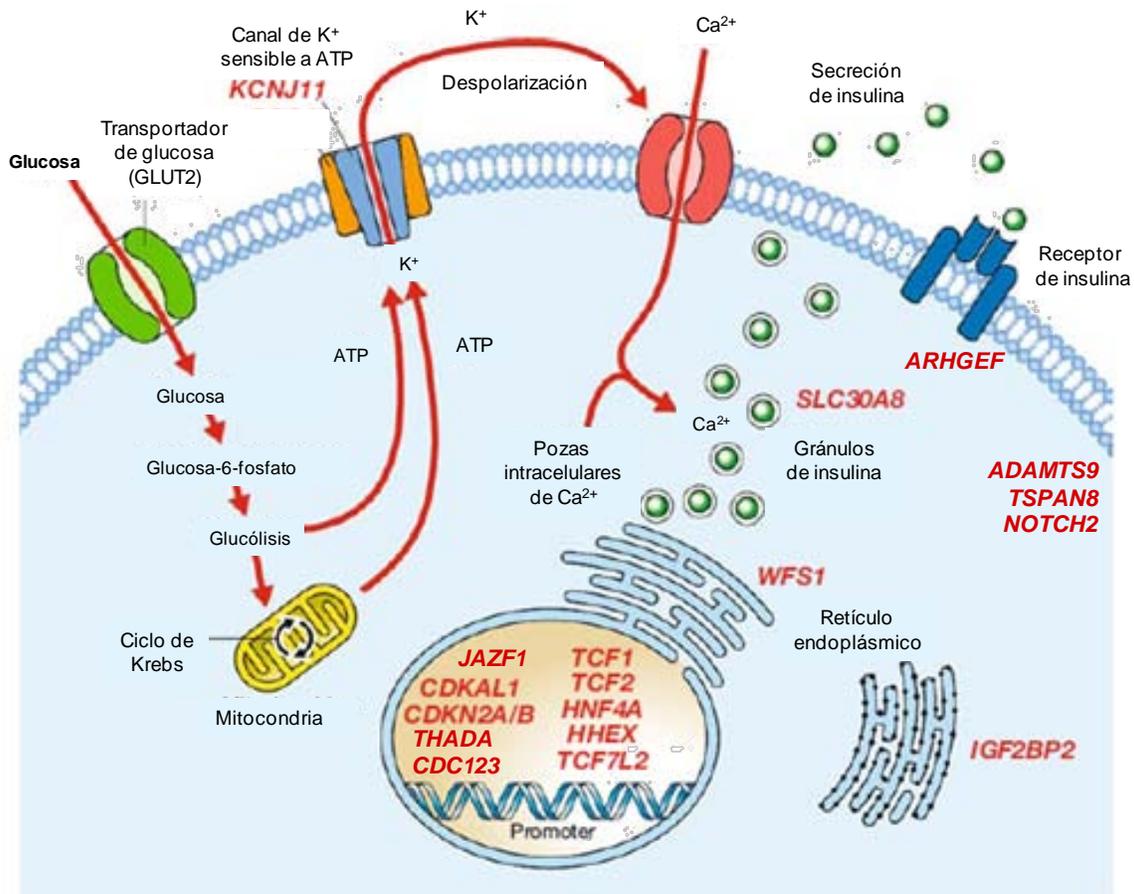


Figura 1.5. Localización de las proteínas codificadas por los genes asociados a la DT2 en la célula pancreática. Durante el ayuno, los niveles de glucosa basales oscilan entre 5-6 mM y la membrana de las células β está polarizada (-80 mV). Cuando la glucosa entra a la célula a través de su transportador GLUT2 y es metabolizada, aumenta el ratio ATP/ADP. Esto provoca el cierre de los canales de K⁺ (KCNJ11) y se inicia la despolarización del potencial de membrana; al alcanzar -40 mV, aumenta la probabilidad de apertura de los canales de Na⁺ y Ca²⁺ dependientes de voltaje. La entrada de ambos iones a la célula causa una despolarización subsecuente que lleva a la apertura de los canales de alto voltaje dependientes de Ca²⁺ y por último, la exocitosis de la insulina. El Ca²⁺ puede provenir de los almacenes en retículo endoplásmico, donde WFS1 regula su transporte. La insulina se asocia en hexámeros con dos iones de Zn²⁺ para facilitar su empaquetamiento y almacén. Dicho ion entra a las vesículas que la contienen a través de transportadores de Zn²⁺ (SLC30A8). La insulina excitada se une a sus receptores en los órganos blancos y en la misma célula β (autoregulación) para ejercer sus efectos metabólicos. Dentro de la ruta de señalización de la hormona participan proteínas reguladoras como ARHGEF11. Existen otras proteínas que pueden estimular respuestas similares a las de la insulina como el IGF2, el cual está regulado por IGF2BP2. La función β pancreática puede verse comprometida cuando existe algún defecto en el desarrollo embrionario, dentro del cual participan factores de transcripción como JAZF1, HHEX, HNF4A, TCF1, TCF2 y TCF7L2 y, otras proteínas como NOTCH2, ADAMTS9 y TSPAN8/LGR5. Finalmente, es posible que una alteración en la tasa de apoptosis (THADA); o bien, en el recambio de la masa pancreática, influya en la capacidad secretoria de la misma (CDKN2A/2B, CDC123). Es importante mencionar que muchos de estos genes se expresan también en otros tejidos humanos. *Modificada de (Florez, 2008).*

En las tablas subsecuentes, se hace un resumen de algunos de los genes asociados a la DT2, información biológica, evidencia fisiológica de su participación en la enfermedad, las magnitudes de sus efectos en distintas poblaciones y, su relación con la DG (tablas 1.6-1.9).

Tabla 1.6. Genes asociados a la DT2.

Gen	Cr	Tipo de molécula	Función	Expresión	Relación DT2
KCNJ11	11p15.1	Subunidad Kir6.2 del canal de K ⁺ membranaral	Forma el poro que conduce los iones K ⁺ . Ante un aumento de ATP citosólico, el canal cierra provocando la despolarización de las células β y finalmente, la liberación de insulina (Riedel <i>et al.</i> , 2005).	Ubicua	Disfunción célula β, resistencia a la insulina
SLC30A8	8q24.11	Transportador de Zn ²⁺ membranaral	Permite la entrada de Zn ²⁺ a las vesículas donde se almacenará la insulina, formando hexámeros con ésta (Lemaire <i>et al.</i> , 2009).	Células β Adipocitos	Disfunción célula β
HHEX/ IDE	10q23.33	Factor de transcripción homeobox // Enzima degradadora de insulina	Regula el desarrollo embrionario de hígado, páncreas tiroides, linfocitos, entre otros (Hunter <i>et al.</i> , 2007) // Metalopeptidasa dependiente de Zn ²⁺ que degrada la insulina intracelular (Pivovarova <i>et al.</i> , 2009a).	Endodermo, hígado y tiroides adultos // Ubicua	Disfunción célula β
CDKN2A/ 2B	9p21	Proteínas de unión a cinasas dependientes de ciclina	Proteínas supresoras de tumores que inhiben a CDK4 y CDK6, cinasas promotoras de la proliferación (Kim <i>et al.</i> , 2006).	Ubicuas	Disfunción célula β
CDKAL1	6p22.3	Proteína regulatoria de CDK5	Se une a p35, una proteína que a su vez regula a CDK5, cinasa implicada en la expresión de la insulina (Wei <i>et al.</i> , 2005).	Células β	Disfunción célula β
IGF2BP2	3q27.2	Proteína regulatoria	Se une a la 5' UTR del RNAm de IGF2 (factor de crecimiento tipo insulina 2) y desacopla su traducción. IGF2 está involucrado en el desarrollo postnatal (Chao <i>et al.</i> , 2008; Christiansen <i>et al.</i> , 2009).	Tejidos embrionarios; cerebro, intestino, músculo, hígado, páncreas adultos	Disfunción célula β
ARHGEF11	1q21	Factor de intercambio de nucleótido guanina Rho	Interacciona con GTPasas pequeñas y funciona como interruptor molecular (Ma <i>et al.</i> , 2007).	Ubicuo	Disfunción célula β
JAZF1	7p15.1	Represor transcripcional de NR2C2	Involucrado en la expresión de NR2C2, receptor nuclear que favorece el crecimiento peri y postnatal (Frayling <i>et al.</i> , 2008).	Ubicuo	Desconocida
CDC123/ CAMK1D	10p13	Proteína reguladora del ciclo celular // Cinasa dependiente de Ca ²⁺ -calmodulina	CDC123 es necesaria para la entrada a fase S del ciclo celular; ante privación nutricional disminuye los niveles de eIFy (Bieganowski <i>et al.</i> , 2004; Onisto <i>et al.</i> , 1998). // CAMK1D es una cinasa citosólica que regula procesos de proliferación celular, apoptosis y balance de energía; sin embargo, sus sustratos fisiológicos aún no se conocen (Colomer <i>et al.</i> , 2007; Soderling, 1999).	Bazo, timo, próstata, testículo, ovario, intestino, colon, leucocitos // Ubicua	Desconocida
TSPAN8/ LGR5	12q14.1	Glucoproteína de membrana // Receptor 5 acoplado a proteína G	TSPAN8 se acopla con integrinas y regula señales de transducción para el desarrollo, activación, crecimiento y motilidad celular (Zoller, 2009) // LGR5 es un marcador de células madre que se expresa en células en división activa (Haegebarth <i>et al.</i> , 2009).	Células escamosas, músculo liso y estriado, endotelio vascular // Intestino, folículos pilosos, ojo, cerebro, mamas, órganos reproductivos, estómago	Desconocida
THADA	2p21	Gene asociado al adenoma de tiroides	Parece ser una proteína en la cual se unen otras involucradas con la ruta del receptor de muerte y apoptosis. Es un sitio blanco de rearrreglos observados en las neoplasias de tiroides (Drieschner <i>et al.</i> , 2007).	Ubicua	Desconocida
ADAMTS9	3p14.3	Metalopeptidasa	Implicada en la ruptura de proteoglicanos para controlar el desarrollo y la maduración de los órganos, e inhibición de la angiogénesis (Boesgaard <i>et al.</i> , 2009).	Tejidos fetales; corazón y músculo esquelético adultos	Desconocida
NOTCH2	1p13	Proteína de membrana de unión a ligandos	Participa en el desarrollo vascular, renal y hepático. Se expresa en células del ducto embrionarias durante la organogénesis pancreática (Rooman <i>et al.</i> , 2006).	Tejidos fetales	Desconocida

Tabla 1.7. Evidencia biológica de la participación de los genes asociados a la DT2.

Gen	SNP	Ubicación	Evidencia funcional del gen y/o SNP	Evidencia del SNP en humanos
KCNJ11	rs5219	Exón 1 E23K	El alelo K aumenta la actividad del canal de K ⁺ y en consecuencia disminuye la secreción de la insulina, lo que aumenta la disponibilidad de sustratos. No obstante, con el estilo de vida occidental, donde los niveles de ácidos grasos circulantes son elevados, representa una desventaja. Estas moléculas se unen al canal aumentando más la corriente del canal, disminuye la respuesta a la glucosa y finalmente, genera hiperglucemia (Riedel <i>et al.</i> , 2005; Wan <i>et al.</i> , 2009).	↑ IMC (Riedel <i>et al.</i> , 2005), ↓ secreción de insulina (Villareal <i>et al.</i> , 2009).
SLC30A8	rs13266634	Exón 10 R325W	El Zn ²⁺ es esencial para la formación de los cristales de insulina y hacer eficiente su empaquetamiento y almacén; pero no modifica el procesamiento de la hormona (Lemaire <i>et al.</i> , 2009). La disminución en su expresión en condiciones de hiperglucemia o bajo dietas altas en grasa, da como resultado una disminución en la secreción de la insulina porque el contenido de insulina intracelular es insuficiente (Fu <i>et al.</i> , 2009; Lemaire <i>et al.</i> , 2009).	↑ efecto en diabéticos no obesos (Cauchi <i>et al.</i> , 2008), ↓ secreción de la insulina de primera fase (Boesgaard <i>et al.</i> , 2008).
HHEX/ IDE	rs1111875 rs7923837	Intergénico Intergénico	La ausencia de HHEX detiene el desarrollo del hígado y páncreas y es letal, en modelos murinos. Además, regula la expresión de otros factores de transcripción ya implicados en la DT2 (HNF1β, HNF4α) (Hunter <i>et al.</i> , 2007) // IDE degrada a la insulina una vez que ha producido su efecto. Tanto el ATP como los ácidos grasos libres interactúan con IDE y la inhiben; de modo que en condiciones de hiperglucemia, disminuye su actividad y puede producirse hiperinsulinemia (Pivovarova <i>et al.</i> , 2009a).	↑ efecto en diabéticos obesos (Horikoshi <i>et al.</i> , 2007), ↓ secreción de insulina (Staiger <i>et al.</i> , 2007), ↓ peso al nacer (Freathy <i>et al.</i> , 2009).
CDKN2A/2B	rs10811661	Intergénico	CDKN2a y 2b se unen a las CDK4 y 6, responsables del paso de G1 a S del ciclo celular, y las inhiben. Cuando envejecemos, aumentan sus niveles de expresión, lo cual detiene la regeneración celular. Se ha visto deletado en adenocarcinomas pancreáticos (Kim <i>et al.</i> , 2006). En la célula β, la activación de CDKN2a produce reducción en la masa β pancreática y en la secreción de insulina (Dhawan <i>et al.</i> , 2009).	↓ secreción de insulina (Horikoshi <i>et al.</i> , 2007).
CDKAL1	rs7754840 rs10484634	Intrón 5 Intrón 2	Cdkal1 podría ser el inhibidor del complejo CDK5/p35, al unirse a este último (Steinthorsdottir <i>et al.</i> , 2007). Esto evita que el factor de transcripción Pdx-1 salga del núcleo, se una al promotor del gen de la insulina y continúe su expresión, bajo condiciones de hiperglucemia (Ubeda <i>et al.</i> , 2006). Además, aumenta el influjo de Ca ²⁺ a las células β y con ello, la secreción de la insulina (Wei <i>et al.</i> , 2005).	↓ secreción de insulina, ↓ conversión proinsulina-insulina (Kirchhoff <i>et al.</i> , 2008).
IGF2BP2	rs4402960 rs1470579	Intrón 2 Intrón 2	El SNP podría tener una interacción con la malnutrición fetal para afectar el metabolismo de glucosa en el adulto (van Hoek <i>et al.</i> , 2009).	↓ secreción de insulina (Horikoshi <i>et al.</i> , 2007).
ARHGEF11	rs945508	Exón 39 R1467H	Arhgef11 participa en la regulación de la vía de señalización de la insulina, pero no hay suficiente evidencia reportada.	↓ incorporación de glucosa (Ma <i>et al.</i> , 2007), ↓ almacenamiento de glucosa (Ma <i>et al.</i> , 2007).
JAZF1	rs864745	Intrón 1	Los ratones carentes de NR2C2 sufren de hipoglucemia neonatal y postnatal (Frayling <i>et al.</i> , 2008). NR2C2 puede inducir la expresión de ApoE en células HepG2, por lo que podría estar implicado en la aterosclerosis (Kim <i>et al.</i> , 2003) y funciona como un sensor de ácidos grasos para modular la formación de células (Xie <i>et al.</i> , 2009).	↓ IMC, ↓ resistencia a insulina, ↓ secreción de insulina (Grarup <i>et al.</i> , 2008).
CDC123/ CAMK1D	rs12779790	Intergénico	No se ha reportado una relación directa.	↓ secreción de insulina, ↓ respuesta a la insulina (Grarup <i>et al.</i> , 2008).
TSPAN8/ LGR5	rs7961581	Intergénico	TSPAN8 se sobreexpresa en carcinoma hepático y pancreático (Zoller, 2009). Para LGR5 no se ha reportado una relación directa.	↓ secreción de insulina, ↓ respuesta a la insulina (Grarup <i>et al.</i> , 2008).
THADA	rs7578597	Exón 24 T1187A	No se ha reportado una relación directa.	↓ respuesta β pancreática (Simonis-Bik <i>et al.</i>).
ADAMTS9	rs4607103	Intergénico	No se ha reportado una relación directa.	↓ sensibilidad a la insulina (Boesgaard <i>et al.</i> , 2009).
NOTCH2	rs10923931	Intrón 5	NOTCH2 se puede reactiva en el adulto, lo cual está involucrado con la regeneración del tejido pancreático, hepático y muscular. También puede causar metaplasias (Rooman <i>et al.</i> , 2006).	No hay evidencia.

Tabla 1.8. Magnitud del efecto de los genes asociados a la DT2 en diferentes poblaciones.

Gen	SNP	Población	Alelo menor	Alelo riesgo	f alelo riesgo	OR (IC95%)	p	Referencia
KCNJ11	rs5219	Europea	T	T	0.47	1.14 (1.10-1.19)	6.7x10 ⁻¹¹	(Saxena <i>et al.</i> , 2007)
		Asiática	C	C	0.37	1.03 (0.89-1.20)	0.68	(Horikoshi <i>et al.</i> , 2007)
SLC30A8	rs13266634	Europea	T	C	0.65	1.12 (1.07-1.16)	5.3x10 ⁻⁸	(Saxena <i>et al.</i> , 2007)
		Asiática	C	C	0.43	1.19 (1.03-1.37)	0.016	(Horikoshi <i>et al.</i> , 2007)
HHEX/IDE	rs1111875	Europea	T	C	0.53	1.13 (1.08-1.17)	5.7x10 ⁻¹⁰	(Saxena <i>et al.</i> , 2007)
		Asiática	C	C	0.26	1.30 (1.11-1.52)	0.0013	(Horikoshi <i>et al.</i> , 2007)
	rs7923837	Europea	A	G	0.62	1.22 (1.01-1.43)	3.4x10 ⁻⁶	(Saxena <i>et al.</i> , 2007)
		Asiática	G	G	0.19	1.40 (1.17-1.68)	2x10 ⁻⁴	(Horikoshi <i>et al.</i> , 2007)
CDKN2A/2B	rs10811661	Europea	C	T	0.83	1.20 (1.14-1.25)	7.8x10 ⁻¹⁵	(Saxena <i>et al.</i> , 2007)
		Asiática	C	T	0.43	1.22 (1.05-1.41)	0.0076	(Horikoshi <i>et al.</i> , 2007)
CDKAL1	rs7754840	Europea	C	C	0.31	1.12 (1.08-1.16)	4.1x10 ⁻¹¹	(Saxena <i>et al.</i> , 2007)
	rs10484634	Asiática	C	C	0.36	1.29 (1.17-1.43)	1.0x10 ⁻⁶	(Ng <i>et al.</i> , 2008)
		Mexico-americana	C	T	0.95	2.83 (n.d.)	0.004	(Hayes <i>et al.</i> , 2007)
IGF2BP2	rs4402960	Europea	T	T	0.30	1.14 (1.11-1.18)	8.9x10 ⁻¹⁶	(Saxena <i>et al.</i> , 2007)
		Asiática	T	T	0.31	1.05 (0.90-1.23)	0.55	(Horikoshi <i>et al.</i> , 2007)
	rs1470579	Europea	C	C	0.30	1.17 (1.11-1.23)	1.13x10 ⁻⁹	(Saxena <i>et al.</i> , 2007)
		Asiática	C	C	0.35	1.12 (0.96-1.30)	0.16	(Horikoshi <i>et al.</i> , 2007)
ARHGEF11	rs945508	Alemana	C	C	0.46	1.43 (1.12-1.87)	0.004	(Bottcher <i>et al.</i> , 2008)
		Amish	T	C	0.53	0.66 (0.44-0.98)	0.04	(Fu <i>et al.</i> , 2007)
		Pima	T	T	0.10	3.39 (1.29-8.93)	0.01	(Ma <i>et al.</i> , 2007)
JAZF1	rs864745	Europea	C	T	0.50	1.10 (1.07-1.13)	5x10 ⁻¹⁴	(Zeggini <i>et al.</i> , 2008)
		Asiática	C	T	0.79	1.15 (1.03-1.27)	0.0098	(Omori <i>et al.</i> , 2009)
CDC123/CAMK1D	rs12779790	Europea	G	G	0.18	1.11 (1.07-1.14)	1.2x10 ⁻¹⁰	(Zeggini <i>et al.</i> , 2008)
		Asiática	G	G	0.15	1.11 (0.99-1.26)	0.0729	(Omori <i>et al.</i> , 2009)
TSPAN8/LGR5	rs7961581	Europea	C	C	0.27	1.09 (1.06-1.12)	1.1x10 ⁻⁹	(Zeggini <i>et al.</i> , 2008)
		Asiática	C	C	0.21	1.099 (0.99-1.22)	0.0730	(Omori <i>et al.</i> , 2009)
THADA	rs7578597	Europea	C	T	0.90	1.15 (1.10-1.20)	1.1x10 ⁻⁹	(Zeggini <i>et al.</i> , 2008)
ADAMTS9	rs4607103	Europea	T	C	0.76	1.09 (1.06-1.12)	1.2x10 ⁻⁸	(Zeggini <i>et al.</i> , 2008)
NOTCH2	rs10923931	Europea	T	T	0.11	1.13 (1.08-1.17)	4.1x10 ⁻⁸	(Zeggini <i>et al.</i> , 2008)

n.d., no disponible

Tabla 1.9. Magnitud del efecto de los genes inicialmente asociados a la DT2, en mujeres con DG.

Gen	SNP	Población	Alelo menor	Alelo riesgo	f alelo riesgo	OR (IC95%)	p	Referencia
KCNJ11	rs5219	Europea	T	T	0.36	1.20 (0.99-1.45)	0.070	(Lauenborg <i>et al.</i> , 2009)
		Asiática	T	T	0.38	1.12 (0.97-1.30)	0.130	(Cho <i>et al.</i> , 2009)
SLC30A8	rs13266634	Europea	T	C	0.17	1.19 (0.97-1.44)	0.092	(Lauenborg <i>et al.</i> , 2009)
		Asiática	T	C	0.59	1.24 (1.07-1.43)	0.005	(Cho <i>et al.</i> , 2009)
HHEX/IDE	rs1111875	Europea	T	C	0.59	1.18 (0.98-1.43)	0.082	(Lauenborg <i>et al.</i> , 2009)
		Asiática	C	C	0.31	1.27 (1.09-1.49)	0.003	(Cho <i>et al.</i> , 2009)
	rs7923837	Asiática	G	G	0.21	1.26 (1.06-1.50)	0.011	(Cho <i>et al.</i> , 2009)
		Europea	C	T	0.83	1.13 (0.88-1.46)	0.340	(Lauenborg <i>et al.</i> , 2009)
CDKN2A/2B	rs10811661	Asiática	C	T	0.51	1.49 (1.29-1.72)	1.1x10 ⁻⁷	(Cho <i>et al.</i> , 2009)
		Europea	C	T	0.46	1.55 (1.34-1.79)	4.2x10 ⁻⁹	(Cho <i>et al.</i> , 2009)
CDKAL1	rs7754840	Asiática	C	C	0.46	1.55 (1.34-1.79)	4.2x10 ⁻⁹	(Cho <i>et al.</i> , 2009)
		Europea	T	T	0.30	1.16 (0.95-1.41)	0.130	(Lauenborg <i>et al.</i> , 2009)
IGF2BP2	rs4402960	Europea	T	T	0.30	1.16 (0.95-1.41)	0.130	(Lauenborg <i>et al.</i> , 2009)
		Asiática	T	T	0.30	1.18 (1.01-1.38)	0.034	(Cho <i>et al.</i> , 2009)

JUSTIFICACIÓN

Los avances en la identificación de los genes implicados en la DT2 han sido muy lentos y, aunque los reportes más recientes (GWAS) han arrojado mucha información, la mayoría se han enfocado en el estudio de poblaciones con ancestría europea. Las plataformas de genotipificación han sido diseñadas con base en información genética caucásica, de modo que sólo permiten detectar las variantes que están presentes en dichas poblaciones. Las réplicas de estos estudios en otras, principalmente asiáticas, han demostrado que aunque algunas variantes de riesgo son comunes entre poblaciones, sus frecuencias alélicas y la magnitud del efecto, son diferentes. Aún más, con las mismas plataformas, se han podido identificar nuevas variantes de riesgo que no fueron reportadas para las poblaciones en donde originalmente se investigó. Pese a los esfuerzos, se ha calculado que sólo una pequeña proporción (10%) de la variación total en la predisposición a la DT2 ha sido descrita (Prokopenko *et al.*, 2008).

La población mestiza mexicana se originó hace 8.8 ± 1.2 generaciones (Price *et al.*, 2007), a partir de la mezcla de ancestría europea, amerindia y africana (50%, 45% y 5%, respectivamente), de modo que es importante saber cuáles de las variantes alélicas que se han reportado en poblaciones europeas y que han replicado en asiáticas, son también de riesgo en la población mestiza mexicana. Por otra parte, la prevalencia de la DT2 en población amerindia (46% en 1998) es mucho mayor que en población mestiza mexicana (21.5% en 2006) y la prevalencia en ésta, a su vez, es mayor que en la de población española (9.9% en 2003). Debido a lo anterior, este estudio servirá para reconocer si la contribución de las variantes comunes en el riesgo poblacional es alta y; la conveniencia de identificar variantes con mayor efecto, o bien, específicas de nuestra población mediante estrategias alternas.

Ya se han reportado diferencias en las características fisiopatológicas de los pacientes diabéticos, pero a la fecha sólo se ha analizado la modulación del efecto de riesgo de las variantes debido a la obesidad y la predisposición de los pacientes que se diagnostican jóvenes con respecto al resto. Dichos resultados sugieren que las variantes que afectan la capacidad secretoria de las células β confieren mayor riesgo en los diabéticos no obesos; por su parte, las que aumentan la resistencia a la insulina modulan el riesgo en los sujetos obesos (Cauchi *et al.*, 2008). Otros estudios proponen que habrían regiones de susceptibilidad específicas en los diabéticos jóvenes y que el componente genético podría ser menor en aquéllos diagnosticados a mayor edad, o bien, que en su etiología participa fuertemente el ambiente (Frayling *et al.*, 2003).

Por ello, estudiar distintos grupos de pacientes diabéticos permitirá identificar si sus características fisiológicas son debidas a diferencias genéticas entre ellos. La arquitectura genética de la DT2 podría ser diferente en individuos obesos, en aquellos que son diagnosticados a

temprana edad y que desarrollan complicaciones rápidamente, así como en los que no requieren un control y seguimiento médico tan estricto. Sabemos que también hay diferencias poblacionales en las prevalencias no sólo de la DT2, sino de la obesidad y distintas dislipidemias, de modo que las interacciones genético-ambientales serán específicas de cada población, por lo que es fundamental hacer estos estudios en población mestiza mexicana.

Finalmente, la dificultad para distinguir entre mujeres con intolerancia a los carbohidratos y DT2 no diagnosticada, ha hecho muy complicado el análisis genético de la DG, sobre todo en poblaciones con alta prevalencia de DT2 como lo es la población mestiza mexicana. Es por ello que nos interesa saber si para ambas patologías existen regiones genéticas de susceptibilidad compartidas, así como valorar la pertinencia de buscar variantes específicas de la DG.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de 16 variantes alélicas comunes, identificadas por medio de GWAS, en la susceptibilidad al desarrollo de DT2 y DG, así como fenotipos relacionados en pacientes de la población mestiza mexicana, mediante un análisis de asociación de diseño caso-control.

Objetivos particulares

- Calcular las frecuencias alélicas de las variantes en personas normoglucémicas y en diferentes grupos de sujetos que padecen DT2, estratificados según características de interés; así como en mujeres embarazadas que cursan o no con DG.
- Comparar las frecuencias alélicas entre las muestras de DT2 y de DG.
- Calcular el riesgo que confieren individualmente las variantes alélicas en la susceptibilidad a la DT2 y a la DG en la población mestiza mexicana general o en diferentes grupos de diabéticos.
- Analizar si las variantes que resulten asociadas, presentan interacción génica que pueda modular su efecto.
- Analizar si poseer carga alélica alta tiene algún efecto en la susceptibilidad a desarrollar DT2 y/o DG.
- Determinar si los genotipos de riesgo se relacionan con alguna característica propia de la DT2 y/o DG.

HIPÓTESIS

Dado que la población mestiza mexicana tiene una contribución del 50% de ancestría europea, algunas de las variantes alélicas comunes identificadas para ésta, conferirán susceptibilidad a la DT2 y a la DG en nuestra población, tomando en cuenta la similitud fisiopatológica y genética entre ambas.

2. DISEÑO EXPERIMENTAL

2.1. Sujetos de estudio

Se reunió una muestra de individuos mestizos mexicanos no relacionados (donde los probandos, padres y abuelos se reconocieron como mexicanos), y mayores de 18 años de edad. Para cada sujeto, se elaboró una hoja de colección de datos, en la cual se recabó información sociodemográfica, datos antropométricos, antecedentes clínicos personales y heredofamiliares. Para el grupo de DG también se recolectaron datos diagnósticos y de los recién nacidos (Apéndice I). Además, se les tomó una muestra de sangre después de ayuno de doce horas para la purificación de DNA y la medición de rasgos bioquímicos. Para cada grupo se tomaron en cuenta los siguientes criterios:

2.1.1. Muestra de DT2

Está integrada por individuos atendidos en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) y clínicas de referencia del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE), así como de participantes de la Encuesta Nacional de Salud (ENSA) 2000. Todos los sujetos se diagnosticaron según los criterios de la ADA, de 2007 (tabla 1.2). El grupo de casos fue estratificado de acuerdo a la edad de diagnóstico, según lo reportado en otros estudios (Flavell *et al.*, 2005; Frayling *et al.*, 2003): llamamos de *inicio temprano* a aquellos pacientes diagnosticados antes de los 45 años de edad y; de inicio tardío a aquellos cuyo diagnóstico se hizo a partir de los 45 años de edad (tabla 2.1).

Para fines de comparación, se reclutó tanto personas diabéticas que necesitaron acudir a instituciones hospitalarias para controlar la enfermedad o alguna complicación (INCMNSZ, ISSSTE), como individuos diabéticos captados de población abierta (ENSA).

Tabla 2.1. Criterios de inclusión y exclusión para la muestra de DT2.

Grupo	Inclusión	Exclusión
Controles	Diagnóstico negativo a DT2	No mestizos mexicanos
	Edad \geq 45 años, <90 años Sin antecedentes de DT2 de primer grado y abuelos	
Casos	Diagnóstico positivo a DT2	No mestizos mexicanos DT1
	Edad >18 años, <90 años	

2.1.2. Muestra de DG

Está integrada por mujeres embarazadas atendidas en el Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes (INPer) y el Hospital 20 de Noviembre (H20N) del ISSSTE, para todas se siguió el mismo protocolo de diagnóstico. Se les realizó una CTOG de 100 g y el diagnóstico se

llevó a cabo siguiendo los criterios de Carpenter y Coustan, 1982. Los casos se clasificaron según la severidad de la DG, de acuerdo a la clasificación propuesta por Freinkel, 1980: se consideró *DG tipo A1*, cuando la concentración de glucosa sérica en ayuno fue menor a 105 mg/dL; *DG tipo A2*, cuando los niveles se encontraron entre 105-129 mg/dL y; *DG tipo B1*, cuando la glucosa ≥ 130 mg/dL. Una vez concluido el embarazo, las mujeres con DG recibieron una solicitud para que acudieran entre la semana 6-8 del puerperio a la realización de una CTOG de 75 g para la reclasificación de la DM. De acuerdo a los resultados se clasificaron según los criterios de la ADA, ya mencionados (tabla 1.2).

El intervalo de semanas de gestación en que fue realizado el diagnóstico fue ampliado con respecto al propuesto por Carpenter y Coustan. Dado que es durante el segundo trimestre del embarazo cuando se establece el mayor pico de resistencia a la insulina; decidimos ampliar el intervalo: 1) hacia el final del embarazo en controles, puesto que se descarta que se desarrolle hiperglucemia en semanas de gestación avanzadas y 2) hacia el inicio del embarazo en casos, para identificar a aquellas mujeres que desarrollan hiperglucemia temprana. Por otra parte, se excluyeron mujeres con otros padecimientos que modifican *per se* el metabolismo de carbohidratos (tabla 2.2).

Tabla 2.2. Criterios de inclusión y exclusión para la muestra de DG.

Grupo	Inclusión	Exclusión
Controles	Diagnóstico negativo a DG CTOG realizada en semanas de gestación 22-35	No mestizas mexicanas Edad <18 años DT1, DT2
Casos	Diagnóstico positivo a DG CTOG realizada en semanas de gestación 16-30	Hipotiroidismo Hipertiroidismo Síndrome de ovario poliquístico

2.2. Mediciones bioquímicas y cálculos

Todas las determinaciones fueron realizadas en el Departamento de Endocrinología y Metabolismo de Lípidos del INCMNSZ, se utilizaron procedimientos comerciales estandarizados (*Boehringer, Mannheim*). Glucosa; colesterol total, HDL y triglicéridos fueron medidos por métodos enzimáticos. La insulina se midió por radioinmunoensayo; mientras que los niveles de LDL se calcularon usando la fórmula de Friedewald (1972).

El estado nutricional de los participantes se evaluó mediante el cálculo del índice de masa corporal (IMC), el cual fue calculado siguiendo la fórmula: $IMC = \frac{\text{peso en kg}}{\text{talla en m}^2}$. Se usaron como puntos de corte, los valores propuestos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) ("Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic. Report of a Who Consultation," 2000): *obesidad* cuando el $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ y, *no obesidad* cuando el $IMC < 30 \text{ kg/m}^2$.

También fueron calculados los índices de evaluación del modelo homeostático (HOMA, *Homeostasis Model Assessment*). Dichos índices son medidas basadas en modelos matemáticos que permiten evaluar el grado de disfunción de la célula β y resistencia a la insulina a partir de datos de glucosa e insulina en ayuno. Se diseñaron con información en humanos, construyendo gráficos de las concentraciones de glucosa e insulina en ayuno que son esperadas para diferentes grados de disfunción β y resistencia a la insulina; de modo que uno puede estimar los índices a partir de datos de los pacientes (Matthews *et al.*, 1985). De esta forma, se puede predecir:

- 1) HOMA B (% de función de la célula β) = $20 \times \text{insulina} / \text{glucosa} - 3.5$
- 2) HOMA IR (resistencia a la insulina) = $\text{insulina} \times \text{glucosa} / 405$
- 3) HOMA S (% de sensibilidad a la insulina por parte de sus órganos blancos) = $1 / \text{HOMA IR}$

Donde: glucosa (mg/dL) e insulina ($\mu\text{U/mL}$)

En este trabajo fue utilizada la aplicación HomaCalculator v.2.2.2 (<http://www.dtu.ox.ac.uk/homa>) que incluye modificaciones a las aproximaciones lineales, las cuales, toman en cuenta las variaciones en la resistencia a la glucosa hepática y periférica, el aumento en la curva de secreción de la insulina para concentraciones de glucosa plasmática por arriba de 180 mg/dL, así como la contribución de la proinsulina circulante. Además, el modelo fue recalibrado para los valores de HOMA B y HOMA S, de modo que dieran exactamente 100% en adultos jóvenes normales. El valor normal de HOMA IR es de 1.

El área bajo la curva (AUC, *Area Under the Curve*) de los niveles de glucosa plasmática durante la CTOG de 100 g fue calculada utilizando el método del trapecioide:

$$AUC = \left[\left(\frac{\text{gluc ayuno} + \text{gluc 60 min}}{2} \right) 60 \right] + \left[\left(\frac{\text{gluc 60 min} + \text{gluc 120 min}}{2} \right) 60 \right] + \left[\left(\frac{\text{gluc 120 min} + \text{gluc 180 min}}{2} \right) 60 \right]$$

De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA2-1993, sobre la Atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio y del recién nacido (Echeverría, 1993), se consideró: 1) *pretérmino* si el parto se dio entre la semana 28-36; 2) *prematuro* si el parto se dio entre la semana 28-37 pero el producto pesó entre 1.0-2.5 kg y; 3) *muerte neonatal* si el parto se dio después de la semana 21 pero el producto nació sin vida. Adicionalmente, se evaluó la edad gestacional con el método de Capurro, el cual considera datos somáticos y neurológicos del producto al momento del parto para su clasificación.

2.3. Genotipificación

El DNA genómico fue extraído de sangre total usando un *kit comercial* (Qiagen Cat.51162) y, fue resuspendido en agua miliQ. Se cuantificó utilizando un espectrofotómetro *NanoDrop 1000*

(*Thermo Scientific*) y, se hicieron diluciones a una concentración de 10 ng/μL. La genotipificación fue realizada usando ensayos KASPar (*Kbiosciences Allele Specific PcR*) de la compañía *KBiosciences* (Hoddesdon, UK). Dicha tecnología es un sistema de detección de SNP, cuya técnica se basa en la extensión de oligonucleótidos alelo-específicos y en la generación de la señal mediante fluorescencia. Emplea dos oligonucleótidos *forward* (uno por cada alelo) diseñados para cada variante, a los cuales se les acopla una cola no complementaria al DNA en su extremo 5' y; un oligonucleótido *reverse* común. Adicionalmente, utiliza cassetes FRET comunes (*Fluorescence Resonance Energy Transfer*), los cuales son dos oligonucleótidos complementarios a las colas de los alelo-específicos. Estos oligonucleótidos están marcados con fluoróforos (VIC ó FAM, cada uno reportero de un alelo).

El proceso de amplificación que emplea esta técnica es el siguiente: 1) desnaturalización del DNA, 2) alineación de los oligonucleótidos no marcados (dos *forward* alelo-específicos y un *reverse* común) y extensión, 3) desnaturalización de productos y nueva unión de oligonucleótidos, 4) extensión e incorporación de colas complementarias de forma alelo-específica, 5) desnaturalización de productos y de los cassetes FRET, 6) alineamiento e incorporación de los oligonucleótidos marcados a las colas complementarias, 7) extensión del oligonucleótido marcado y emisión de fluorescencia y 8) repeticiones de los ciclos. Es posible saber el genotipo de las muestras con base en la cuantificación diferencial de la fluorescencia emitida para cada alelo. Este método es el más eficiente y barato disponible hasta el momento ya que implica únicamente la síntesis de tres oligonucleótidos no marcados y, la discriminación no depende de la unión estable de estos al DNA (figura 2.1).

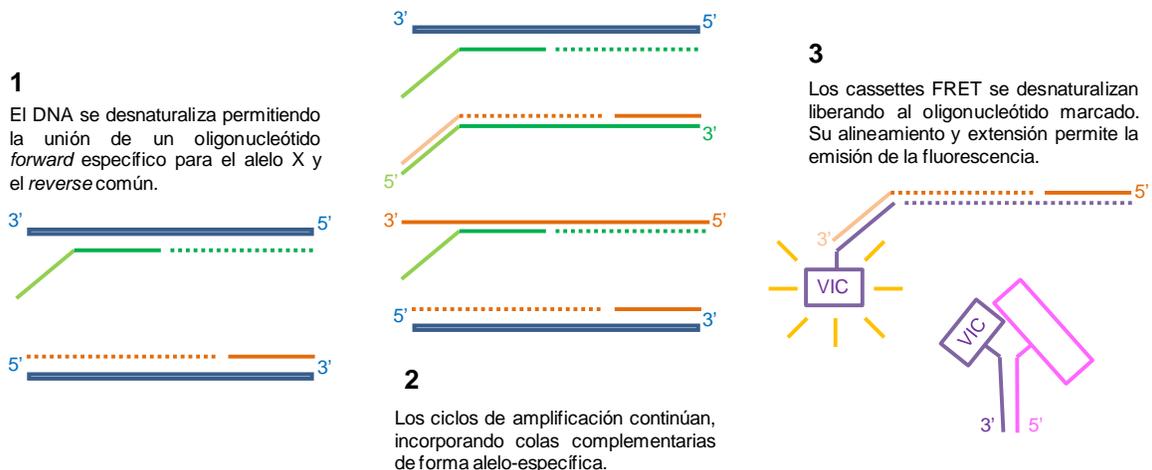


Figura 2.1. Funcionamiento de los ensayos KASPar. Se ejemplifica únicamente la discriminación de un solo alelo. La reacción incluye otro oligonucleótido *forward* para el alelo contrario y, un cassette FRET marcado con un fluoróforo distinto (FAM) y con una secuencia alterna que reconocerá la cola acoplada al extremo 5' del oligonucleótido específico.

Se utilizaron duplicados de muestras y controles de calidad (sólo agua). En la muestra de DT2, se genotipificó un total de 16 SNP correspondientes a 13 regiones génicas diferentes, reportados en los GWAS recientes (o bien en otras publicaciones de interés) y que han resultado asociados a la DT2 en poblaciones europeas y asiáticas: rs5219 (*KCNJ11*); rs13266634 (*SLC30A8*); rs1111875 y rs7923837 (*HHEX/IDE*); rs10811661 (*CDKN2A/2B*); rs7754840 y rs10484634 (*CDKAL1*); rs4402960 y rs1470579 (*IGF2BP2*); rs945508 (*ARHGEF11*); rs864745 (*JAZF1*); rs12779790 (*CDC123/CAMK1D*); rs7961581 (*TSPAN8/LGR5*); rs7578507 (*THADA*); rs4607103 (*ADAMTS9*); y rs10923931 (*NOTCH2*). Por su parte, en la muestra de DG sólo se genotipificaron 5 de los SNP que en las pruebas iniciales mostraron asociación a la DT2: rs5219 (*KCNJ11*); rs13266634 (*SLC30A8*); rs1111875 (*HHEX/IDE*); rs10811661 (*CDKN2A/2B*) y; rs7578507 (*THADA*). Esto, con el fin de explorar la relevancia de continuar el análisis del resto de las variantes.

2.4. Análisis estadístico

Todos los cálculos se realizaron usando los paquetes estadísticos STATA/SE v9.0 (StataCorp LP, USA) y SPSS v15.0. Se hicieron comparaciones entre parejas de grupos analizando entre medias, medianas o frecuencias, utilizando las pruebas de *t* de Student (variables con distribución normal), U de Mann-Whitney (variables con distribución no normal) ó, χ^2 (variables categóricas), respectivamente. Para comparar los genotipos entre grupos, se utilizaron las pruebas de χ^2 o exacta de Fisher. El equilibrio de Hardy-Weinberg (casos y controles por separado) y el desequilibrio de ligamiento entre SNP (muestra total) fueron calculados con el paquete estadístico R v2.7.1 (<http://www.r-project.org>).

Las asociaciones entre genotipos y enfermedad se probaron calculando la razón de momios (OR), a partir del ajuste de un modelo de regresión logística bajo diferentes modelos genéticos codificados de la siguiente forma: 1) *aditivo*, el efecto es dependiente del número de alelos de riesgo (0 homocigoto para el alelo de no riesgo, 1 heterocigoto, 2 homocigoto para el alelo de riesgo); 2) *dominante*, una sola copia del alelo de riesgo es suficiente para dar el efecto (0 homocigoto para el alelo de no riesgo, 1 heterocigoto y homocigoto para el alelo de riesgo) y 3) *recesivo*, se necesitan dos copias del alelo de riesgo para dar el efecto (0 homocigoto para el alelo de no riesgo y heterocigoto, 1 homocigoto para el alelo de riesgo).

En cada modelo se incluyeron las variables confusoras identificadas en las pruebas de comparación: 1) edad y/o sexo y/o IMC, para la asociación a DT2, 2) edad y/o sexo y/o DT2, para la asociación a obesidad y 3) edad y/o obesidad y/o antecedentes familiares a DT2, para la asociación a DG; cuando la *p* Wald > 0.05. Los modelos ajustados se usaron para calcular la probabilidad de un individuo a desarrollar la enfermedad en presencia de distintos genotipos,

suponiendo que tuvieran 30 años de edad e IMC de 25 kg/m². El poder estadístico de los modelos (probabilidad de que la prueba estadística detecte el riesgo real) fue calculado con el programa QUANTO v1.2 (<http://hydra.usc.edu/GXE>), utilizando como parámetros una prevalencia de 14.4% para DT2 (Olaiz, 2006), 8.4% para DG (Ramírez, 2005), de 30% para obesidad (Olaiz, 2006) y 70% para obesidad más sobrepeso (Olaiz, 2006). Asimismo, se consideró un error α del 95%.

Ahora bien, en la muestra de DT2, se analizó la asociación del genotipo y las variables continuas por medio del ajuste de modelos de regresión lineal incluyendo las variables confusoras: edad y/o sexo y/o IMC y/o procedencia de los casos y/o DT2, cuando la p [f] < 0.05. Se utilizó el modelo genético al cual se asoció el SNP en los análisis de asociación o; según el tamaño de muestra. En las pruebas que incluyeran múltiples comparaciones, se utilizó ANOVA de una vía en aquellas variables con distribución normal, así como; la prueba de Kruskal-Wallis, usando la prueba de U Mann-Whitney y el ajuste de Bonferroni como *post hoc*, en aquellas que no cumplieron con el supuesto de normalidad.

Además, se realizó un análisis de interacción génica entre pares de las variantes genotipificadas, utilizando dos métodos: 1) el programa MDR (*Multifactor Dimensionality Reduction*) (<http://www.multifactor dimensionality reduction.org/>) y, 2) modelos de regresión logística. El programa MDR es una herramienta no paramétrica y que no considera un modelo genético, de tal forma que es posible detectar interacciones de alto orden; no obstante, no contempla la participación de otras covariables (p.ej.: ambientales). Es por esto, que se decidió usar ambos métodos en la búsqueda de interacciones genéticas en nuestra muestra. MDR realiza permutaciones para minimizar los falsos positivos que resultarían de las múltiples comparaciones si se probaran todos los pares de SNP con modelos de regresión logística; y lo hace dividiendo el conjunto de datos tantas veces como se pida y, probando los modelos en las diferentes combinaciones. El mejor modelo es el que arroja los mismos resultados en la mayoría de las combinaciones solicitadas, a lo que se le llama *consistencia*. La *exactitud* de predicción de los modelos es un promedio de los valores de cada combinación (Moore *et al.*, 2006). El programa se configuró para hacer 10 divisiones y, se escogieron los modelos con la mejor consistencia y exactitud para ser probados con el método de regresión logística. Para estos, se consideró la muestra total; se usaron modelos aditivos y; se incluyeron las variables confusoras: edad y/o sexo y/o IMC, cuando la p [f] < 0.05.

Finalmente, considerando únicamente las variantes alélicas que resultaron asociadas a la DT2 en nuestra población, se analizó el efecto acumulativo de estas sobre el riesgo a la enfermedad. Para cada individuo se sumó el número de alelos de riesgo que portaban (0 si eran homocigotos para el alelo de no riesgo; 1 si eran heterocigotos; 2 si eran homocigotos para el alelo de riesgo), sólo fueron considerados aquellos cuyos datos de genotipificación para todos los SNP

incluidos estaban completos. Se realizaron histogramas para comparar la distribución de frecuencias entre número de alelos de riesgo en diferentes grupos y, se hizo una curva ROC para establecer un punto de corte a considerar para calcular el número de alelos en que el riesgo a DT2 aumenta significativamente. Utilizando dicho punto de corte, se ajustaron modelos de regresión logística para calcular el riesgo a DT2 al poseer ese número de alelos de riesgo o más y, se corrigieron por edad y/o sexo y/o IMC, cuando la p Wald < 0.05. Dado que en la muestra de DG se analizaron sólo 5 SNP, únicamente fue posible realizar los histogramas.

2.5. Consideraciones éticas

El proyecto fue aprobado por el Comité Institucional de Investigación Biomédica en Humanos del INCMNSZ, con número de referencia 1212. Los individuos incluidos firmaron una hoja de consentimiento informado antes de su inclusión al estudio y la toma de muestra.

3. RESULTADOS

3.1. Muestra de DT2

La muestra total estuvo conformada por 1299 individuos: 302 controles y 997 casos. De acuerdo a la procedencia, el tamaño de muestra del grupo de casos fue el siguiente:

- a) *Población hospitalaria*: fueron reclutados 541 individuos; de los cuales, 278 fueron clasificados de inicio temprano, 241 de inicio tardío y 22 no supieron su edad de diagnóstico.
- b) *Población abierta*: fueron reclutados 456 individuos; de los cuales, 201 fueron de inicio temprano, 245 de inicio tardío y 10 no supieron su edad de diagnóstico. Es importante mencionar que 160 individuos (35%) no se sabían diabéticos y fueron diagnosticados durante la ENSA 2000. Además, 354 individuos del total no se encontraban en ayuno y fueron diagnosticados según el criterio de glucosa casual de la ADA (tabla 1.2), por lo que las muestras de estos individuos sólo se utilizaron para los análisis de asociación y no para las comparaciones de rasgos bioquímicos.

Del total de controles: 71 fueron obesos, 225 fueron no obesos y de 6 no se pudo calcular el IMC por falta de algún dato; por su parte, del total de casos: 366 fueron obesos, 617 fueron no obesos y de 14 no se pudo obtener el IMC.

3.1.1. Características de la muestra de DT2

Sólo las variables sexo, edad, edad de diagnóstico, IMC y circunferencia de cintura tuvieron una distribución normal. Las variables edad, sexo e IMC se identificaron como confusoras y fueron evaluadas en los modelos de regresión logística posteriores. Como ya se mencionó, sólo se utilizaron las muestras tomadas en ayuno para la comparación de rasgos bioquímicos.

Al comparar la muestra total, encontramos que los pacientes diabéticos presentaron mayor IMC, circunferencia de cintura, niveles séricos de glucosa y triglicéridos; pero menores niveles de colesterol total, así como HDL y LDL. Además, tuvieron una disminución en la secreción de insulina (HOMA B) y sensibilidad a esta (HOMA S), consecuentemente, tuvieron mayor resistencia a la hormona (HOMA IR). Cuando se estratificó de acuerdo a la edad de diagnóstico, observamos que los diabéticos de inicio temprano tuvieron menor circunferencia de cintura y presión arterial (tabla 3.1).

No se contó con las mediciones de niveles de insulina sérica en los pacientes de población abierta; por lo que no se pudieron calcular los índices HOMA. No obstante, encontramos que los pacientes diabéticos de población hospitalaria fueron diagnosticados más jóvenes, presentaron menor circunferencia de cintura, presión arterial, niveles séricos de glucosa, colesterol y triglicéridos (tabla 3.2).

Tabla 3.1. Características generales de la muestra de DT2 y según la edad de diagnóstico de los casos.

	CONTROLES n=302	CASOS		
		Total n=997 (616)	Temprano n=479 (323)	Tardío n=486 (293)
Sexo ♂ (%)	35.8	34.7	36.9	31.5
Edad (años)	57.2±9.7	53±12.2 *	45.4±10.7 * ‡	60.4±8.4 *
Edad diagnóstico (años)	n.a.	45.3±11.6	35.9±6.7 ‡	54.5±7.1
IMC (kg/m ²)	27.4±4.6	29.1±5.0 *	29.1±5.5 *	29.2±4.5 *
Cintura (cm)	93.1±13	100±13.1 *	98.9±13.7 * ‡	101.1±12.6 *
PAS (mmHg)	120 (110-140)	130 (120-140)	121 (110-135) ‡	130 (120-145) *
PAD (mmHg)	80 (72-90)	80 (75-90)	80 (75-90) ‡	84 (75-90)
Glucosa (mg/dL)	89.5 (83-97)	160 (125-226) *	164.5 (125-236) *	151 (124-208) *
Colesterol (mg/dL)	220 (193-247)	205 (176-236) *	202 (174-235) *	210 (179-241) *
Triglicéridos (mg/dL)	155 (112-217)	193 (142-281) *	194.5 (138-285) *	189 (145-275) *
HDL (mg/dL)	46 (38-53)	41 (34-47) *	40 (33-47) *	41 (36-49) *
LDL (mg/dL)	140 (115-164)	119 (96-146) *	115.5 (94-142) *	122 (101-146) *
HOMA B (%)	100.2 (72.8-124.8)	46.3 (21.8-83.2) *	39.1 (20-80.9) *	48.4 (23.9-83.4) *
HOMA S (%)	92.5 (57.2-134.5)	60.5 (40.1-93.3) *	56.2 (38.2-94) *	62 (42-92.4) *
HOMA IR (u.a.)	1.08 (0.74-1.8)	1.7 (1.1-25) *	1.8 (1.1-2.6) *	1.6 (1.1-2.4) *

Se muestra la media ± DS, o bien, la mediana (percentil 25-percentil 75) para datos con distribución no normal. n=tamaño de muestra total (tamaño de muestra en ayuno). *p<0.05 con respecto al grupo control, ‡p<0.05 con respecto al grupo tardío. n.a, no aplicable; u.a., unidades arbitrarias.

Cuando estratificamos la muestra según el estado de obesidad (no obesos vs. obesos), los casos mostraron diferencias con respecto a los controles en todas las variables; excepto en IMC, circunferencia de cintura y presión arterial en el grupo de obesos. Finalmente, tanto controles como casos no obesos, presentaron menores cifras de presión arterial, secreción de insulina y resistencia a esta y, por tanto, mayor sensibilidad a la hormona. Además, los casos obesos fueron más jóvenes que los no obesos (tabla 3.3).

Tabla 3.2. Características de la muestra de DT2 según la procedencia de los casos.

	CONTROLES n=302	CASOS		
		Total n=997	Hospital n=541	Abierta n=456 (102)
Sexo ♂ (%)	35.8	34.7	41.6 \wedge	26.5 *
Edad (años)	57.2±9.7	53±12.2 *	53.7±11.8 *	52.3±12.6 *
Edad diagnóstico (años)	n.a.	45.3±11.6	43.9±11.2 \wedge	47±11.8
IMC (kg/m ²)	27.4±4.6	29.1±5.0 *	29±5.4 *	29.3±4.4 *
Cintura (cm)	93.1±13	100±13.1 *	98.3±13.3 * \wedge	101.5±12.8 *
PAS (mmHg)	120 (110-140)	130 (120-140)	126.5 (114-140)	130 (120-140)
PAD (mmHg)	80 (72-90)	80 (75-90)	80 (70-90) \wedge	85 (80-90) *
Glucosa (mg/dL)	89.5 (83-97)	160 (125-226) *	151 (120-207) * \wedge	203 (153-297) *
Colesterol (mg/dL)	220 (193-247)	205 (176-236) *	202 (177-235) *	215 (176-242)
Triglicéridos (mg/dL)	155 (112-217)	193 (142-281) *	186 (138-275) * \wedge	217.5 (161-317) *
HDL (mg/dL)	46 (38-53)	41 (34-47) *	41 (34-47) *	40 (35-47) *
LDL (mg/dL)	140 (115-164)	119 (96-146) *	119 (97-144) *	122 (95-147) *

Se muestra la media \pm DS, o bien, la mediana (percentil 25-percentil 75) para datos con distribución no normal. n=tamaño de muestra total (tamaño de muestra en ayuno). * p <0.05 con respecto al grupo control, $\wedge p$ <0.05 con respecto al grupo de población abierta. n.a., no aplicable.

Tabla 3.3. Características de la muestra de DT2 según el estado de obesidad.

	NO OBESOS		OBESOS	
	Controles n=225	Casos n=71	Controles n=617 (397)	Casos n=366 (239)
Sexo ♂ (%)	37.8	41.7 \times	29.6	22.9
Edad (años)	57.8±9.8	54.3±12.3 * \times	55.3±9.4	50.7±11.5 *
Edad diagnóstico (años)	n.a.	45.4±12.1	n.a.	45.1±10.5
IMC (kg/m ²)	25.5±2.5 \times	26.2±2.8 * \times	33.7±4	34.2±3.7
Cintura (cm)	87.9±8.7 \times	93.6±9.9 * \times	106.7±12.5	110.2±11.1
PAS (mmHg)	120 (110-130) \times	128 (115-140)* \times	130 (120-150)	130 (120-146)
PAD (mmHg)	80 (70-85) \times	80 (70-90) \times	90 (80-100)	85 (80-92)
Glucosa (mg/dL)	89 (82-96) \times	160 (125-232) *	94 (85-102)	157 (126-214) *
Colesterol (mg/dL)	218 (192-249)	199 (176-236) *	224 (200-245.5)	210 (178-235) *
Triglicéridos (mg/dL)	149 (110-217)	186 (136-274) *	167 (134-213.5)	202 (153-315) *
HDL (mg/dL)	46 (39-53)	39 (33-46) *	45 (37-54)	38 (31-44) *
LDL (mg/dL)	138 (115-164)	117 (95.4-143) *	143 (119-162)	123 (101-146) *
HOMA B (%)	88.8 (70.7-123.9) \times	38.3 (20.1-66.1) * \times	108.8 (91.7-139.3)	60.2 (27.7-109.9) *
HOMA S (%)	105.6 (62-150.3) \times	75.6 (53-123.8) * \times	68.5 (46.5-103)	43.9 (33.3-63.5) *
HOMA IR (u.a.)	0.95 (0.67-1.61) \times	1.3 (0.81-1.9) * \times	1.5 (0.97-2.2)	2.3 (1.6-3.0) *

Se muestra la media \pm DS, o bien, la mediana (percentil 25-percentil 75) para datos con distribución no normal. n=tamaño de muestra total (tamaño de muestra en ayuno). * p <0.05 con respecto a su grupo control, $\times p$ <0.05 con respecto al grupo obeso.

3.1.2. Genotipificación y LD de las variantes alélicas analizadas en la muestra de DT2

La tasa de la genotipificación fue del 92%. Los SNP estuvieron en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p < 0.05$); excepto *ADAMTS9* (rs4607103) en el grupo de casos ($p = 0.022$). Para los genes en que se analizó más de un SNP, se calculó la R^2 entre ellos; sólo las variantes rs4402960 y rs1470579 del gen *IGF2BP2* estuvieron en desequilibrio de ligamiento (tabla 3.4).

Tabla 3.4. LD en población mestiza mexicana.

Gen	SNP	R^2	p
<i>HHEX/IDE</i>	rs1111875	0.077	$< 2 \times 10^{-16}$
	rs7923837		
<i>CDKAL1</i>	rs7754840	0.024	6.63×10^{-8}
	rs10484634		
<i>IGF2BP2</i>	rs4402960	0.866	$< 2 \times 10^{-16}$
	rs1470579		

3.1.3. Análisis de asociación a DT2

Se presentan los resultados de los modelos cuya $p \chi^2$ fue la más significativa y cuyo poder estadístico fue el mayor (Apéndice II). El SNP rs1111875 (*HHEX/IDE*) fue ajustado a un modelo recesivo; los SNP rs945508 (*ARHGEF11*), rs4402960 y rs1470579 (*IGF2BP2*) fueron ajustados a un modelo dominante; el resto, fue ajustado a un modelo aditivo. Para todas las asociaciones, se calculó un poder estadístico *post hoc* superior a 80%.

- a) *Análisis de la muestra total*: los genes *KCNJ11* (rs5219), *HHEX/IDE* (rs1111875), *CDKN2A/2B* (rs10811661) y *ARHGEF11* (rs945508) se asociaron a la DT2 en la población mestiza mexicana general (tabla 3.5). Los casos presentaron mayores frecuencias de los genotipos de riesgo según el modelo genético al cual se asociaron ($p = 0.034, 0.035, 0.025, 0.006$, respectivamente), aún cuando no en todos se alcanzó significancia en las diferencias entre frecuencias de los alelos de riesgo ($p = 0.012, 0.052, 0.008, 0.062$, respectivamente).

También hubo diferencias en las frecuencias alélicas entre casos y controles del alelo de riesgo de los SNP rs12779790 (*CDC132/CAMK1D*) y rs13266634 (*SLC30A8*) ($p = 0.017, 0.045$, respectivamente); sin embargo, las asociaciones a DT2 no tuvieron significancia estadística.

- b) *Análisis de la muestra según la edad de diagnóstico*: el gen *SLC30A8* (rs13266634) se asoció sólo a DT2 de inicio temprano (tabla 3.6). La frecuencia del alelo de riesgo fue mayor en los diabéticos de inicio temprano que de inicio tardío ($p = 0.028$).

Los alelos de riesgo de los SNP rs7923837 (*HHEX/IDE*), rs4402960 (*IGF2BP2*) y, rs7578597 (*THADA*) presentaron diferencias en sus frecuencias entre casos de inicio tardío y temprano ($p=0.016$, 0.044 , 0.034 , respectivamente); no obstante, no se asociaron a la DT2 en ninguno de los subgrupos.

- c) *Análisis de la muestra según la procedencia de los casos*: el gen *IGF2BP2* (rs4402960 y rs1470579), así como la región *CDC123/CAMK1D* (rs12779790) se asociaron a la DT2 en individuos de población abierta (tabla 3.7). Los pacientes diabéticos de población abierta tuvieron mayores frecuencias de los genotipos de riesgo según el modelo genético al cual se asociaron ($p=0.008$, 0.051 , 0.0008 , respectivamente). Las frecuencias de los alelos de riesgo también fueron mayores, excepto para rs1470579 ($p=0.022$, 0.085 , 0.0006 , respectivamente).
- d) *Análisis de la muestra según el estado de obesidad*: el OR del gen *ARHGEF11* (rs945508) fue mayor en el grupo de individuos no obesos (tabla 3.8). La frecuencia del alelo de riesgo fue mayor en los casos no obesos en comparación a los casos obesos ($p=0.009$) y a los controles no obesos ($p=0.002$); pero, no presentó diferencias significativas con respecto a los controles obesos ($p=0.965$).

En el grupo de no obesos, los casos presentaron mayor frecuencia de los alelos de riesgo en las variantes *KCNJ11* (rs5219), *SLC30A8* (rs13266634) y *CDC123/CAMK1D* (rs12779790) ($p=0.018$, 0.027 , 0.013 , respectivamente). Por su parte, en el grupo de obesos, los casos presentaron mayor frecuencia de los alelos de riesgo en las variantes *HHEX/IDE* (rs1111875) y *CDKN2A/2B* (rs10811661) ($p=0.043$, 0.041 , respectivamente). A pesar de esto, ninguna de ellas presentó alguna modulación en la magnitud de las asociaciones.

Dado que la obesidad es un padecimiento muy relacionado con la DT2, se analizó si las variantes también confieren riesgo a esta. Ninguno de los SNP estudiados resultó de riesgo a la obesidad en la población mestiza mexicana; sin embargo, se encontró que la región génica *CDC123/CAMK1D* (rs12779790) aparentemente confiere protección a esta. A pesar de dicho dato, no detectamos diferencias significativas en las frecuencia del alelo de riesgo entre individuos obesos y no obesos ($p=0.238$), por lo que el resultado no es concluyente (tabla 3.9). Esto fue relevante para distinguir aquéllos SNP cuyo riesgo a la DT2 fuera consecuencia de su asociación con la obesidad.

Tabla 3.5. Asociación a DT2 en población mestiza mexicana general.

Gen	SNP	Alelo riesgo	f alelo riesgo		Casos n=997	
			Controles	Casos	OR (IC 95%)	p
KCNJ11	rs5219	T	0.335	0.394 * \wedge	1.33 (1.08-1.64)	0.008
SLC30A8	rs13266634	C	0.719	0.761 *	1.18 (0.95-1.47)	0.132
HHEX/IDE	rs11111875	T	0.331	0.376 \wedge	1.63 (1.06-2.52)	0.027
	rs7923837	G	0.468	0.487	1.10 (0.90-1.35)	0.342
CDKN2A/2B	rs10811661	T	0.873	0.911 * \wedge	1.46 (1.08-1.97)	0.014
CDKAL1	rs7754840	C	0.297	0.307	1.06 (0.86-1.31)	0.560
	rs10484634	T	0.972	0.800	1.54 (0.85-2.79)	0.156
IGF2BP2	rs4402960	T	0.196	0.214	1.28 (0.96-1.73)	0.097
	rs1470579	C	0.201	0.213	1.25 (0.93-1.68)	0.141
ARHGEF11	rs945508	C	0.730	0.769 \wedge	1.89 (1.10-3.24)	0.021
JAZF1	rs864745	A	0.651	0.687	1.16 (0.94-1.42)	0.171
CDC123/CAMK1D	rs12779790	G	0.150	0.197 *	1.31 (0.99-1.72)	0.053
TSPAN8/LGR5	rs7961581	T	0.851	0.868	1.13 (0.86-1.49)	0.384
THADA	rs7578597	T	0.955	0.967	1.24 (0.75-2.04)	0.401
ADAMTS9	rs4607103	C	0.698	0.714	1.09 (0.89-1.34)	0.413
NOTCH2	rs10923931	T	0.081	0.083	1.02 (0.72-1.45)	0.905

*Diferencias en f alélicas ($p < 0.05$); \wedge diferencias en f genotípicas bajo modelo genético al cual se ajustan ($p < 0.05$). Ajustados por edad, sexo o IMC cuando $p_{\text{Wald}} < 0.05$.

Tabla 3.6. Asociación a DT2 según la edad de diagnóstico de los casos.

Gen	SNP	Alelo riesgo	f alelo riesgo en casos		Temprano n=479		Tardío n=486	
			Tempranos	Tardíos	OR (IC 95%)	p	OR (IC 95%)	p
KCNJ11	rs5219	T	0.395	0.395	1.35 (1.04-1.76)	0.027	1.36 (1.07-1.73)	0.011
SLC30A8	rs13266634	C	0.784	0.741 *	1.42 (1.07-1.88)	0.015	1.13 (0.88-1.46)	0.325
HHEX/IDE	rs11111875	T	0.378	0.378	1.36(0.78-2.38)	0.284	1.72(1.07-2.76)	0.025
	rs7923837	G	0.453	0.512 * \wedge	0.98 (0.76-1.28)	0.912	1.09 (0.86-1.37)	0.470
CDKN2A/2B	rs10811661	T	0.916	0.913	1.49 (1.01-2.20)	0.042	1.63 (1.14-2.33)	0.007
CDKAL1	rs7754840	C	0.323	0.296	1.00 (0.77-1.29)	0.998	1.02 (0.80-1.29)	0.888
	rs10484634	T	0.979	0.980	1.80 (0.84-3.88)	0.133	1.38 (0.69-2.78)	0.361
IGF2BP2	rs4402960	T	0.190	0.230 * \wedge	1.12 (0.76-1.63)	0.574	1.31 (0.94-1.83)	0.111
	rs1470579	C	0.196	0.222	1.09 (0.75-1.59)	0.652	1.31 (0.94-1.83)	0.108
ARHGEF11	rs945508	C	0.772	0.760	1.41(0.69-2.85)	0.344	2.21(1.16-4.22)	0.016
JAZF1	rs864745	A	0.700	0.676	1.22 (0.93-1.61)	0.144	1.14 (0.90-1.45)	0.262
CDC123/CAMK1D	rs12779790	G	0.214	0.178	1.33 (0.95-1.87)	0.092	1.26 (0.92-1.72)	0.147
TSPAN8/LGR5	rs7961581	T	0.868	0.867	1.32 (0.92-1.89)	0.128	1.07 (0.78-1.46)	0.685
THADA	rs7578597	T	0.976	0.957 *	1.76 (0.87-3.55)	0.116	1.16 (0.67-2.03)	0.593
ADAMTS9	rs4607103	C	0.722	0.703	1.13 (0.87-1.47)	0.352	1.03 (0.82-1.31)	0.773
NOTCH2	rs10923931	T	0.082	0.085	1.16 (0.73-1.84)	0.523	1.07 (0.72-1.60)	0.726

*Diferencias en f alélicas ($p < 0.05$); \wedge diferencias en f genotípicas bajo modelo genético al cual se ajustan ($p < 0.05$). Ajustados por edad, sexo o IMC cuando $p_{\text{Wald}} < 0.05$.

Tabla 3.7. Asociación a DT2 según la procedencia de los casos.

Gen	SNP	Alelo riesgo	f alelo riesgo en casos		Hospital n=541		Abierta n=456	
			Hospital	Abierta	OR (IC 95%)	p	OR (IC 95%)	p
KCNJ11	rs5219	T	0.405	0.382	1.38 (1.10-1.73)	0.005	1.29 (1.01-1.65)	0.039
SLC30A8	rs13266634	C	0.762	0.759	1.18 (0.93-1.50)	0.184	1.18 (0.91-1.52)	0.209
HHEX/IDE	rs1111875	T	0.380	0.372	1.75 (1.10-2.77)	0.018	1.54 (0.94-2.52)	0.089
	rs7923837	G	0.474	0.498	1.05 (0.84-1.31)	0.661	1.17 (0.93-1.48)	0.184
CDKN2A/2B	rs10811661	T	0.912	0.910	1.49 (1.06-2.09)	0.022	1.45 (1.02-2.06)	0.037
CDKAL1	rs7754840	C	0.291	0.326	1.01 (0.81-1.28)	0.902	1.10 (0.87-1.39)	0.433
	rs10484634	T	0.970	0.981	1.47 (0.75-2.86)	0.258	1.61 (0.79-3.29)	0.189
IGF2BP2	rs4402960	T	0.193	0.237 * ^	1.08 (0.78-1.5)	0.638	1.56 (1.12-2.17)	0.009
	rs1470579	C	0.198	0.230 ^	1.10 (0.79-1.53)	0.556	1.46 (1.04-2.04)	0.027
ARHGEF11	rs945508	C	0.763	0.776	1.61 (0.89-2.92)	0.113	2.18 (1.09-4.33)	0.027
JAZF1	rs864745	A	0.683	0.691	1.11 (0.88-1.40)	0.387	1.22 (0.97-1.56)	0.089
CDC123/CAMK1D	rs12779790	G	0.166	0.230 * ^	1.10 (0.82-1.48)	0.507	1.60 (1.18-2.18)	0.003
TSPAN8/LGR5	rs7961581	T	0.860	0.878	1.05 (0.77-1.42)	0.754	1.23 (0.89-1.70)	0.207
THADA	rs7578597	T	0.967	0.967	1.29 (0.74-2.27)	0.369	1.22 (0.67-2.21)	0.518
ADAMTS9	rs4607103	C	0.717	0.710	1.11 (0.88-1.40)	0.370	1.04 (0.82-1.32)	0.756
NOTCH2	rs10923931	T	0.084	0.082	1.06 (0.72-1.57)	0.768	0.99 (0.66-1.49)	0.974

*Diferencias en f alélicas ($p < 0.05$); ^diferencias en f genotípicas bajo modelo genético al cual se ajustan ($p < 0.05$). Ajustados por edad, sexo o IMC cuando $p_{Wald} < 0.05$.

Tabla 3.8. Asociación a DT2 según el estado de obesidad.

Gen	SNP	Alelo riesgo	f alelo riesgo en controles		f alelo riesgo en casos		No obesos		Obesos	
			No obesos n=225	Obesos n=71	No obesos n=617	Obesos n=366	OR (IC 95%)	p	OR (IC 95%)	p
KCNJ11	rs5219	T	0.34	0.31	0.41 *	0.38	1.31 (1.03-1.68)	0.028	1.39 (0.91-2.13)	0.125
SLC30A8	rs13266634	C	0.70	0.77	0.76 *	0.76	1.26 (0.97-1.62)	0.083	0.94 (0.61-1.45)	0.788
HHEX/IDE	rs1111875	T	0.35	0.28	0.38	0.37 *	1.52 (0.94-2.50)	0.088	2.30 (0.78-6.50)	0.133
	rs7923837	G	0.47	0.49	0.49	0.48	1.15 (0.91-1.46)	0.237	1.01 (0.69-1.48)	0.955
CDKN2A/2B	rs10811661	T	0.88	0.85	0.91	0.91 *	1.33 (0.93-1.9)	0.116	1.73 (0.98-3.03)	0.057
CDKAL1	rs7754840	C	0.29	0.31	0.32	0.29	1.15 (0.90-1.46)	0.260	0.89 (0.59-1.33)	0.575
	rs10484634	T	0.97	0.99	0.98	0.98	1.76 (0.89-3.46)	0.099	0.85 (0.20-3.59)	0.823
IGF2BP2	rs4402960	T	0.21	0.15	0.22	0.20	1.15 (0.81-1.61)	0.438	1.83 (0.98-3.41)	0.057
	rs1470579	C	0.20	0.18	0.22	0.20	1.15 (0.82-1.63)	0.417	1.55 (0.85-2.81)	0.151
ARHGEF11	rs945508	C	0.71	0.79	0.79 * ‡	0.74	2.58 (1.35-4.94)	0.004	0.89 (0.29-2.77)	0.847
JAZF1	rs864745	A	0.64	0.67	0.69	0.67	1.22 (0.96-1.55)	0.107	0.97 (0.64-1.48)	0.886
CDC123/CAMK1D	rs12779790	G	0.15	0.15	0.21 *	0.18	1.36 (1.00-1.86)	0.056	1.18 (0.66-2.09)	0.580
TSPAN8/LGR5	rs7961581	T	0.84	0.90	0.86	0.88	1.29 (0.87-1.64)	0.263	0.84 (0.45-1.57)	0.592
THADA	rs7578597	T	0.96	0.94	0.97	0.97	0.99 (0.54-1.84)	0.991	1.96 (0.85-4.56)	0.116
ADAMTS9	rs4607103	C	0.69	0.72	0.71	0.72	1.12 (0.88-1.43)	0.340	1.00 (0.66-1.52)	0.994
NOTCH2	rs10923931	T	0.08	0.07	0.08	0.09	0.99 (0.66-1.48)	0.946	1.15 (0.56-2.38)	0.697

*Diferencias en f alélicas con respecto a grupo control ($p < 0.05$); ‡diferencias en f alélicas con respecto a grupo obeso ($p < 0.05$). Ajustado por edad, sexo o DT2 cuando $p_{Wald} < 0.05$.

Tabla 3.9. Asociación a obesidad en población mestiza mexicana general.

Gen	SNP	Alelo riesgo	f alelo riesgo		Casos n=366	
			Controles	Casos	OR (95% CI)	p
<i>KCNJ11</i>	rs5219	T	0.39	0.36	0.88 (0.73-1.1)	0.164
<i>SLC30A8</i>	rs13266634	C	0.74	0.77	1.1 (0.89-1.34)	0.382
<i>HHEX/IDE</i>	rs1111875	T	0.37	0.36	0.91 (0.76-1.09)	0.305
	rs7923837	G	0.49	0.48	0.97 (0.81-1.16)	0.741
<i>CDKN2A/2B</i>	rs10811661	T	0.90	0.90	0.88 (0.66-1.17)	0.361
<i>CDKAL1</i>	rs7754840	C	0.31	0.29	0.89 (0.74-1.07)	0.209
	rs10484634	T	0.98	0.98	1.08 (0.59-1.97)	0.796
<i>IGF2BP2</i>	rs4402960	T	0.21	0.20	0.88 (0.70-1.10)	0.251
	rs1470579	C	0.21	0.20	0.91 (0.73-1.13)	0.371
<i>ARHGEF11</i>	rs945508	C	0.77	0.74	0.83 (0.67-1.01)	0.069
<i>JAZF1</i>	rs864745	A	0.68	0.67	0.91 (0.75-1.10)	0.327
<i>CDC123/CAMK1D</i>	rs12779790	G	0.19	0.17	0.78 (0.62-0.98)	0.034
<i>TSPAN8/LGR5</i>	rs7961581	T	0.86	0.88	1.25 (0.97-1.62)	0.088
<i>THADA</i>	rs7578597	T	0.96	0.96	0.85 (0.53-1.37)	0.510
<i>ADAMTS9</i>	rs4607103	C	0.70	0.72	0.94 (0.78-1.14)	0.557
<i>NOTCH2</i>	rs10923931	T	0.08	0.08	1.07 (0.78-1.46)	0.690

Ajustados por edad, sexo o IMC cuando $p_{Wald} < 0.05$.

3.1.4. Análisis de rasgos bioquímicos en DT2

Algunas de las variantes que resultaron asociadas a la DT2, también se relacionaron con ciertos rasgos bioquímicos propios de la enfermedad, como se detalla a continuación. Debido a las frecuencias bajas de los alelos de riesgo de ciertas de ellas, los análisis fueron realizados utilizando el modelo genético más conveniente, en función al tamaño de muestra por genotipo.

a) *KCNJ11* (rs5219)

Se utilizó un modelo dominante para el análisis. El alelo de riesgo *T* se asoció a una disminución de los niveles de glucosa en el grupo de controles (-2.347 mg/dL, $p=0.039$); mientras que en los casos, en específico de inicio temprano, se asoció con un aumento (+19.62 mg/dL $p=0.042$). Por su parte, en los individuos no obesos, poseer el alelo de riesgo se asoció con un aumento en la secreción de la insulina (+13.32%, $p=0.032$); pero en los obesos con una reducción (-31.98%, $p=0.000$). Además, en el grupo de obesos también se asoció con un aumento en los niveles de glucosa (+24.55 mg/dL, $p=0.003$) (tabla 3.10, figura 3.1).

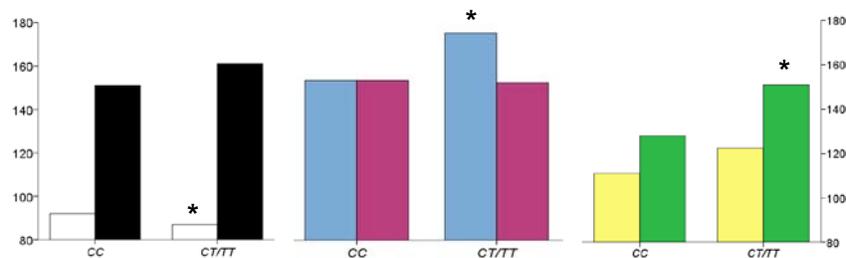
La disminución en la secreción de insulina en obesos está dada principalmente por los casos, grupo en que se observaron las diferencias significativas (CC: 83.5% [56.4-128.4%] vs CT/TT: 38.7% [20-87.7%], $p=0.0004$). Los casos de inicio temprano portadores del alelo de riesgo presentaron también una disminución en la secreción de insulina (CC: 57.2% [20.8-108.6%] vs CT/TT: 35.4% [18.9-71.6%], $p=0.0516$).

Tabla 3.10. Efectos de *KCNJ11* (rs5219) sobre la glucosa y la secreción de insulina.

Rasgo	Grupo	n	CC	CT/TT	Coef. β	p
Glucosa (mg/dL)	Controles	121/157	92 (85-99)	87 (83-97)	-2.347	0.039
	Casos	208/359	151 (123-203.5)	161 (126-237)	11.93	0.079
	Casos tempranos	103//187	151 (121-202)	172 (130-249)	19.62	0.042
	Casos tardíos	96/157	151 (128.5-210)	150 (119-207)	-2.28	0.819
	No obesos	88/120	111 (91.5-186)	122.5 (90.5-192.5)	-3.11	0.589
	Obesos	31/35	128 (100-160)	151 (104-219)	24.55	0.003
HOMA B (%)	Controles	76/89	102.2 (75.8-142.3)	100.3 (71.5-122.6)	-4.32	0.547
	Casos	107/169	49.8 (21.8-84.7)	39 (20-77.6)	-2.91	0.666
	Casos tempranos	47/74	57.2 (20.8-108.6)	35.4 (18.9-71.6)	-8.30	0.489
	Casos tardíos	55/91	46.7 (22.5-77.2)	48.9 (25.5-86.1)	4.85	0.545
	No obesos	114/168	64.2 (27.7-95.2)	66 (34.1-102.7)	13.32	0.032
	Obesos	67/90	102.6 (64.3-139.6)	63.85 (27.1-104.1)	-31.98	0.000

Se muestra la mediana (percentil 25-percentil 75). n=no. de sujetos de genotipo CC / no. de sujetos con genotipo CT/TT. Los modelos se ajustaron por edad y/o sexo y/o IMC y/o procedencia de las muestras y/o DT2 cuando $p \leq 0.05$.

a. Glucosa (mg/dL)



b. HOMA B (%)

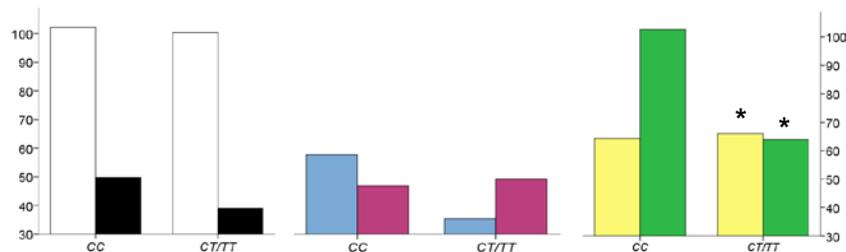


Figura 3.1. Efectos de *KCNJ11* (rs5219) sobre la a) glucosa y b) secreción de insulina. Blanco (controles), negro (casos), azul (casos de inicio temprano), morado (casos de inicio tardío), amarillo (no obesos), verde (obesos) * $p < 0.05$ en la regresión lineal. Se gráfica la mediana.

b) *HHEX/IDE* (rs1111875)

Se utilizó un modelo recesivo en el análisis. El alelo de riesgo *T* se asoció con una disminución en los niveles de glucosa plasmática en el grupo de controles (-3.89 mg/dL, $p=0.035$), pero no así en los casos. En este último, se asoció con una disminución en los niveles de triglicéridos (-46.12 mg/dL, $p=0.046$) (tabla 3.11, figura 3.2). Por otra parte, aunque no se obtuvieron resultados significativos en las regresiones lineales, se observó un aumento en la secreción de insulina en el grupo de casos con el alelo de riesgo (CC/CT: 41.9% [20.9-82%] vs TT: 58.7% [30.1-102.6%], $p=0.0541$). Adicionalmente, los individuos obesos portadores del alelo de riesgo tuvieron mayor resistencia a la insulina (CC/CT: 1.99 [1.28-2.74] vs TT: 2.56 [1.84-3.17], $p=0.0491$).

Tabla 3.11. Efectos de *HHEX/IDE* (rs1111875) sobre la glucosa y los triglicéridos.

Rasgo	Grupo	n	CC/CT	TT	Coef. β	p
Glucosa (mg/dL)	Controles	252/28	90.5 (84-98)	86 (77.5-90.5)	-3.89	0.035
	Casos	476/90	160.5 (124.5-232)	154 (121-202)	-9.75	0.281
Triglicéridos (mg/dL)	Controles	152/14	157 (112-213)	142 (121-270)	-1.46	0.766
	Casos	234/46	200.5 (145-290)	174 (129-219)	-46.12	0.046

Se muestra la mediana (percentil 25-percentil 75). n=no. de sujetos de genotipo CC/CT / no. de sujetos con genotipo CC. Los modelos se ajustaron por edad y/o sexo y/o IMC y/o procedencia de las muestras y/o DT2 cuando $p [f] < 0.05$.

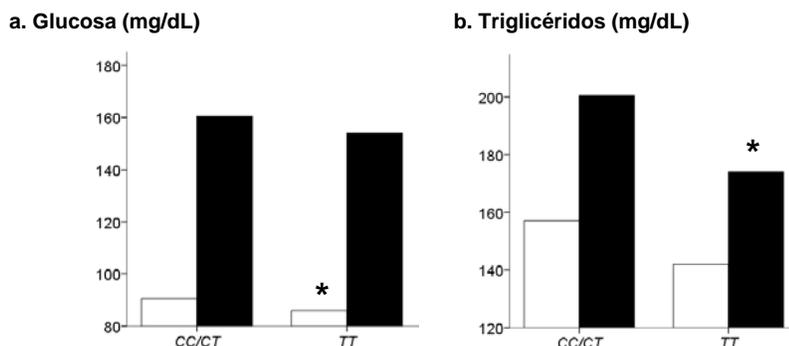


Figura 3.2. Efectos de *HHEX/IDE* (rs1111875) sobre la a) glucosa y b) los triglicéridos. Blanco (controles), negro (casos) * $p < 0.05$ en la regresión lineal. Se gráfica la mediana.

c) *CDKN2A/2B* (rs10811661)

Se usó un modelo recesivo en el análisis. No hubo ninguna asociación significativa del genotipo a algún rasgo bioquímico; no obstante, observamos que los sujetos diabéticos portadores del alelo de riesgo T presentan una reducción en la secreción de insulina, específicamente en aquéllos de inicio temprano (CC/CT: 63.9 [44.1-94.1] vs TT: 36.6 [18.9-77.6], $p=0.0332$) (figura 3.3).

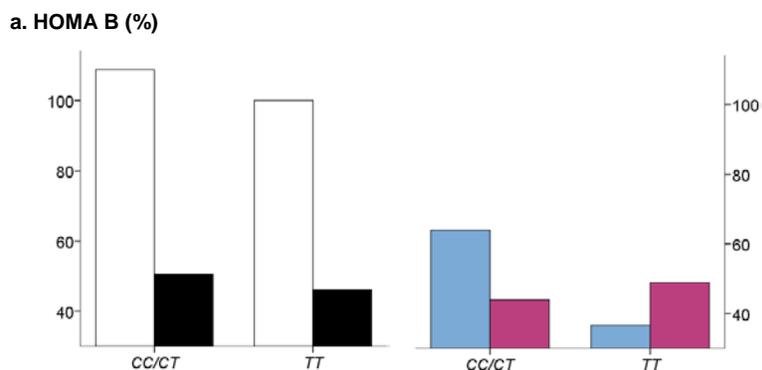


Figura 3.3. Efecto de *CDKN2A/2B* (rs10811661) sobre la secreción de insulina. Blanco (controles), negro (casos), azul (casos de inicio temprano), morado (casos de inicio tardío). Se gráfica la mediana.

d) *ARHGEF11* (rs945508)

Los análisis se realizaron bajo un modelo dominante. El alelo de riesgo C se asoció con una disminución en los niveles de glucosa plasmática en el grupo de casos (-34.21 mg/dL, $p=0.025$),

especialmente en diabéticos de inicio temprano (-42.65 mg/dL, $p=0.055$) (tabla 3.12, figura 3.4). Por otro lado, encontramos que los sujetos diabéticos no obesos portadores del alelo de riesgo también presentan una disminución en los niveles glucosa (TT : 204 mg/dL [169-260 mg/dL] vs TC/CC : 160 mg/dL [124-231 mg/dL], $p=0.0183$).

Tabla 3.12. Efecto de *ARHGEF11* (rs945508) sobre la glucosa.

Rasgo	Grupo	n	TT	TC/CC	Coef. β	p
Glucosa (mg/dL)	Controles	24/254	90.5 (84.5-100)	89 (83-98)	-2.57	0.210
	Casos	27/562	197 (134-276)	158 (124-225)	-34.21	0.025
	Casos tempranos	13/281	207 (164-260)	164 (124-234)	-42.65	0.055
	Casos tardíos	13/258	169 (132-247)	151 (124-208)	-19.1	0.382

Se muestra la mediana (percentil 25-percentil 75). n=no. de sujetos de genotipo TT / no. de sujetos con genotipo TC/CC . Los modelos se ajustaron por edad y/o sexo y/o IMC y/o procedencia de las muestras y/o DT2 cuando $p[\hat{q}]<0.05$.

a. Glucosa (mg/dL)

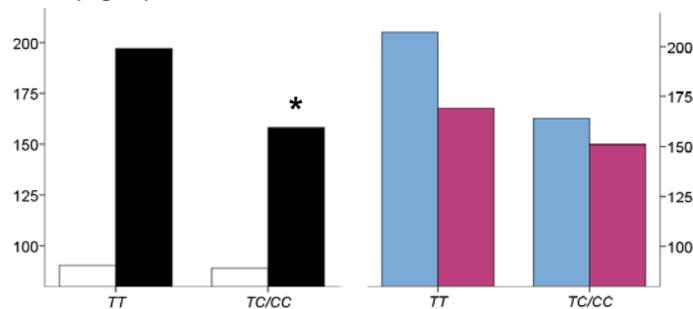


Figura 3.4. Efecto de *ARHGEF11* (rs945508) sobre la glucosa. Blanco (controles), negro (casos), azul (casos de inicio temprano), morado (casos de inicio tardío) * $p<0.05$ en la regresión lineal. Se gráfica la mediana.

3.1.5. Análisis de interacción en DT2

Todos los SNP fueron incluidos en el análisis preliminar con el programa MDR, excepto la variante rs1470579 del gen *IGF2BP2*, puesto que se encontró en desequilibrio de ligamiento con la otra variante analizada para el mismo *locus* (tabla 3.4). Se utilizó la muestra total con el fin de identificar posibles interacciones gen-gen que pudieran también modular el riesgo a la DT2 en la población general, aún cuando algunas variantes alélicas sólo confirieron riesgo de forma individual en subgrupos particulares de diabéticos (tabla 3.13). Los modelos de regresión logística posteriores fueron ajustados por las variables edad e IMC.

Tabla 3.13. Interacciones génicas entre variantes de riesgo a DT2.

Región	MDR			Regresión Logística	
	Consistencia	Exactitud	p	OR (IC 95%)	p^*
<i>ARHGEF11</i> * <i>CDC123/CAMK1D</i>	10	56.71	0.0013	1.69 (1.05-2.70)	0.029
<i>HHEX/IDE</i> * <i>ADAMTS9</i>	8	56.24	0.0018	0.66 (0.48-0.90)	0.008

p^* ajustados por edad e IMC.

3.1.6. Análisis de alelos múltiples en DT2

Además de sólo considerar las 7 regiones génicas asociadas a DT2 en nuestra población (excluyendo la rs1470579), fueron incluidos únicamente aquéllos individuos cuyos datos de genotipificación estaban completos para dichos SNP (n=1015). No hubo individuos con menos de 2, ni con más de 12 variantes. Se consideró un efecto aditivo para las distintas variantes alélicas.

Al analizar la muestra total, encontramos que: 1) la frecuencia de individuos con mayor número de alelos de riesgo aumenta en los sujetos diabéticos en comparación con los normoglucémicos, quienes tienen en su mayoría pocas variantes; 2) aunque no hay diferencias importantes en sus distribuciones, más de la mitad de los pacientes diabéticos de inicio temprano se concentra en el intervalo de 6-8 alelos de riesgo (67.02%); 3) la mayor proporción de diabéticos procedentes de instituciones hospitalarias tienen menor número de alelos de riesgo, mientras que los diabéticos procedentes de población abierta tienen en mayor proporción carga alélica alta; 4) el porcentaje de individuos diabéticos con mayor número de alelos de riesgo es mayor en el grupo de no obesos que en el de obesos. No se observó ningún patrón claro en las distribuciones de los individuos normoglucémicos (figura 3.5).

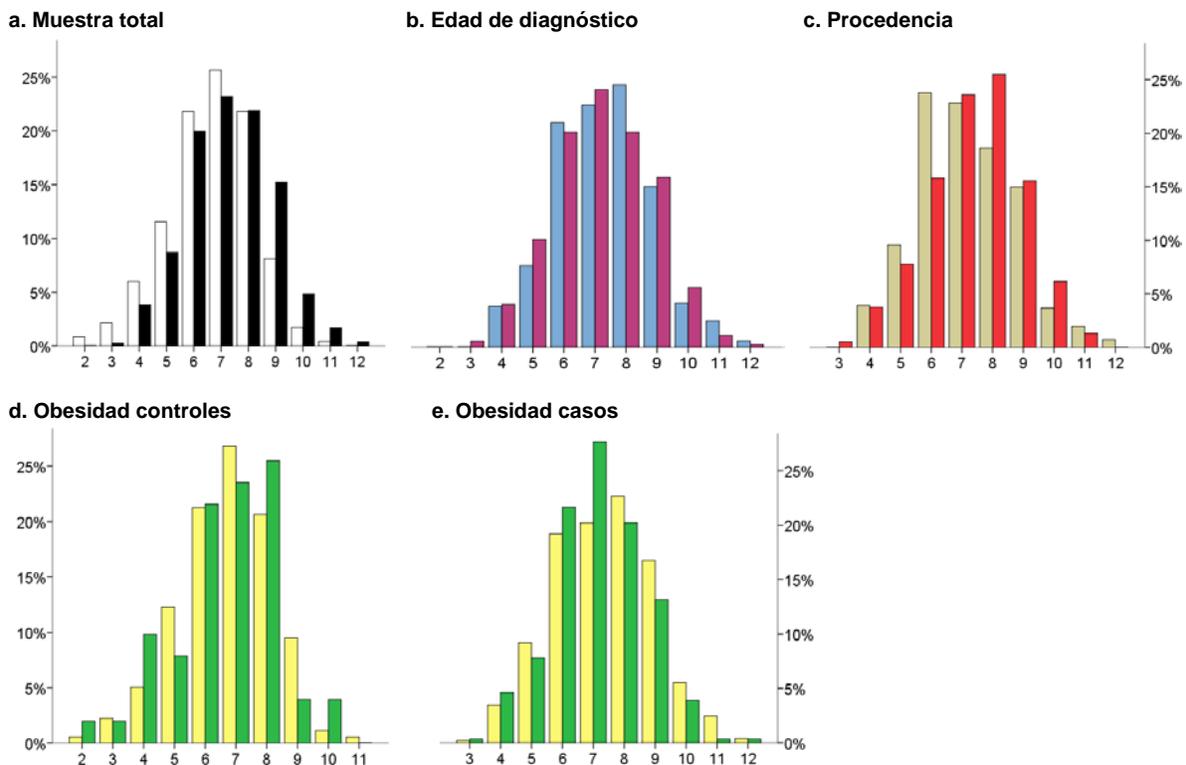


Figura 3.5. Distribución del número de alelos de riesgo a DT2 en diferentes grupos de diabéticos. Blanco (controles), negro (casos), azul (casos de inicio temprano), morado (casos de inicio tardío), café (casos de hospital), rojo (casos de población abierta), amarillo (no obesos), verde (obesos).

Con base en los resultados obtenidos en una curva ROC, decidimos utilizar como punto de corte, 8 alelos de riesgo (68% especificidad, 44% sensibilidad, área=0.59, IC95% 0.56-0.62) para calcular el efecto aditivo de las variantes en el riesgo a DT2. Si bien dichos valores predictivos son bajos, cabe aclarar que la realización de la curva no fue con fines de discriminación clínica, sino para escoger el número de alelos más adecuado a partir del cual se calculara la influencia de la carga alélica en diferentes subgrupos de diabéticos. Estudios recientes indican que aún incluyendo los 18 alelos de riesgo hasta ahora reportados, no se obtienen valores superiores de la curva ROC, de modo que no es posible predecir qué individuos desarrollarán la enfermedad (Lango *et al.*, 2008).

En este análisis, encontramos que el riesgo de desarrollar DT2 es 1.67 veces más alto cuando se poseen 8 o más alelos de riesgo (tabla 3.14). Dicho aumento es especialmente visible en los diabéticos de inicio tardío, en los que proceden de población abierta y en los individuos no obesos. Estos resultados son consistentes con las distribuciones de frecuencias mencionadas anteriormente (figura 3.5).

Tabla 3.14. Riesgo a DT2 cuando se poseen 8 o más alelos de riesgo.

Grupo		OR (IC 95%)	p
Total		1.67 (1.22-2.30)	0.002
Edad de diagnóstico	Temprano	1.58 (1.06-2.36)	0.026
	Tardío	1.69 (1.18-2.42)	0.004
Procedencia	Hospital	1.37 (0.96-1.95)	0.081
	Abierta	2.05 (1.43-2.93)	0.000
Estado de obesidad	Obesos	1.10 (0.58-2.09)	0.772
	No obesos	1.89 (1.31-2.72)	0.001

Ajustados por edad, sexo e IMC cuando $p_{Wald} < 0.05$.

3.2. Muestra de DG

La muestra total estuvo conformada por 356 mujeres, 113 controles y 243 casos. De acuerdo a los criterios de severidad propuestos por Freinkel: el 82.2% fue de tipo A1; el 16.5% fue de tipo A2 y el 1.3% fue de tipo B1. Sólo el 48% de los casos, regresaron a realizarse la CTOG de 75 g postparto, de ellas: el 56.4% permanecieron normoglucémicas; el 31.6% desarrollaron intolerancia a los carbohidratos; mientras que el 12% desarrollaron DT2.

3.2.1. Características de la muestra de DG

En las comparaciones de todas las variables se usaron pruebas paramétricas. Los casos presentaron diferencias significativas en todos los factores de riesgo ya reportados para la DG; excepto en el porcentaje de antecedentes familiares de DT2. Ambos grupos tuvieron valores altos en esta variable. Los valores de glucosa diagnósticos y postparto fueron mayores en las mujeres con DG. Además, dieron a luz en semanas más tempranas, lo cual correlaciona con una

disminución en el capurro. Además, un porcentaje alto de recién nacidos hijos de madres con DG, fueron pretérmino, prematuros o sufrieron muerte neonatal (tabla 3.15).

3.2.2. Genotipificación de las variantes alélicas analizadas en la muestra de DG

La tasa de la genotipificación fue del 92%. Sólo se analizaron 5 SNP de los considerados para la muestra de DT2. A excepción de *KCNJ11* (rs5219) y *SLC30A8* (rs13266634) en el grupo de casos ($p=0.05$, 0.015), el resto de las variantes estuvieron en equilibrio de Hardy-Weinberg ($p<0.05$). Sólo se utilizaron los datos de las mujeres de la muestra de DT2 para comparar sus frecuencias alélicas con las de la muestra de DG, únicamente se incluyeron a aquéllas mujeres diabéticas cuya edad correspondía al intervalo de las pacientes con DG.

Para todas las variantes, las frecuencias del alelo de riesgo fueron mayores en los casos de DT2 en comparación con su grupo de controles, aunque debido a la selección de los grupos mencionado arriba, no se alcanzó la significancia estadística. Sucedió lo contrario en la muestra de DG, en la que las frecuencias de los alelos de riesgo de los controles fueron mayores que las de los casos e, incluso, también lo fueron con respecto a las de los casos de DT2. Por su parte, las frecuencias alélicas de los casos de DG fueron muy similares a las de los casos de DT2 (tabla 3.16).

Tabla 3.15. Características generales de la muestra de DG.

		Controles DG n=113	Casos DG n=243
Factores maternos	Edad (años)	30.4±7.3	34.9±5.4 *
	Obesidad (%)	12.5	30.8 *
	Presión sistólica (mmHg)	106.4±9.8	112.5±12.1 *
	Presión diastólica (mmHg)	67.7±8.5	72.4±8.7 *
	Edad materna avanzada (>35 años) (%)	32.7	57.3 *
	Alta paridad (>3 gestas) (%)	44.9	57.1 *
	Antecedentes de DT2 (%)	78.7	83.3
	Antecedentes de DG (%)	0	7.3 *
Datos diagnósticos	DG previa (%)	0	11.1 *
	Semana de gestación	27.9±3.8	23.9±4 *
	Glucosa en ayuno (mg/dL)	80.2±6.8	94.6±12.5 *
	Glucosa a 60' (mg/dL)	128.1±25.5	195.3±27.2 *
	Glucosa a 120' (mg/dL)	114.1±18.2	176.1±27.2 *
	Glucosa a 180' (mg/dL)	98.1±16.8	140.5±27.3 *
Datos postparto	Área bajo la curva	19883.6±2665.6	28796.2±3553.4 *
	Glucosa en ayuno (mg/dL)	95.9±6.7	103.3±31.2 *
Factores producto	Glucosa a 120' (mg/dL)	108.9±15.7	139.9±64 *
	Semana de parto	38.1±2.2	37.1±2.1 *
	Peso (g)	2901.3±521	2899.1±604.1
	Talla (cm)	48.8±2.8	48.6±3.9
	Capurro	38.6±1.8	37.5±2.4 *
	Pretérmino, prematuridad, MNT (%)	9.8	22.9 *

Se muestra la media ± DS. * $p<0.05$ con respecto al grupo control.

En relación a lo anterior, es importante hacer referencia al alto porcentaje de participantes con antecedentes familiares de DT2 (tabla 3.15). Es por ello que decidimos recalcular las frecuencias

tomando en cuenta dicha variable. Aunque el número de mujeres sin antecedentes familiares de DT2 fue bajo, pudimos observar que en este grupo y para la mayoría de las variantes, las frecuencias de los alelos de riesgo son menores tanto en casos como en controles. No obstante, las frecuencias alélicas en ambos grupos de controles siguieron siendo mayores o iguales en comparación con sus grupos de casos aún en las mujeres sin antecedentes familiares de DT2 (tabla 3.17).

Tabla 3.16. Comparación de las frecuencias alélicas de riesgo entre mujeres con DT2 y DG.

Gen	SNP	Alelo riesgo	DT2 ♀		DG	
			Controles n=194	Casos n=182	Controles n=113	Casos n=243
<i>KCNJ11</i>	rs5219	T	0.318	0.383	0.436	0.388
<i>SLC30A8</i>	rs13266634	C	0.723	0.757	0.766	0.753
<i>HHEX/IDE</i>	rs1111875	T	0.348	0.359	0.445	0.354 *
<i>CDKN2A/2B</i>	rs10811661	T	0.892	0.905	0.912	0.916
<i>THADA</i>	rs7578597	T	0.958	0.980	0.972	0.963

* $p < 0.05$ con respecto al grupo control.

Tabla 3.17. Comparación de las frecuencias alélicas de riesgo según los antecedentes familiares de DT2.

Gen	SNP	Alelo riesgo	Sin AHDM		Con AHDM	
			Controles n=20	Casos n=37	Controles n=74	Casos n=184
<i>KCNJ11</i>	rs5219	T	0.342	0.353	0.472	0.382
<i>SLC30A8</i>	rs13266634	C	0.725	0.691	0.760	0.763
<i>HHEX/IDE</i>	rs1111875	T	0.425	0.371	0.458	0.352
<i>CDKN2A/2B</i>	rs10811661	T	0.921	0.928	0.908	0.909
<i>THADA</i>	rs7578597	T	0.974	0.943	0.965	0.964

AHDM, Antecedentes heredofamiliares de DM.

3.2.3. Análisis de asociación a DG

Poseer antecedentes familiares de DT2 fue una variable importante en la DG, por lo que decidimos comparar a las mujeres que reportaron poseer antecedentes familiares de DT2 contra las que no. Encontramos diferencias significativas en prácticamente las mismas variables entre casos y controles de cada grupo. Dado que el número de mujeres sin antecedentes es muy reducido, no fue posible hacer comparaciones estadísticas contra las que sí tenían; sin embargo, destaca que los casos con antecedentes tienen mayor presión arterial sistólica, mayores niveles de glucosa postparto en ayuno y, un mayor porcentaje de desarrolla DT2 después del parto (tabla 3.18).

Las comparaciones anteriores demostraron que la carga genética para DT2 tiene un efecto en la fisiopatología de la DG; sin embargo, con las variantes alélicas estudiadas no fue posible explicar dichos cambios. Se analizó la asociación de los genotipos a la enfermedad tanto en la muestra total de DG como en el grupo con antecedentes familiares de DT2, pero no en el grupo sin antecedentes por tener un tamaño de muestra insuficiente. En contraste con los resultados de DT2, encontramos que la variante del gen *KCNJ11* (rs5219) disminuye el riesgo a desarrollar DG

en el grupo con antecedentes familiares de DT2, bajo un modelo genético recesivo (tabla 3.19). Las mujeres con DG tuvieron menor frecuencia del genotipo de riesgo que los controles ($p=0.022$).

La frecuencia del alelo de riesgo del SNP rs7578597 (*THADA*) fue tan alta que no se pudieron ajustar los modelos de regresión. Ninguna otra variante resultó asociada; aunque la región *HHEX/IDE* (rs1111875) casi alcanzó la significancia estadística para un efecto de protección a DG, al igual que rs5219 ($p=0.056$).

Finalmente, se probó la asociación de los SNP utilizando los datos de las mujeres controles de la muestra de DT2. En estas condiciones, encontramos que la variante del gen *KCNJ11* (rs5219) confiere riesgo a desarrollar DG, bajo un modelo genético recesivo (tabla 3.19). En contraste con lo observado anteriormente, las mujeres con DG tuvieron mayor frecuencia del genotipo de riesgo que las mujeres controles de DT2 ($p=0.046$).

Tabla 3.18. Características de la muestra de DG según los antecedentes familiares de DT2.

		Sin AHDM		Con AHDM	
		Controles n=20	Casos n=37	Controles n=74	Casos n=184
Factores maternos	Edad (años)	30.1±7.5	35.6±5.3 *	29.9±7.3	34.7±5.4 *
	Obesidad (%)	10	35.1 *	12.2	30.3 *
	Presión sistólica (mmHg)	108±9.5	108.4±11	105.4±9.4	113.2±12.3 *
	Presión diastólica (mmHg)	68±8.3	71.1±8.8	67±8.3	72.8±8.6 *
	Edad materna avanzada (>35 años) (%)	30	67.6 *	29.7	55.5 *
	Alta paridad (>3 gestas) (%)	40	56.8	43.2	54.4
	Antecedentes de DG (%)	0	7.7	0	6.7
	DG previa (%)	0	10.8 *	0	10.9 *
Datos diagnósticos	Semana de gestación	28±4.1	24.1±4 *	28.3±3.9	23.8±4.08 *
	Glucosa en ayuno (mg/dL)	81.2±7.7	93.8±10.8 *	80.2±6.8	95.1±13.1 *
	Glucosa a 60' (mg/dL)	117.9±20.9	191.7±24.7 *	128.4±25.7	196.2±27.9 *
	Glucosa a 120' (mg/dL)	108.8±16.4	172.2±22.1 *	114.7±17.9	177.7±28.5 *
	Glucosa a 180' (mg/dL)	95.4±17.1	135.9±26.9 *	98.4±17	142.9±27 *
	Área bajo la curva	18894±2452.7	28247.8±3044 *	19948±2675.8	28954.5±3746.7 *
Datos postparto	Glucosa en ayuno (mg/dL)	n.d.	93.1±14.5	96.3±7.4	105.9±35.1 *
	Glucosa a 120' (mg/dL)	n.d.	130.1±38.5	111.2±13.3	144±71.1 *
	DT2 postparto (%)	0	4.8 *	0	10.6 *
Factores producto	Semana de parto	38±2.9	36.9±22.6	38.2±1.9	37.2±2 *
	Peso (g)	2919.7±644.5	2997.9±590.5	2881.4±462.9	2872.3±619.7
	Talla (cm)	48.6±3.7	49±3.7	48.7±2.5	48.5±4.2
	Capurro	38.3±2.7	37.5±2	38.6±1.5	37.4±2.6 *
	Pretérmino, prematuridad, MNT (%)	17.6	23.1	6.8	23.4 *

Se muestra la media ± DS. * $p<0.05$ con respecto al grupo control. n.d., no disponible. AHDM, Antecedentes hereditarios de DM.

Tabla 3.19. Asociación a DG en población mestiza mexicana.

Gen	SNP	Alelo riesgo	Controles de DG y casos de DG totales.		Controles de DG y casos de DG con AHDM		Controles DT2 y casos de DG totales	
			OR (IC 95%)	<i>p</i>	OR (IC 95%)	<i>p</i>	OR (IC 95%)	<i>p</i>
<i>KCNJ11</i>	rs5219	T	0.50 (0.24-1.02)	0.056	0.43 (0.20-0.90)	0.024	1.91 (1.003-3.64)	0.049
<i>SLC30A8</i>	rs13266634	C	1.03 (0.24-4.40)	0.968	0.61 (0.12-3.14)	0.550	2.19 (0.85-5.69)	0.106
<i>HHEX/IDE</i>	rs1111875	T	0.70 (0.48-1.02)	0.062	0.67 (0.45-1.01)	0.056	1.03 (0.77-1.38)	0.847
<i>CDKN2A/2B</i>	rs10811661	T	0.84 (0.62-11.5)	0.897	0.84 (0.067-10.5)	0.891	2.46 (0.45-13.6)	0.301
<i>THADA</i>	rs7578597	T	n.a.		n.a.		n.a.	

Los primeros dos análisis fueron ajustados por edad, obesidad y antecedentes familiares de DT2 cuando p Wald <0.05 . n.a., no aplicable. AHDM, Antecedentes hereditarios de DM.

3.2.4. Análisis de alelos múltiples en DG

Se consideraron los 4 SNP que resultaron asociados en la muestra de DT2 en nuestra población; y se incluyeron únicamente los individuos que tuvieron los datos completos de genotipificación para estos (n=318 para DG y n=330 para DT2). No hubo individuos con menos de 2, ni con más de 8 alelos de riesgo.

En concordancia con los resultados arriba mencionados, encontramos que: 1) la proporción de mujeres con más variantes alélicas es menor en los casos y mayor en los controles, ambos de la muestra de DG; 2) el porcentaje de mujeres con DT2 comienza a aumentar a partir de una carga de 7 alelos de riesgo, como ya se había observado anteriormente; 3) la mayor proporción de los casos de DG sin antecedentes familiares de DT2 tienen 5 ó 6 variantes alélicas (82.35%), pero disminuyen drásticamente en los intervalos siguientes y 4) no se observan diferencias entre casos y controles en el grupo con antecedentes familiares de DT2, salvo que la proporción de mujeres con DG es menor con respecto a los controles al considerar 7 o más alelos de riesgo (figura 3.6).

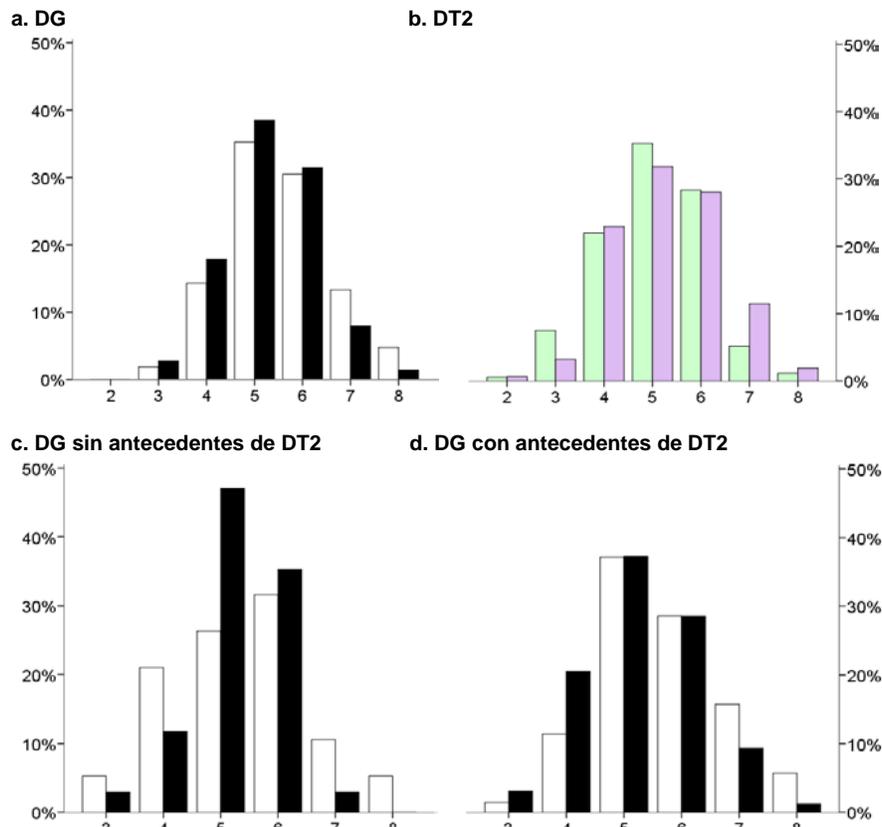


Figura 3.6. Distribución de alelos de riesgo a DT2 en mujeres con DG y DT2. Blanco (controles DG), negro (casos DG), verde agua (controles DT2), lila (casos DT2).

4. DISCUSIÓN

El creciente estudio de la DM ha arrojado suficiente información como para reconocer su gran complejidad y reconsiderar su clasificación. En especial, la DT2 es una enfermedad muy heterogénea que no tiene una secuencia causal única; es decir, cada paciente presenta una combinación diversa de alteraciones que los hace progresar de forma distinta. En orden de aparición, las dos alteraciones principales en su etiología son: 1) resistencia a la insulina y 2) disfunción de las células pancreáticas. De forma general, un aumento en la resistencia a la insulina en los órganos blancos es inicialmente compensado mediante el incremento en la secreción de insulina, la expresión del gen de la hormona y la masa pancreática. Cualquier fallo en el mecanismo de compensación provocará hiperglucemia.

La aparición y severidad de estas alteraciones están determinadas por la existencia de condiciones ambientales adversas y la predisposición genética. Se propone que la DT2 se desarrolla cuando el ambiente potencia la resistencia a la insulina en un individuo que está genéticamente predispuesto a la disfunción de sus células pancreáticas. En función a esta hipótesis, se pueden hacer varias predicciones: 1) las variantes alélicas que únicamente afecten a la célula β predisponen a DT2; 2) las variantes alélicas asociadas a DT2 están principalmente en genes que se expresan en la célula β ; 3) de encontrarse variantes alélicas que generen resistencia a la insulina, su modo de acción debería ser mediante la interacción con el ambiente. Aunque casi todas las variantes reportadas hasta el momento comprometen directamente la función pancreática, no se descarta la identificación de contribución genética para la resistencia a la insulina (Florez, 2008).

La capacidad y magnitud de la respuesta compensatoria de la célula establecida genéticamente, es la principal determinante de la habilidad a largo plazo que tiene un individuo para mantener la homeostasis de la glucosa ante episodios de resistencia a la insulina. La combinación de factores ambientales y genéticos a los que están expuestos los pacientes deben ser tomados en cuenta para distinguir características especiales entre los individuos que desarrollan diabetes. A la fecha, ya hay evidencia clínica para considerar la existencia de subgrupos de DT2 (Aguilar-Salinas *et al.*, 2001; Aguilar-Salinas *et al.*, 2002; Garcia-Garcia *et al.*, 2002; Hillier *et al.*, 2001; 2003); sin embargo, los estudios genéticos que los apoyan aún no son tan abundantes (Flavell *et al.*, 2005; Frayling *et al.*, 2003; Villarreal-Molina *et al.*, 2008). En este estudio, obtuvimos diferencias en las características clínicas, similares a lo ya reportado en nuestra población y; adicionalmente, encontramos particularidades genéticas en cada subgrupo.

4.1. Diferencias fenotípicas en los subgrupos de DT2

Tanto la edad de diagnóstico como el estado de obesidad se han descrito como variables determinantes del fenotipo y curso clínico de los pacientes con DT2; y más recientemente, se reportó que los diabéticos procedentes de instituciones hospitalarias poseían características distintas a los de población abierta (Aguilar-Salinas *et al.*, 2002). La estratificación de la muestra en función a dichos criterios nos permitió corroborar las características clínicas de los subgrupos de DT2 en la muestra y, relacionarlas con los resultados del análisis genético. Sobre las características más evidentes que distinguen a cada subgrupo podemos comentar lo siguiente:

1. Edad de diagnóstico

La resistencia a la insulina y, por tanto, la tolerancia a la glucosa tienden a deteriorarse conforme avanza la edad, debido a que aumentan los depósitos de grasa central –evaluada mediante la medición de circunferencia de cintura, indicador de riesgo para la resistencia a la insulina y DT2– y disminuye la función de las células β pancreáticas. No obstante, los estudios epidemiológicos más recientes indican que la prevalencia de pacientes que desarrollan DT2 en edad joven va en aumento (tabla 1.1). La principal característica que diferencia a estos pacientes del resto, es que presentan una deficiencia severa en la secreción de insulina. Al parecer es una forma mucho más agresiva puesto que la descompensación comienza desde edad temprana, por lo que tienen mayor riesgo de sufrir complicaciones crónicas (Aguilar-Salinas *et al.*, 2001; Aguilar-Salinas *et al.*, 2002; Garcia-Garcia *et al.*, 2002).

En contraste, la alteración principal de los diabéticos de inicio tardío es una grave resistencia a la insulina, explicable porque su exposición al componente ambiental ha sido más alta e incluye la acumulación de grasa central y con ella, niveles altos de triglicéridos y LDL. Sus complicaciones están asociadas a la obesidad, por ejemplo, hipertensión y riesgo cardiovascular (Aguilar-Salinas *et al.*, 2001; Aguilar-Salinas *et al.*, 2002). En la muestra estudiada, un gran porcentaje de pacientes estaban bajo tratamiento médico, de modo que algunas de las diferencias fueron enmascaradas; sin embargo, pudimos observar que los pacientes de inicio tardío tuvieron mayor circunferencia de cintura (reflejo de acumulación de grasa central) y presión arterial (tabla 3.1).

2. Requerimientos de atención médica

Los pacientes que acuden a instituciones hospitalarias para su control, lo hacen fundamentalmente, porque ya han desarrollado complicaciones, tales como insuficiencia renal o enfermedad cardiovascular. Al igual que los diabéticos de inicio temprano, la alteración principal de

los que requieren atención médica más especializada y urgente es la deficiencia grave de secreción de insulina. En el grupo de diabéticos de población abierta, no contamos con el cálculo de HOMA B como indicador de la secreción de insulina; sin embargo, hay estudios que reportan una disminución significativa en el subgrupo de pacientes que acuden a un hospital (Aguilar-Salinas *et al.*, 2001; Aguilar-Salinas *et al.*, 2002).

En comparación con los diabéticos que no requieren atención médica tan especializada (población abierta), los captados a través de instituciones hospitalarias son personas con menor circunferencia de cintura, presión arterial, glucosa, colesterol y triglicéridos (tabla 3.2). Es interesante, que los pacientes de población abierta presentaran niveles de glucosa mayores, probablemente porque muchos de ellos no llevaban un tratamiento especial para su enfermedad e incluso, el 35% no se sabían diabéticos. Lo anterior refuerza que no son pacientes con complicaciones graves y, que es la exposición ambiental la que potencia su evolución.

3. *Estado de obesidad*

La obesidad es una de las condiciones patológicas que se asocian estrechamente con la DT2, dado que provoca un aumento en su prevalencia. En los individuos normoglucémicos que experimentan una ganancia de peso, se monta la respuesta compensatoria (aumento en la secreción de insulina), para contrarrestar la resistencia a la insulina asociada a la obesidad. Esta involucra el uso preferencial de ácidos grasos y se le ha llamado *glucolipoadaptación*. Cuando la compensación es insuficiente y las células β no son capaces de seguir manteniendo una respuesta secretoria suficiente, los niveles de glucosa se elevan tanto que se hacen evidentes los efectos adversos de los ácidos grasos (disminuye la secreción de insulina, la expresión de su gen y la masa β pancreática). A esta fase de descompensación se le llama *glucolipotoxicidad*. El deterioro de la función β pancreática irá en aumento, si persiste la hiperglucemia (Poitout *et al.*, 2009).

Como es de esperarse, los individuos normoglucémicos no obesos son los que presentan las mejores cifras de función β pancreática y sensibilidad a la insulina. Según como lo predice la hipótesis de la glucolipotoxicidad, tanto en los normoglucémicos como en los diabéticos obesos se observa una hipersecreción de insulina ante una creciente resistencia a esta, provocada por la elevada exposición a los ácidos grasos. Vale la pena destacar que en los diabéticos no obesos la alteración principal es la disfunción de las células β más que resistencia a la insulina, lo cual nos permite pensar que los mecanismos por los que desarrollan la DT2 no son debidos a la glucolipotoxicidad (tabla 3.3).

Al respecto, cabe mencionar que dentro de la regulación de la homeostasis de la glucosa participan varios mecanismos; entre los cuales podemos mencionar: 1) modulación de la secreción

de la insulina por el sistema nervioso, a través del efecto de hormonas/neurotransmisores, como norepinefrina y epinefrina; 2) regulación autocrina por parte de la insulina y el factor de crecimiento neuronal, secretados por las células β y 3) regulación parácrina por parte del glucagon y somatostatina, secretados por las células α y γ de los islotes (Hiriart *et al.*, 2008).

4.2. Diferencias genotípicas en los subgrupos de DT2

Para tener una comprensión más completa de cada subgrupo es necesario interpretar los datos clínicos en conjunto con la información genética, ya que esta, representa la capacidad que tiene cada individuo para mantener la normoglucemia aún cuando los factores ambientales sean adversos. A la fecha, ya hay estudios donde se reportan genes que aumentan su efecto o confieren susceptibilidad sólo en cierto grupo de diabéticos (Cauchi *et al.*, 2008; Flavell *et al.*, 2005; Villarreal-Molina *et al.*, 2008). Nuestros resultados demostraron que existen genes que participan en la etiología de la DT2 indistintamente a la edad de inicio de la enfermedad o el origen de la muestra; sin embargo, para otros evidenciamos su asociación sólo en alguno de los subgrupos.

En la población mestiza mexicana, independientemente de las características clínicas, cuatro variantes alélicas están asociadas a la DT2 en la población total bajo modelos genéticos y magnitudes diferentes (*KCNJ11*, rs5219; *HHEX/IDE*, rs1111875; *CDKN2A/2B*, rs10811661; *ARHGEF11*, rs945508). El efecto de la última es mayor entre individuos no obesos. La variante del gen *SLC30A8* (rs13266634) confiere riesgo sólo en diabéticos de inicio temprano. Además, tres variantes más, se asocian únicamente a algún subgrupo de diabéticos (*IGF2BP2*, rs4402960 y rs140579; *CDC123/CAMK1D*, rs12779790) (tablas 3.5-3.8). Por otra parte, algunos genotipos provocaron un aumento o disminución en la magnitud de ciertos rasgos de interés para la enfermedad y, es interesante que su efecto se observara primordialmente en determinados subgrupos de DT2. Nuestros modelos demostraron que hay variables ambientales, como el IMC, que modifican la magnitud del efecto del genotipo.

1. *KCNJ11* (rs5219)

Esta variante provoca un incremento de 1.33 veces el riesgo a desarrollar DT2, con un efecto dosis-alelo dependiente. Esto es, un individuo con un alelo *T* tendrá 20.33% más riesgo de desarrollar DT2 que un individuo con ninguno; pero si alguien posee dos alelos *T* tendrá 40.66% más riesgo.

El gen *KCNJ11* es fundamental en la homeostasis de la glucosa, ya que codifica para una de las dos subunidades que forman el canal de K^+ dependiente de ATP. En las células, el

aumento de ATP citosólico provoca el cierre del canal y disminuye el eflujo de iones K^+ . Esto inicia la despolarización del potencial de membrana, que continuará con la apertura de otros canales, como los de Na^+ y los de Ca^{2+} tipo T, dependientes de voltaje y, la subsecuente exocitosis de la insulina (Hiriart *et al.*, 2008). El alelo de riesgo *T* genera el cambio no sinónimo de aminoácidos E23K y; como resultado, aumenta la actividad de canal (permite el paso de iones K^+ , lo que alenta el proceso de despolarización o incluso, hiperpolariza a la célula) y, en consecuencia se disminuye la secreción de insulina. En condiciones de normoglucemia, poseer el alelo de riesgo cambia la disponibilidad de sustratos porque se reduce la incorporación de glucosa en músculo y tejido adiposo pero mejora el suministro en tejidos como el cerebro; sin embargo, con una ingesta de azúcares alta propia del estilo de vida occidental, o bien, con una resistencia a la insulina previa, genera hiperglucemia (Riedel *et al.*, 2005) (tablas 1.6-1.7).

Lo anterior explica por qué en los diabéticos de inicio temprano poseer el alelo de riesgo, se asoció con un aumento de 19.62 mg/dL en los niveles plasmáticos de glucosa. En este mismo grupo, también observamos que en los portadores del alelo K, la secreción de insulina es menor. La disfunción β pancreática es la principal característica que define a dicho subgrupo, por lo que es probable que estos individuos estén más predispuestos genéticamente y, por tanto su mecanismo de compensación no es tan eficiente a comparación de los diabéticos de inicio tardío. Por otra parte, los ácidos grasos circulantes también pueden unirse directamente al canal, aumentando aún más su actividad y efectos adversos (Wan *et al.*, 2009). En los individuos obesos de este estudio, el alelo K se asoció con una disminución de 31.98 puntos porcentuales en la secreción de insulina y con un aumento de 24.55 mg/dL en los niveles de glucosa. Este efecto está dado principalmente por el grupo de casos, donde los niveles altos de glucosa propios de la enfermedad potencian la glucolipototoxicidad (tabla 3.10, figura 3.1). Anteriormente, ya se había reportado su asociación con un aumento en el IMC (Riedel *et al.*, 2005) y con una disminución en la secreción de insulina (Wan *et al.*, 2009).

2. *HHEX/IDE* (rs1111875)

Esta variante provoca un aumento de 1.63 veces el riesgo a desarrollar DT2 bajo un modelo recesivo; es decir, cuando se poseen dos alelos de riesgo (*T*). De esta forma, tendrá 31.42% más riesgo a desarrollar la enfermedad que un individuo con un alelo *T* o sin ninguno.

La región génica que comprende este SNP incluye a los genes *HHEX* e *IDE*. El primero codifica para un factor de transcripción *homeobox* que regula el desarrollo embrionario de órganos relevantes para la DT2, como el hígado y el páncreas (Hunter *et al.*, 2007); y el segundo codifica para una metalopeptidasa dependiente de Zn^{2+} que degrada a la insulina intracelular, una vez que ha producido su efecto (Pivovarova *et al.*, 2009a) (tablas 1.6-1.7). Aún no es claro si esta variante

es la responsable del efecto y, en cuál de los dos genes se ubicaría; sin embargo, nuestros resultados se pueden explicar mejor por medio de la función de *IDE*.

En condiciones normoglucémicas, un aumento en la concentración de insulina potencia la actividad de la proteína IDE, lo que favorece la degradación de la hormona. El alelo *T* podría asociarse con una reducción en la actividad enzimática de IDE, haciendo que degrade la insulina más lentamente y, aumente su tiempo de acción (Pivovarova *et al.*, 2009b). De ahí que se asocie a una pequeña disminución de 3.89 mg/dL en los niveles de glucosa en controles (tabla 3.11, figura 3.2). En contraste, se ha visto que en condiciones de hiperglucemia, tanto la glucosa como los ácidos grasos se unen directamente a IDE y disminuyen aún más su actividad (Pivovarova *et al.*, 2009a). El ambiente hiperinsulinémico que se produce, puede regresar la concentración de glucosa a los niveles normales, pero eventualmente, provocará resistencia a la insulina y mayor secreción de esta. Esto explicaría porque los individuos obesos portadores del alelo de riesgo son más resistentes a la insulina y porque en los diabéticos, se observa un aumento en la secreción a la insulina.

Finalmente, el alelo *T* se asoció con una disminución de 46.12 mg/dL en los niveles de triglicéridos en el grupo de casos. Hay estudios que demuestran que la acumulación de triglicéridos puede proteger contra la lipotoxicidad, ya que esterifican ácidos grasos evitando su transformación en otras moléculas, como el acetil-CoA, que son las que realmente ejercen los efectos adversos (Listenberger *et al.*, 2003). Es probable que dicho efecto de protección se haya anulado en los pacientes diabéticos; o bien, que la disminución se deba a la unión de los ácidos grasos a IDE.

3. *CDKN2A/2B* (rs10811661)

Esta variante provoca un aumento de 1.46 veces el riesgo a desarrollar DT2, con un efecto dosis-alelo dependiente. Esto es que, poseer un alelo *T* confiere 38.6% más riesgo en comparación con no poseer ningún alelo de riesgo, pero un individuo con 2 alelos de riesgo tendrá 77.2% más riesgo.

El SNP está contenido dentro de la región génica *CDKN2A/2B* que codifica para dos proteínas supresoras de tumores que se unen e inhiben a las cinasas promotoras de la proliferación, CDK4 y 6. Cuando envejecemos, aumentan sus niveles de expresión y, en célula β , se traduce en una reducción de la masa pancreática y de secreción de insulina (Dhawan *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2006) (tablas 1.6-1.7). El alelo de riesgo *T* podría favorecer su expresión desde edad joven, de modo que ante una pérdida importante de la masa β pancreática, las posibilidades de reemplazo son bajas. En nuestra muestra no se evidenció ninguna asociación del genotipo con

la secreción de insulina, sólo una reducción de esta en los diabéticos portadores del alelo de riesgo, especialmente en los menores de 45 años de edad (figura 3.3).

4. *ARHGEF11* (rs945508)

Esta variante provoca un incremento de 1.89 veces el riesgo a desarrollar DT2 bajo un modelo dominante; es decir, cuando se tiene ya sea uno o dos alelos de riesgo (C). Un individuo con algún alelo C tendrá 61.66% más riesgo que un individuo que no tenga ninguno. Sin embargo, entre la población no obesa, provoca un incremento de 2.58 veces el riesgo a desarrollar DT2. Poseer uno o dos alelos de riesgo les confiere 126.78% más riesgo en comparación con no poseer ninguno.

El gen *ARHGEF11* codifica para un factor intercambiador de nucleótidos que interacciona con GTPasas pequeñas y funciona como interruptor molecular en rutas de señalización, como la de la insulina. A la fecha sólo hay tres reportes que lo relacionan con la DT2, pero sus resultados son contrastantes: el alelo C confiere riesgo en población mestiza mexicana y en alemana, pero confiere protección en población amish (grupo étnico descendiente de inmigrantes suizos, asentados en EUA y Canadá); mientras que el alelo T confiere riesgo en población pima (grupo indígena asentado en Sonora y Arizona) (tabla 1.8). De forma similar el alelo T se asoció con disminución en la incorporación de la glucosa y su almacenamiento (Ma *et al.*, 2007), pero también el alelo C con aumento en los niveles plasmáticos de glucosa (Bottcher *et al.*, 2008). En nuestra población, se asoció con una disminución en los niveles de glucosa de 34.21 mg/dL en los diabéticos, especialmente en aquellos de inicio temprano y en los que no son obesos (tabla 3.12, figura 3.4).

Los resultados anteriores podrían sugerir que: 1) esta variante alélica no es la responsable del efecto, sino alguna otra que se encuentre en LD con ella; o 2) sus efectos opuestos se deban a la interacción de algún otro factor genético o ambiental. No obstante, hacen falta estudios funcionales antes de hacer conclusiones al respecto. Aunque no se conoce su mecanismo de acción, es probable que la vía de secreción de la insulina se vea afectada en los portadores del alelo de riesgo. Al respecto, se ha reportado que los SNP que afectan la acción de la insulina se asocian a la DT2 en sujetos obesos, mientras que los que modulan la función pancreática se asocian a la DT2 en no obesos (Cauchi *et al.*, 2008). Aún cuando la variante no fuera la funcional, no se descarta que este gen participe en la DT2 y, particularmente en la disfunción de las células β , lo cual explica porque su efecto fue mayor en diabéticos no obesos.

5. *SLC30A8* (rs13266634)

Esta variante provoca un incremento de 1.42 veces el riesgo a desarrollar DT2 en los individuos diagnosticados antes de los 45 años. El efecto es dosis-alelo dependiente. Un individuo con un alelo C tendrá 16.73% más riesgo de desarrollar la enfermedad que un individuo sin ningún alelo, pero un individuo con dos alelos C tendrá 33.46% más riesgo.

El gen *SLC30A8* codifica para un transportador de Zn^{2+} ubicado en la membrana de vesículas de insulina intracelulares en las células pancreáticas. El Zn^{2+} es esencial para la formación de los hexámeros de insulina, así como para su eficiente empaquetamiento y almacenamiento, pero no modifica su procesamiento. Una disminución en su expresión provoca que el contenido intracelular de insulina sea insuficiente ante condiciones de hiperglucemia (Fu *et al.*, 2009; Lemaire *et al.*, 2009). La variante se ha asociado con una disminución de la secreción de insulina de primera fase (Boesgaard *et al.*, 2008) y, su efecto es mayor en diabéticos no obesos (Cauchi *et al.*, 2008) (tablas 1.6-1.7). En este estudio, no se observó ninguna asociación del alelo de riesgo con rasgos bioquímicos de interés; sin embargo, la principal característica de los diabéticos de inicio temprano es la disfunción pancreática, mecanismo en el que está directamente involucrado este gen.

6. *IGF2BP2* (rs4402960) y *CDC123/CAMK1D* (rs12779790)

Estos *loci* provocan un incremento de 1.56 y 1.60 veces el riesgo a desarrollar DT2, respectivamente, en los individuos diabéticos captados de la población abierta. El efecto de rs4402960 se da cuando se tiene uno o dos alelos de riesgo, lo cual genera 51.15% más riesgo en comparación a no poseer ninguno. Por su parte, el efecto de la variante rs12779790 es dosis-alelo dependiente. Un individuo con un alelo tendrá 53.91% más riesgo que uno sin alelos y, un individuo con dos alelos tendrá 100% más riesgo.

El gen *IGF2BP2* codifica para una proteína reguladora que se acopla al RNAm de IGF2 y desacopla su traducción. Este último es un factor de crecimiento embrionario pero sus efectos se extienden hasta la vida adulta; puede estimular respuestas metabólicas similares a las de la insulina al unirse a la isoforma del receptor de insulina tipo B (Chao *et al.*, 2008). El SNP podría tener un efecto adverso cuando existe desnutrición fetal, de modo que afectaría el metabolismo de la glucosa cuando se es adulto (van Hoek *et al.*, 2009); además se ha visto que en los portadores del alelo de riesgo disminuye la secreción de insulina (Horikoshi *et al.*, 2007). La región génica donde se encuentra el SNP rs12779790 incluye a los genes *CDC123* y *CAMK1D*. El primero codifica a una proteína reguladora del ciclo celular necesaria para la entrada a la fase S y, está controlada por privación nutricional. El segundo codifica a una cinasa dependiente de Ca^{2+} .

calmodulina que regula la proliferación celular, apoptosis y balance de energía. No se ha reportado ninguna relación directa del gen con la DT2, pero en los portadores del alelo de riesgo disminuye la secreción de insulina, así como la respuesta a esta (Grarup *et al.*, 2008) (tablas 1.6-1.7). Debido a que no se contaban con los datos suficientes, en este estudio no se evidenció ninguna asociación de los genotipos con algún rasgo de interés para ninguna de las dos variantes.

Es importante recalcar que las magnitudes de los efectos que se reportan reflejan la influencia del SNP en el riesgo que tiene un individuo para desarrollar DT2, pero no su impacto a nivel poblacional. Esto es, un SNP que confiera un riesgo alto ($OR > 2$), podría ser muy poco frecuente en la población de estudio y, por lo tanto, su efecto poblacional sería bajo. De tal forma que el OR sólo nos expresa la contribución de una variante en el riesgo individual para desarrollar una enfermedad, tomando en cuenta la diferencia de las frecuencias del alelo riesgo entre casos y controles. Una alternativa es el cálculo del Riesgo Atribuible Poblacional (RAP) que expresa la contribución de los casos portadores del alelo de riesgo, en la incidencia poblacional de la enfermedad (Bodmer *et al.*, 2008). En otras palabras, es la fracción de casos que no existirían, si nadie en la población tuviera el alelo de riesgo (Kraft *et al.*, 2009). A diferencia del OR, toma en cuenta las frecuencias alélicas de riesgo para calcular la proporción de la incidencia de la enfermedad que se debe al factor genético; e incluso puede calcularse un RAP *multi-loci* si se incluye la información de más de una variante.

No obstante, tanto el OR como el RAP no son predictores del efecto real de las variantes alélicas puesto que consideran la existencia sólo de algún gen y; en el caso del RAP *multi-loci*, queda la posibilidad de que haya otros que aún no han sido descubiertos. Además, tampoco consideran que haya factores ambientales que puedan contribuir al riesgo de la enfermedad, ni que haya interacciones génicas entre una o más variantes alélicas que puedan aumentar el valor de OR, como se comentará a continuación.

4.2.1. Efecto conjunto de las variantes alélicas asociadas a DT2

Los efectos genotípicos de un alelo de riesgo pueden depender de factores ambientales (interacciones gen-ambiente) y de variantes en otros *loci* (interacciones gen-gen) (Moore *et al.*, 2006). Dichas interacciones modifican la dirección y magnitud del efecto. Como ya se explicó, nuestros resultados demostraron que el efecto de algunas de las variantes de riesgo es diferente ante la exposición de variables ambientales importantes, como la presencia o no de obesidad. Un análisis posterior evidenció que también hay interacciones gen-gen. Entre las variantes que se estudiaron en este trabajo, encontramos dos pares de ellas que interactúan entre sí. Ambas fueron corroboradas mediante la aplicación de dos herramientas de análisis (tabla 3.13).

La primera se trata de *ARHGEF11* (rs945508) –cuyo efecto individual se da en la población general y, es mayor en los individuos no obesos– y *CDC123/CAMK1D* (rs12779790) –que individualmente participa en la predisposición de población abierta–. La interacción de estas dos variantes incrementa 1.69 veces el riesgo a desarrollar la DT2 independientemente de las características clínicas de la población. La segunda se evidenció con las variantes *HHEX/IDE* (rs1111875) –asociada individualmente en la población general– y *ADAMTS9* (rs4607103) –que no tuvo efecto ni en la población total ni en ninguno de los subgrupos–. Esta interacción disminuye 0.66 veces el riesgo a desarrollar la DT2. Es importante enfatizar el hecho de que algunas variantes afectan individualmente sólo en ciertos subgrupos de diabéticos; incluso es posible que no se observe asociación; aunque en interacción con otros genes el riesgo que confieren en el desarrollo a la DT2 se modifica.

De tres de dichas regiones génicas (*ARHGEF11*, *CDC123/CAMK1D* y *ADAMTS9*) hay poca información sobre su posible mecanismo funcional; de modo que dar una explicación biológica a estas interacciones aún no es posible (tablas 1.6-1.7). No obstante, refleja la complejidad de la relación entre todos los factores que participan en la etiología de la enfermedad.

4.2.2. Relevancia de la carga alélica en el desarrollo de la DT2

La DT2 es una enfermedad poligénica, es decir, hay muchos genes que participan en su desarrollo. A la fecha se ha comprobado la asociación de al menos 18 variantes comunes con la enfermedad (figura 1.4) y, un estudio en población europea, calculó que tener el máximo número de alelos de riesgo (carga alélica alta) aumenta 2.3 veces el riesgo a desarrollar DT2, especialmente en los pacientes obesos y los de inicio temprano (Lango *et al.*, 2008). Otro reporte, demostró que poseer un número alto de alelos de riesgo acelera la disfunción β pancreática y que el efecto es dependiente de la edad (Haupt *et al.*, 2009).

Establecimos un número de 8 variantes alélicas como punto de corte para analizar el efecto de poseer carga alélica alta, aún cuando el área bajo la curva ROC fue de 0.59. Otros estudios han demostrado que aún usando las 18 variantes de riesgo hasta el momento identificadas, dicha cifra no aumenta (AUC=0.60) (Lango *et al.*, 2008). Esto significa que el componente genético identificado hasta el momento sólo explica una pequeña fracción de la heredabilidad de la DT2. Aunque a nivel poblacional, estas variantes no permiten discriminar entre individuos que desarrollarán o no la DT2, sí nos permite identificar subgrupos de la población que están en mayor riesgo.

En concordancia con lo ya reportado, encontramos que los pacientes diabéticos tienen mayor número de alelos de riesgo que las personas normoglucémicas, de tal forma, que sin

importar las características clínicas especiales de los pacientes, poseer 8 o más alelos de riesgo aumenta 1.67 veces más el riesgo a desarrollar DT2. Esto es, un individuo con 8 o más variantes alélicas tiene 36.01% más riesgo de enfermar que un individuo con menos de 8. Además, cuando la carga genética es alta (más de 8 variantes alélicas) el riesgo a desarrollar la enfermedad aumenta 21.87% por cada de 5 kg/m² más de IMC; en cambio, el riesgo aumenta 16.14% por cuando se es 10 años de edad más joven.

En nuestra población, pudimos identificar que: 1) la edad de diagnóstico, la procedencia de los sujetos y su estado de obesidad son variables que clasifican a la población diabética en subgrupos, los cuales presentan diferencias fenotípicas y genotípicas; 2) las condiciones ambientales pueden interaccionar con el factor genético y modular su efecto y 3) la carga génica es un factor determinante para la predisposición que tiene un individuo a desarrollar DT2. Adicionalmente, encontramos que hay algunos subgrupos de pacientes donde la carga alélica juega un papel más importante, puesto que es mayor la probabilidad de desarrollar DT2 (no obesos, población abierta y en menor medida inicio tardío), mientras que en otros grupos la influencia es menor (figura 3.6, tabla 3.14).

Como ya se mencionó, el aumento en el IMC incrementa el riesgo de desarrollar DT2; sin embargo, muchos diabéticos son no obesos y padecen incluso, una forma más severa. En estos pacientes, la exposición ambiental (p.ej. niveles altos de ácidos grasos libres circulantes) no es tan alta, pero la carga genética si lo es y, es lo que potencia su evolución a la enfermedad aún cuando parecieran individuos con bajo riesgo. Tener 8 o más variantes alélicas en el grupo de diabéticos no obesos incrementa 1.89 veces el riesgo a desarrollar DT2; es decir, la probabilidad aumenta 47.63%. En contraste, cuando se es obeso, la magnitud de riesgo que confiere tener muchas variantes no se modifica, probablemente porque los efectos de glucolipototoxicidad son tan altos que aún con poca carga genética la evolución a la enfermedad es más rápida.

Ahora bien, observamos que los pacientes captados de población abierta en general no son casos graves y, por tanto, no buscan atención médica especializada para su control. Además, que tienen perfiles lipídicos adversos, siendo su principal alteración la resistencia a la insulina; pero que puede seguir siendo compensada porque su función β pancreática aún es suficiente. En caso de que el componente genético sea alto, las probabilidades de convertirse en individuos diabéticos aumentan. Vale la pena recordar que la mayoría las variantes alélicas identificadas hasta el momento se relacionan con disfunción de las células β (tabla 1.6). De tal forma que tener 8 o más, aumenta 2.05 veces el riesgo a desarrollar DT2. Esto es 101.7% más probabilidad que un individuo con carga alélica baja. Es probable que los diabéticos que acuden a instituciones hospitalarias de tercer nivel porque ya han desarrollado complicaciones, tengan una estructura genética tal que aún con pocas variantes de riesgo, su función pancreática es casi nula.

Por último, se sabe que entre más edad tenga un individuo, más probabilidades tiene de desarrollar DT2; dado que ha estado más expuesto a condiciones ambientales adversas y, como parte de un proceso normal de envejecimiento, se pierde masa y función pancreática. Así, un aumento en la carga alélica eleva las probabilidades de que aún cuando se es joven, pueda desarrollarse la DT2. Sin embargo, encontramos que en los pacientes de inicio tardío, el efecto de la carga alélica es ligeramente mayor: 1.69 veces más, en comparación con 1.58 veces en los de inicio temprano. De acuerdo con el resto de los resultados, es posible que este último grupo tenga mayor frecuencia de variantes directamente asociadas con la disfunción pancreática (p.ej. *SLC30A8*, rs13266634), razón por la cual evolucionan más rápido aún cuando no tengan una colección tan amplia de variantes de riesgo como los de inicio tardío. Las diferencias fenotípicas apoyan esta idea dado que los diabéticos de inicio temprano tienen una disminución severa en la secreción de insulina, mientras que los de inicio tardío tienen como principal alteración la resistencia a la insulina.

Ya se ha mencionado que el OR puede sobreestimar la capacidad de los marcadores para predecir el riesgo a la enfermedad; sin embargo, la formación de perfiles genéticos basados en conjuntos de marcadores es útil para identificar subgrupos con grandes diferencias en el riesgo que tienen a desarrollar DT2. El propósito final de estos perfiles es de uso clínico, por ejemplo: establecer cambios en el estilo de vida o intervención médica oportuna para reducir el riesgo a desarrollar la enfermedad. Aún es necesario identificar nuevos marcadores genéticos asociados, así como el establecimiento de perfiles multi-*loci* en muestras independientes como pasos fundamentales para entender con claridad los mecanismos por los que la DT2 se desarrolla en diferentes grupos de individuos y que no se evidencian cuando se estudia la muestra total.

a.



b.

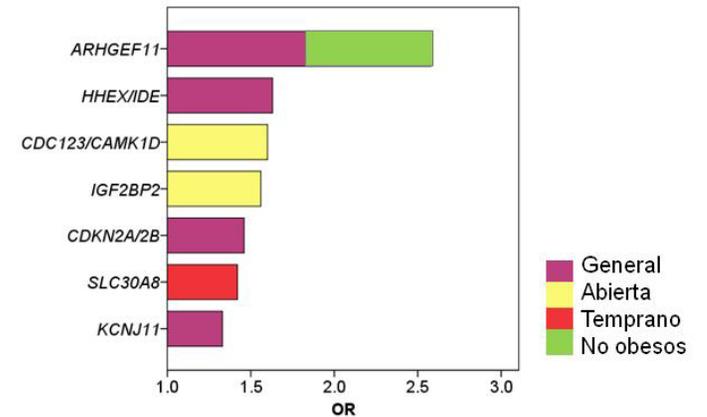


Figura 4.1. Influencia de siete variantes alélicas comunes en la DT2 y sus subgrupos, en población mestiza mexicana. a) Existen ciertas condiciones que provocan resistencia a la insulina (obesidad, desnutrición fetal, envejecimiento). Ésta es inicialmente compensada por el organismo; sin embargo, en las personas que están predispuestas genéticamente, la secreción de la insulina no es suficiente para contrarrestarla y se produce hiperglucemia. La evolución de cada paciente es diferente, pero es posible identificar subgrupos que comparten características clínicas y genéticas. Por ejemplo, los diabéticos de inicio temprano, los no obesos y los procedentes de hospital tienen como principal característica una disminución severa en la secreción de insulina, mientras que en los de inicio tardío, los obesos y los de población abierta, la principal alteración es la resistencia a la insulina. Además, tener carga alélica alta es determinante en la evolución a DT2 en los diabéticos de inicio tardío, los no obesos y los de población abierta. b) Algunas variantes confieren riesgo a la DT2 indistintamente de las características clínicas, pero el efecto de otras se da sólo en algún subgrupo. Además, el riesgo con el cual contribuyen es relativamente modesto. Todos los genes asociados se expresan en la célula β y su efecto puede estar modulado por el ambiente o por interacciones con otros genes.

4.3. Influencia de la DT2 en la predisposición a DG

Siendo el componente genético un factor tan importante en la predisposición a la DT2 es posible que existan muchas personas en riesgo latente de que exista un reto ambiental lo suficientemente fuerte como para causar una descompensación y, finalmente la aparición de la enfermedad. En función a esto, se ha propuesto que la DG podría ser un estado pre-diabético y que la resistencia a la insulina (característica normal del embarazo) se suma a las alteraciones que ya de por sí habían desarrollado y a la predisposición genética que posean, siendo la gestación el factor decisivo en el desarrollo de la hiperglucemia. La predisposición genética determina la capacidad que tiene un individuo de mantener la normoglucemia aún cuando los retos ambientales sean fuertes; así que el componente genético de estas mujeres debería ser alto (como en los diabéticos de inicio temprano) para perder la capacidad de compensación aún cuando son jóvenes.

El problema radica en distinguir si ese componente genético es el mismo que para la DT2 o si los mecanismos biológicos que confieren la susceptibilidad son diferentes. Por ello, una de las mayores complicaciones en el estudio de la DG es la dificultad para discriminar entre la DT2 y la DG. Pocas mujeres llevan un control glucémico previo al embarazo, así que es muy probable que muchas ya sean resistentes a la insulina, prediabéticas o incluso ya sean diabéticas. Si el componente genético fuera el mismo, ¿qué determina que haya mujeres con carga alélica alta y recuperen la normoglucemia al terminar el embarazo? Esto ha sugerido que los mecanismos por los que se genera la hiperglucemia en la DG no son los mismos a los de la DT2, sino que podrían estar relacionados con cambios y adaptaciones maternas al embarazo, p.ej.: producción de hormonas.

La muestra analizada presentó diferencias claras entre las mujeres con y sin DG (tabla 3.15), de acuerdo con lo ya reportado (Buchanan *et al.*, 2007; Vambergue *et al.*, 2002). No obstante, en la exploración de las variantes alélicas que resultaron asociadas en la muestra de DT2 (excepto *THADA*, rs7578597) observamos que las mujeres con embarazos normoglucémicos tenían frecuencias del alelo de riesgo similares o con tendencia a aumentar con respecto a las de las mujeres con DG (sólo la variante del gen *HHEX/IDE*, rs1111875 alcanzó significancia estadística). Al comparar la muestra de DG con mujeres de la muestra de DT2 encontramos que las frecuencias alélicas entre las mujeres con DT2 y DG son similares. Esto último, apoyaba la idea de que ambas enfermedades podían compartir el mismo fondo genético; sin embargo, las mujeres sin DG tenían las frecuencias más altas (tabla 3.16). Vale la pena mencionar que dado que la edad es un factor de riesgo para desarrollar DT2 y, encontramos que el componente genético no es el mismo en casos jóvenes, utilizamos sólo mujeres con el mismo rango de edad que la muestra de DG en las comparaciones.

Si es que el componente genético era el mismo en DT2 y DG, cabía la posibilidad de que el grupo de controles de DG tuviera más antecedentes familiares de DT2 que los casos; pero una de las observaciones interesantes fue que no hubo diferencias en esta variable entre ambos grupos, de modo que la existencia de un sesgo en la población quedó descartada. Esto no significa que la carga genética heredada no influyera en las frecuencias alélicas, puesto que para la mayoría de las variables sí disminuyeron en las mujeres sin antecedentes tanto en casos como en controles. El número de mujeres sin antecedentes de DT2 es muy bajo, lo que complica la comparación adecuada con el grupo contrario sobre todo en las variantes cuya frecuencia del alelo de riesgo es muy alta (rs10811661 y rs7578597).

Pese a lo anterior, las frecuencias de los alelos de riesgo se mantuvieron más altas o iguales en el grupo de controles, especialmente en los que tienen antecedentes de DT2. Esto sugiere que la carga genética para la DT2, sí puede influir en el desarrollo de la DG; pero adicionalmente, la DG debe tener su propio componente genético. Otro punto a favor de esta idea es que aún estratificando la muestra por antecedentes familiares de DT2, ambos grupos siguen manteniendo diferencias en las mismas variables y son de la misma magnitud. Sólo destaca en el grupo con antecedentes, que los casos terminan el embarazo con un peor estado glucémico, atribuible a la carga genética adicional de DT2.

La evidencia publicada indicaba que las variantes alélicas que confieren riesgo a DT2 podían estar asociadas también con la DG (Cho *et al.*, 2009; Lauenborg *et al.*, 2009; Shaat *et al.*, 2005). Al respecto encontramos que ninguna de las cuatro variantes estudiadas que se asociaron a la DT2 en nuestra población confiere riesgo a DG, por el contrario una de ellas (*KCNJ11*, rs5219) parece conferir protección, alcanzando únicamente la significancia si se consideran casos y controles con antecedentes familiares de DT2. No tenemos explicación biológica para estos resultados, pero es posible que exista interacción con algún otro gen que participe en la DG, que en interacción con el ambiente impuesto por el embarazo sea benéfico, o incluso, que haya variantes alélicas que confieran protección.

Finalmente, pensamos que aunque no se hubieran obtenido resultados significativos en las asociaciones, la distribución de las cargas alélicas nos podían informar sobre la relevancia del componente genético de la DT2 en la DG. El número de variantes estudiadas fue mucho menor a las de la muestra de DT2; sin embargo, la carga genética tampoco explicó la susceptibilidad a la DG. De hecho, la frecuencia de mujeres con más de alelos de riesgo aumenta en los controles de DG con respecto a su grupo de casos y; sucede lo contrario en la muestra de mujeres con DT2. Además, poseer antecedentes familiares o no de DT2, no modificó el patrón de distribuciones (figura 3.6). Tal parece que la carga alélica de la DT2 no es relevante en el desarrollo de la DG, al menos tomando en cuenta las 4 variantes que sí se asociaron a la DT2 en nuestra población.

A diferencia de los estudios de DT2, los reportes de DG son difícilmente comparables, debido a que: 1) los métodos de diagnóstico de la DG son diferentes; 2) las semanas de gestación en que se hizo el diagnóstico son diferentes y 3) los grupos controles no corresponden a un diseño caso-control (uno considera a hombres y mujeres normoglucémicos mayores de 60 años sin antecedentes familiares de DT2, mientras que otro considera mujeres normoglucémicas no embarazadas de edad media) (Cho *et al.*, 2009; Lauenborg *et al.*, 2009). En tales condiciones, es probable que los datos reportados no reflejen el riesgo que confieren dichas variantes alélicas a desarrollar DG, sino el riesgo a la DT2 dado por la carga alélica alta. De hecho, siguiendo ese mismo esquema, utilizamos a las mujeres controles de la muestra de DT2 (normoglucémicas mayores de 45 años sin antecedentes familiares de DT2) y encontramos que la variante del gen *KCNJ11* (rs5219) provoca un aumento de 1.91 veces el riesgo de desarrollar DG.

Como puede observarse el estudio genético de la DG es aún muy preliminar y, la estructura genética de nuestra población lo hace aún más complicado. Estudiar sólo a mujeres con DG sin antecedentes familiares de DT2 no reflejaría el panorama real de nuestra población, donde la prevalencia de esta última es tan alta que encontrar mujeres embarazadas sin antecedentes de DT2 y que además se tenga la certeza de que mantendrán la normoglucemia el resto de su vida, es metodológicamente complicado.

5. CONCLUSIONES

La realización de esta investigación permitió derivar las siguientes conclusiones:

- Es posible identificar subgrupos de pacientes de DT2, distinguibles tanto por sus características clínicas (fenotipo) como por sus características genéticas (genotipo).
- Las variantes alélicas comunes tienen un efecto relativamente modesto en la susceptibilidad a desarrollar DT2 en la población mestiza mexicana.
- Cuatro variantes alélicas que se han corroborado como participantes del componente genético de la DT2 en poblaciones europeas y asiáticas se asociaron en la población mestiza mexicana en general: *KCNJ11* (rs5219), *HHEX/IDE* (rs1111875), *CDKN2A/2B* (rs10811661), *ARHGEF11* (rs945508).
- El riesgo que confiere el gen *ARHGEF11* (rs945508) es mayor en los pacientes diabéticos no obesos.
- Tres variantes alélicas confieren riesgo sólo en algunos subgrupos de DT2: *SLC30A8* (rs13266623) en pacientes diabéticos de inicio temprano, mientras que *IGF2BP2* (rs4402960) y *CDC123/CAMK1D* (rs12779790) en pacientes diabéticos captados de población abierta.
- Algunas de estas variantes alélicas ejercen efectos sobre rasgos propios de la enfermedad.
- Existen interacciones génicas entre pares de variantes que pueden modular el efecto individual de éstas.
- La carga alélica es fundamental en la predisposición de un individuo para desarrollar la enfermedad, pero la magnitud con la cual influye no es la misma en todos los subgrupos de DT2.
- La mayor proporción de los pacientes diabéticos no obesos, los captados de población abierta y los de inicio tardío tienen mayor número de variantes alélicas.
- En población mestiza mexicana, las variantes alélicas de riesgo para DT2 (*KCNJ11*, rs5219; *SLC30A8*, rs13266634; *HHEX/IDE*, rs1111875; *CDKN2A/2B*, rs10811661) no son para DG.
- Tener carga alélica para la DT2 no confiere riesgo a desarrollar DG, pero sí puede tener un efecto adicional adverso en el estado glucémico postparto.

6. PERSPECTIVAS

Los avances en la identificación de los genes implicados en la DT2 han sido muy lentos y, aunque los estudios más recientes (GWAS) han arrojado mucha información, se han enfocado en el análisis de distintas poblaciones caucásicas. La realización del presente trabajo evidenció que pocas de las variantes alélicas comunes confieren riesgo en la población mestiza mexicana y; dado que su contribución no es alta, resalta la necesidad de identificar variantes específicas de nuestra población, cuyo efecto pudiera ser mayor. Debido a que los GWAS se realizan empleando chips de DNA prediseñados con información procedente del *HapMap*, la cual es europea, no sería útil aplicarlos en nuestra población, puesto que no arrojarían información sobre el componente amerindio.

Una estrategia que nos permitiría identificar genes propios de la población mexicana es el mapeo por ligamiento de *admixture* (MALD, *Mapping by Admixture Linkage Disequilibrium*). El *admixture* o mezcla es la generación de segmentos cromosómicos originarios de una u otra población parental, siendo posible saber de cuál proceden mediante el uso de marcadores. El MALD utiliza dicha mezcla para detectar variantes asociadas a una enfermedad si sus frecuencias son diferentes entre las poblaciones parentales. La idea general es buscar a lo largo del genoma de individuos afectados, regiones con alta representatividad de segmentos cromosómicos procedentes de la población parental con la mayor prevalencia de la enfermedad, bajo la premisa de que incluirán los alelos de riesgo (Darvasi *et al.*, 2005; Smith *et al.*, 2005).

No obstante, no todas las poblaciones ni enfermedades reúnen los requisitos para ser analizadas mediante MALD, por ejemplo, la razón riesgo-etnicidad (conferida por una población parental con respecto a la otra), o bien, las características de *admixture* (flujo génico y número de generaciones) (Seldin, 2007). La población mestiza mexicana se originó de la mezcla de ancestría europea, amerindia y africana (50%, 45% y 5%, respectivamente) hace 8.8 ± 1.2 generaciones (Price *et al.*, 2007) y la prevalencia de la DT2 en población amerindia es mucho mayor que en la caucásica, lo cual es apropiado para el análisis. Además, este tipo de análisis resulta mucho más accesible económicamente, pues a diferencia de los GWAS se requieren cientos de veces menos marcadores (2000-3000), siempre y cuando sus frecuencias alélicas sean muy diferentes entre las poblaciones parentales (Smith *et al.*, 2005).

Por otro lado, el estudio de diferentes subgrupos de pacientes diabéticos nos permitió evidenciar la heterogeneidad de la enfermedad. Con nuestros resultados y la evidencia antes publicada podemos concluir que en nuestra población la DT2 representa un conjunto de padecimientos con diferencias fisiológicas y genéticas, por lo que es fundamental abundar en su estudio, puesto que dichas diferencias son las que determinan la susceptibilidad. La posibilidad de

entender los mecanismos fisiológicos que subyacen cada subgrupo de DT2 permitirá identificar a los individuos cuya susceptibilidad está primordialmente dada por la carga genética, o bien, es el factor ambiental el que potencia la evolución de la enfermedad y, eventualmente, tendría implicaciones importantes en la profilaxis y tratamiento más especializado.

La biología de sistemas ofrece una alternativa para entender los mecanismos funcionales mediante los cuales ejercen su efecto las variantes alélicas e incluso es posible explorarlos bajo diferentes condiciones ambientales. Su propósito es construir redes de genes, proteínas o metabolitos que actúan juntos en un propósito común, además de identificar aquellos que están involucrados directamente con una enfermedad (Lusis, 2006). Se pueden realizar tanto en modelos murinos como en líneas celulares, por lo que permiten la manipulación de las condiciones externas. Además, puede involucrar mutaciones dirigidas que esclarezcan el efecto biológico funcional de las variantes alélicas ya identificadas.

Finalmente, ninguna de las cuatro variantes alélicas que se asociaron a la DT2, replicaron en la muestra de DG. De hecho, las frecuencias de los alelos de riesgo fueron mayores o muy similares en los controles. Una variable importante fue la posesión de antecedentes familiares de DT2, más que por la carga genética, por el efecto sinérgico que tenga con el componente genético de la DG. Sin embargo, excluir a las pacientes con antecedentes no reflejaría la verdadera situación de la población mestiza mexicana. Aún cuando no se considere como variable de exclusión, los estudios de asociación de diseño caso-control resultan casi imposibles de realizar para esta enfermedad dada la dificultad para reunir las muestras suficientes

Una de las ventajas del MALD es la posibilidad de estudiar sólo individuos afectados, aunque se pueden usar controles para asegurar que las desviaciones de ancestría sólo ocurren en casos y no en controles (Smith *et al.*, 2005). Esta opción permitiría identificar los genes asociados a la DG sin la complicación de encontrar controles ideales. Dadas las cifras de prevalencia de ambas enfermedades, su crecimiento tan acelerado y las cifras de costos totales por la atención médica, es preciso hacer uso de estrategias multidisciplinarias de modo que se obtenga el mayor conocimiento posible y, en el plazo más corto, puedan establecerse programas de prevención y control más efectivos.

REFERENCIAS

- AGUILAR-SALINAS, C. A., Reyes-Rodriguez, E., Ordonez-Sanchez, M. L., Torres, M. A., Ramirez-Jimenez, S., Dominguez-Lopez, A., Martinez-Francois, J. R., Velasco-Perez, M. L., Alpizar, M., Garcia-Garcia, E., Gomez-Perez, F., Rull, J. Tusie-Luna, M. T. 2001 "Early-Onset Type 2 Diabetes: Metabolic and Genetic Characterization in the Mexican Population". *J Clin Endocrinol Metab* **86**:220-6.
- AGUILAR-SALINAS, C. A., Rojas, R., Gomez-Perez, F. J., Garcia, E., Valles, V., Rios-Torres, J. M., Franco, A., Olaiz, G., Sepulveda, J. Rull, J. A. 2002 "Prevalence and Characteristics of Early-Onset Type 2 Diabetes in Mexico". *Am J Med* **113**:569-74.
- BEN-HAROUSH, A., Yogev, Y. Hod, M. 2004 "Epidemiology of Gestational Diabetes Mellitus and Its Association with Type 2 Diabetes". *Diabet Med* **21**:103-13.
- BIEGANOWSKI, P., Shilinski, K., Tschlis, P. N. Brenner, C. 2004 "Cdc123 and Checkpoint Forkhead Associated with Ring Proteins Control the Cell Cycle by Controlling Eif2gamma Abundance". *J Biol Chem* **279**:44656-66.
- BODMER, W. Bonilla, C. 2008 "Common and Rare Variants in Multifactorial Susceptibility to Common Diseases". *Nat Genet* **40**:695-701.
- BOESGAARD, T. W., Gjesing, A. P., Grarup, N., Rutanen, J., Jansson, P. A., Hribal, M. L., Sesti, G., Fritsche, A., Stefan, N., Staiger, H., Haring, H., Smith, U., Laakso, M., Pedersen, O. Hansen, T. 2009 "Variant near Adamts9 Known to Associate with Type 2 Diabetes Is Related to Insulin Resistance in Offspring of Type 2 Diabetes Patients--Eugene2 Study". *PLoS One* **4**:e7236.
- BOESGAARD, T. W., Zilinskaite, J., Vanttinen, M., Laakso, M., Jansson, P. A., Hammarstedt, A., Smith, U., Stefan, N., Fritsche, A., Haring, H., Hribal, M., Sesti, G., Zobel, D. P., Pedersen, O. Hansen, T. 2008 "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". *Diabetologia* **51**:816-20.
- BOTTCHER, Y., Schleinitz, D., Tonjes, A., Bluher, M., Stumvoll, M. Kovacs, P. 2008 "R1467h Variant in the Rho Guanine Nucleotide Exchange Factor 11 (Arhgef11) Is Associated with Impaired Glucose Tolerance and Type 2 Diabetes in German Caucasians". *J Hum Genet* **53**:365-7.
- BUCHANAN, T. A., Xiang, A., Kjos, S. L. Watanabe, R. 2007 "What Is Gestational Diabetes?" *Diabetes Care* **30 Suppl 2**:S105-11.
- BUCHANAN, T. A. Xiang, A. H. 2005 "Gestational Diabetes Mellitus". *J Clin Invest* **115**:485-91.
- CAUCHI, S., Nead, K. T., Choquet, H., Horber, F., Potoczna, N., Balkau, B., Marre, M., Charpentier, G., Froguel, P. Meyre, D. 2008 "The Genetic Susceptibility to Type 2 Diabetes May Be Modulated by Obesity Status: Implications for Association Studies". *BMC Med Genet* **9**:45.
- COLOMER, J. Means, A. R. 2007 "Physiological Roles of the Ca²⁺/Cam-Dependent Protein Kinase Cascade in Health and Disease". *Subcell Biochem* **45**:169-214.
- CÓRDOVA, J., Lee, M., Hernández, M., Aguilar-Salinas, A., Barriguete-Melendez, J. A., Kuri, P., Lara-Esqueda, A., Álvarez, C., Molina Cuevas, V., Barquera, S., Rosas-Peralta, M., González, A., Sánchez, J., Rosas, J., Rodríguez, G. 2008 Numeralia 2008: Diabetes Mellitus. pp 2166-78. Ed Salud, S. d. México.

- CHAO, W.D'Amore, P. A. 2008 "Igf2: Epigenetic Regulation and Role in Development and Disease". *Cytokine Growth Factor Rev* **19**:111-20.
- CHO, Y. M., Kim, T. H., Lim, S., Choi, S. H., Shin, H. D., Lee, H. K., Park, K. S.Jang, H. C. 2009 "Type 2 Diabetes-Associated Genetic Variants Discovered in the Recent Genome-Wide Association Studies Are Related to Gestational Diabetes Mellitus in the Korean Population". *Diabetologia* **52**:253-61.
- CHRISTIANSEN, J., Kolte, A. M., Hansen, T. O.Nielsen, F. C. 2009 "Igf2 Mrna-Binding Protein 2: Biological Function and Putative Role in Type 2 Diabetes". *J Mol Endocrinol* **43**:187-95.
- DARVASI, A.Shifman, S. 2005 "The Beauty of Admixture". *Nat Genet* **37**:118-9.
- DHAWAN, S., Tschen, S. I.Bhushan, A. 2009 "Bmi-1 Regulates the Ink4a/Arf Locus to Control Pancreatic Beta-Cell Proliferation". *Genes Dev* **23**:906-11.
- "Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus" 2008. *Diabetes Care* **31 Suppl 1**:S55-60.
- DRIESCHNER, N., Kerschling, S., Soller, J. T., Rippe, V., Belge, G., Bullerdiek, J.Nimzyk, R. 2007 "A Domain of the Thyroid Adenoma Associated Gene (Thada) Conserved in Vertebrates Becomes Destroyed by Chromosomal Rearrangements Observed in Thyroid Adenomas". *Gene* **403**:110-7.
- Endocrinología Clínica* 2004. México: El Manual Moderno.
- FLAVELL, D. M., Ireland, H., Stephens, J. W., Hawe, E., Acharya, J., Mather, H., Hurel, S. J.Humphries, S. E. 2005 "Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Alpha Gene Variation Influences Age of Onset and Progression of Type 2 Diabetes". *Diabetes* **54**:582-6.
- FLOREZ, J. C. 2008 "Newly Identified Loci Highlight Beta Cell Dysfunction as a Key Cause of Type 2 Diabetes: Where Are the Insulin Resistance Genes?" *Diabetologia* **51**:1100-10.
- FLOREZ, J. C., Manning, A. K., Dupuis, J., McAteer, J., Irenze, K., Gianniny, L., Mirel, D. B., Fox, C. S., Cupples, L. A.Meigs, J. B. 2007 "A 100k Genome-Wide Association Scan for Diabetes and Related Traits in the Framingham Heart Study: Replication and Integration with Other Genome-Wide Datasets". *Diabetes* **56**:3063-74.
- FRAYLING, T. M., Colhoun, H.Florez, J. C. 2008 "A Genetic Link between Type 2 Diabetes and Prostate Cancer". *Diabetologia* **51**:1757-60.
- FRAYLING, T. M., Wiltshire, S., Hitman, G. A., Walker, M., Levy, J. C., Sampson, M., Groves, C. J., Menzel, S., McCarthy, M. I.Hattersley, A. T. 2003 "Young-Onset Type 2 Diabetes Families Are the Major Contributors to Genetic Loci in the Diabetes Uk Warren 2 Genome Scan and Identify Putative Novel Loci on Chromosomes 8q21, 21q22, and 22q11". *Diabetes* **52**:1857-63.
- FREATHY, R. M., Bennett, A. J., Ring, S. M., Shields, B., Groves, C. J., Timpson, N. J., Weedon, M. N., Zeggini, E., Lindgren, C. M., Lango, H., Perry, J. R., Pouta, A., Ruukonen, A., Hypponen, E., Power, C., Elliott, P., Strachan, D. P., Jarvelin, M. R., Smith, G. D., McCarthy, M. I., Frayling, T. M.Hattersley, A. T. 2009 "Type 2 Diabetes Risk Alleles Are Associated with Reduced Size at Birth". *Diabetes* **58**:1428-33.
- FREEMAN, H.Cox, R. D. 2006 "Type-2 Diabetes: A Cocktail of Genetic Discovery". *Hum Mol Genet* **15 Spec No 2**:R202-9.

- FU, M., Sabra, M. M., Damcott, C., Pollin, T. I., Ma, L., Ott, S., Shelton, J. C., Shi, X., Reinhart, L., O'Connell, J., Mitchell, B. D., Baier, L. J., Shuldiner, A. R. 2007 "Evidence That Rho Guanine Nucleotide Exchange Factor 11 (Arhgef11) on 1q21 Is a Type 2 Diabetes Susceptibility Gene in the Old Order Amish". *Diabetes* **56**:1363-8.
- FU, Y., Tian, W., Pratt, E. B., Dirling, L. B., Shyng, S. L., Meshul, C. K., Cohen, D. M. 2009 "Down-Regulation of Znt8 Expression in Ins-1 Rat Pancreatic Beta Cells Reduces Insulin Content and Glucose-Inducible Insulin Secretion". *PLoS One* **4**:e5679.
- GARCIA-GARCIA, E., Aguilar-Salinas, C. A., Tusie-Luna, T., Rull-Rodrigo, J. A. 2002 "Early-Onset Type 2 Diabetes in Mexico". *Isr Med Assoc J* **4**:444-8.
- GRARUP, N., Andersen, G., Krarup, N. T., Albrechtsen, A., Schmitz, O., Jorgensen, T., Borch-Johnsen, K., Hansen, T., Pedersen, O. 2008 "Association Testing of Novel Type 2 Diabetes Risk Alleles in the Jazf1, Cdc123/Camk1d, Tspan8, Thada, Adamts9, and Notch2 Loci with Insulin Release, Insulin Sensitivity, and Obesity in a Population-Based Sample of 4,516 Glucose-Tolerant Middle-Aged Danes". *Diabetes* **57**:2534-40.
- HAEGEBARTH, A., Clevers, H. 2009 "Wnt Signaling, Lgr5, and Stem Cells in the Intestine and Skin". *Am J Pathol* **174**:715-21.
- HANSON, R. L., Bogardus, C., Duggan, D., Kobes, S., Knowlton, M., Infante, A. M., Marovich, L., Benitez, D., Baier, L. J., Knowler, W. C. 2007 "A Search for Variants Associated with Young-Onset Type 2 Diabetes in American Indians in a 100k Genotyping Array". *Diabetes* **56**:3045-52.
- HAUPT, A., Staiger, H., Schafer, S. A., Kirchhoff, K., Guthoff, M., Machicao, F., Gallwitz, B., Stefan, N., Haring, H., Fritsche, A. 2009 "The Risk Allele Load Accelerates the Age-Dependent Decline in Beta Cell Function". *Diabetologia* **52**:457-62.
- HAYES, M. G., Pluzhnikov, A., Miyake, K., Sun, Y., Ng, M. C., Roe, C. A., Below, J. E., Nicolae, R. I., Konkashbaev, A., Bell, G. I., Cox, N. J., Hanis, C. L. 2007 "Identification of Type 2 Diabetes Genes in Mexican Americans through Genome-Wide Association Studies". *Diabetes* **56**:3033-44.
- HILLIER, T. A., Pedula, K. L. 2001 "Characteristics of an Adult Population with Newly Diagnosed Type 2 Diabetes: The Relation of Obesity and Age of Onset". *Diabetes Care* **24**:1522-7.
- HILLIER, T. A., Pedula, K. L. 2003 "Complications in Young Adults with Early-Onset Type 2 Diabetes: Losing the Relative Protection of Youth". *Diabetes Care* **26**:2999-3005.
- HIRIART, M., Aguilar-Bryan, L. 2008 "Channel Regulation of Glucose Sensing in the Pancreatic Beta-Cell". *Am J Physiol Endocrinol Metab* **295**:E1298-306.
- HORIKOSHI, M., Hara, K., Ito, C., Shojima, N., Nagai, R., Ueki, K., Froguel, P., Kadowaki, T. 2007 "Variations in the Hhex Gene Are Associated with Increased Risk of Type 2 Diabetes in the Japanese Population". *Diabetologia* **50**:2461-6.
- HUNTER, M. P., Wilson, C. M., Jiang, X., Cong, R., Vasavada, H., Kaestner, K. H., Bogue, C. W. 2007 "The Homeobox Gene Hhex Is Essential for Proper Hepatoblast Differentiation and Bile Duct Morphogenesis". *Dev Biol* **308**:355-67.
- INEGI 2002 Estadísticas De Mortalidad En México: Muertes Registradas En El Año 2000. In *Indicadores*, pp 266-82. Ed México, S. P. d. México.
- KIM, E., Xie, S., Yeh, S. D., Lee, Y. F., Collins, L. L., Hu, Y. C., Shyr, C. R., Mu, X. M., Liu, N. C., Chen, Y. T., Wang, P. H., Chang, C. 2003 "Disruption of Tr4 Orphan Nuclear Receptor

- Reduces the Expression of Liver Apolipoprotein E/C-I/C-II Gene Cluster". *J Biol Chem* **278**:46919-26.
- KIM, W. Y. Sharpless, N. E. 2006 "The Regulation of Ink4/Arf in Cancer and Aging". *Cell* **127**:265-75.
- KIRCHHOFF, K., Machicao, F., Haupt, A., Schafer, S. A., Tschritter, O., Staiger, H., Stefan, N., Haring, H. U. Fritsche, A. 2008 "Polymorphisms in the Tcf7l2, Cdkal1 and Slc30a8 Genes Are Associated with Impaired Proinsulin Conversion". *Diabetologia* **51**:597-601.
- KRAFT, P., Wacholder, S., Cornelis, M. C., Hu, F. B., Hayes, R. B., Thomas, G., Hoover, R., Hunter, D. J. Chanock, S. 2009 "Beyond Odds Ratios--Communicating Disease Risk Based on Genetic Profiles". *Nat Rev Genet* **10**:264-9.
- LANGO, H., Palmer, C. N., Morris, A. D., Zeggini, E., Hattersley, A. T., McCarthy, M. I., Frayling, T. M. Weedon, M. N. 2008 "Assessing the Combined Impact of 18 Common Genetic Variants of Modest Effect Sizes on Type 2 Diabetes Risk". *Diabetes* **57**:3129-35.
- LAUENBORG, J., Grarup, N., Damm, P., Borch-Johnsen, K., Jorgensen, T., Pedersen, O. Hansen, T. 2009 "Common Type 2 Diabetes Risk Gene Variants Associate with Gestational Diabetes". *J Clin Endocrinol Metab* **94**:145-50.
- LEMAIRE, K., Ravier, M. A., Schraenen, A., Creemers, J. W., Van de Plas, R., Granvik, M., Van Lommel, L., Waelkens, E., Chimienti, F., Rutter, G. A., Gilon, P., in't Veld, P. A. Schuit, F. C. 2009 "Insulin Crystallization Depends on Zinc Transporter Znt8 Expression, but Is Not Required for Normal Glucose Homeostasis in Mice". *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**:14872-7.
- LISTENBERGER, L. L., Han, X., Lewis, S. E., Cases, S., Farese, R. V., Jr., Ory, D. S. Schaffer, J. E. 2003 "Triglyceride Accumulation Protects against Fatty Acid-Induced Lipotoxicity". *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**:3077-82.
- Lusis, A. J. 2006 "A Thematic Review Series: Systems Biology Approaches to Metabolic and Cardiovascular Disorders". *J Lipid Res* **47**:1887-90.
- MA, L., Hanson, R. L., Que, L. N., Cali, A. M., Fu, M., Mack, J. L., Infante, A. M., Kobes, S., Bogardus, C., Shuldiner, A. R. Baier, L. J. 2007 "Variants in Arhgef11, a Candidate Gene for the Linkage to Type 2 Diabetes on Chromosome 1q, Are Nominally Associated with Insulin Resistance and Type 2 Diabetes in Pima Indians". *Diabetes* **56**:1454-9.
- MOORE, J. H., Gilbert, J. C., Tsai, C. T., Chiang, F. T., Holden, T., Barney, N. White, B. C. 2006 "A Flexible Computational Framework for Detecting, Characterizing, and Interpreting Statistical Patterns of Epistasis in Genetic Studies of Human Disease Susceptibility". *J Theor Biol* **241**:252-61.
- NG, M. C., Park, K. S., Oh, B., Tam, C. H., Cho, Y. M., Shin, H. D., Lam, V. K., Ma, R. C., So, W. Y., Cho, Y. S., Kim, H. L., Lee, H. K., Chan, J. C. Cho, N. H. 2008 "Implication of Genetic Variants near Tcf7l2, Slc30a8, Hhex, Cdkal1, Cdkn2a/B, Igf2bp2, and Fto in Type 2 Diabetes and Obesity in 6,719 Asians". *Diabetes* **57**:2226-33.
- OLAIZ, G., Rivera, J., Shamah, T., Rojas, R., Villalpando, S., Hernández, M., Sepúlveda, J. 2006 Encuesta Nacional De Salud Y Nutrición 2006. Cuernavaca, Morelos: Instituto Nacional de Salud Pública.
- OLAIZ, G., Rojas, R., Barquera, S., Shamah, T., Aguilar Salinas, C. A., Cravioto, P., López, M., Hernández, M., Tapia, R., Sepúlveda, J. 2000 Encuesta Nacional De Salud 2000. México: Instituto Nacional de Salud Pública.

- OMORI, S., Tanaka, Y., Horikoshi, M., Takahashi, A., Hara, K., Hirose, H., Kashiwagi, A., Kaku, K., Kawamori, R., Kadowaki, T., Nakamura, Y., Maeda, S. 2009 "Replication Study for the Association of New Meta-Analysis-Derived Risk Loci with Susceptibility to Type 2 Diabetes in 6,244 Japanese Individuals". *Diabetologia* **52**:1554-60.
- ONISTO, M., Zeilante, P., Scannapieco, P., Pellati, D., Pozza, M., Caenazzo, C., Negro, A., Garbisa, S. 1998 "Expression Study on D123 Gene Product: Evidence for High Positivity in Testis". *Exp Cell Res* **242**:451-9.
- PARRA, E. J., Cameron, E., Simmonds, L., Valladares, A., McKeigue, P., Shriver, M., Wachter, N., Kumate, J., Kittles, R., Cruz, M. 2007 "Association of Tcf7l2 Polymorphisms with Type 2 Diabetes in Mexico City". *Clin Genet* **71**:359-66.
- PERMUTT, M. A., Wasson, J., Cox, N. 2005 "Genetic Epidemiology of Diabetes". *J Clin Invest* **115**:1431-9.
- PERRY, J. R., Frayling, T. M. 2008 "New Gene Variants Alter Type 2 Diabetes Risk Predominantly through Reduced Beta-Cell Function". *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* **11**:371-7.
- PIVOVAROVA, O., Gogebakan, O., Pfeiffer, A. F., Rudovich, N. 2009a "Glucose Inhibits the Insulin-Induced Activation of the Insulin-Degrading Enzyme in Hepg2 Cells". *Diabetologia* **52**:1656-64.
- PIVOVAROVA, O., Nikiforova, V. J., Pfeiffer, A. F., Rudovich, N. 2009b "The Influence of Genetic Variations in Hhex Gene on Insulin Metabolism in the German Mesybeho Cohort". *Diabetes Metab Res Rev* **25**:156-62.
- POITOUT, V., Amyot, J., Semache, M., Zarrouki, B., Hagman, D., Fontes, G. 2009 "Glucolipotoxicity of the Pancreatic Beta Cell". *Biochim Biophys Acta*.
- PORTERFIELD, S., White, B. 2007 *Endocrine Physiology*. EUA: Elsevier.
- PRICE, A. L., Patterson, N., Yu, F., Cox, D. R., Waliszewska, A., McDonald, G. J., Tandon, A., Schirmer, C., Neubauer, J., Bedoya, G., Duque, C., Villegas, A., Bortolini, M. C., Salzano, F. M., Gallo, C., Mazzotti, G., Tello-Ruiz, M., Riba, L., Aguilar-Salinas, C. A., Canizales-Quinteros, S., Menjivar, M., Klitz, W., Henderson, B., Haiman, C. A., Winkler, C., Tusie-Luna, T., Ruiz-Linares, A., Reich, D. 2007 "A Genomewide Admixture Map for Latino Populations". *Am J Hum Genet* **80**:1024-36.
- PROKOPENKO, I., McCarthy, M. I., Lindgren, C. M. 2008 "Type 2 Diabetes: New Genes, New Understanding". *Trends Genet* **24**:613-21.
- RAMÍREZ, M. 2005 "Diabetes Mellitus Gestacional. Experiencia En Una Institución De Tercer Nivel De Atención." *Ginecol Obstet Mex* **73**:489-91.
- RAMPERSAUD, E., Damcott, C. M., Fu, M., Shen, H., McArdle, P., Shi, X., Shelton, J., Yin, J., Chang, Y. P., Ott, S. H., Zhang, L., Zhao, Y., Mitchell, B. D., O'Connell, J., Shuldiner, A. R. 2007 "Identification of Novel Candidate Genes for Type 2 Diabetes from a Genome-Wide Association Scan in the Old Order Amish: Evidence for Replication from Diabetes-Related Quantitative Traits and from Independent Populations". *Diabetes* **56**:3053-62.
- RIEDEL, M. J., Steckley, D. C., Light, P. E. 2005 "Current Status of the E23k Kir6.2 Polymorphism: Implications for Type-2 Diabetes". *Hum Genet* **116**:133-45.

- ROOMAN, I., De Medts, N., Baeyens, L., Lardon, J., De Breuck, S., Heimberg, H., Bouwens, L. 2006 "Expression of the Notch Signaling Pathway and Effect on Exocrine Cell Proliferation in Adult Rat Pancreas". *Am J Pathol* **169**:1206-14.
- SALONEN, J. T., Uimari, P., Aalto, J. M., Pirskanen, M., Kaikkonen, J., Todorova, B., Hypponen, J., Korhonen, V. P., Asikainen, J., Devine, C., Tuomainen, T. P., Luedemann, J., Nauck, M., Kerner, W., Stephens, R. H., New, J. P., Ollier, W. E., Gibson, J. M., Payton, A., Horan, M. A., Pendleton, N., Mahoney, W., Meyre, D., Delplanque, J., Froguel, P., Luzzatto, O., Yakir, B., Darvasi, A. 2007 "Type 2 Diabetes Whole-Genome Association Study in Four Populations: The Diagen Consortium". *Am J Hum Genet* **81**:338-45.
- SALUD, S. d. 2008 "Numeralia 2008: Diabetes Mellitus" **X**:2166-78.
- SAXENA, R., Voight, B. F., Lyssenko, V., Burt, N. P., de Bakker, P. I., Chen, H., Roix, J. J., Kathiresan, S., Hirschhorn, J. N., Daly, M. J., Hughes, T. E., Groop, L., Altshuler, D., Almgren, P., Florez, J. C., Meyer, J., Ardlie, K., Bengtsson Bostrom, K., Isomaa, B., Lette, G., Lindblad, U., Lyon, H. N., Melander, O., Newton-Cheh, C., Nilsson, P., Orho-Melander, M., Rastam, L., Speliotes, E. K., Taskinen, M. R., Tuomi, T., Guiducci, C., Berglund, A., Carlson, J., Gianniny, L., Hackett, R., Hall, L., Holmkvist, J., Laurila, E., Sjogren, M., Sterner, M., Surti, A., Svensson, M., Tewhey, R., Blumenstiel, B., Parkin, M., Defelice, M., Barry, R., Brodeur, W., Camarata, J., Chia, N., Fava, M., Gibbons, J., Handsaker, B., Healy, C., Nguyen, K., Gates, C., Sougnez, C., Gage, D., Nizzari, M., Gabriel, S. B., Chirn, G. W., Ma, Q., Parikh, H., Richardson, D., Ricke, D., Purcell, S. 2007 "Genome-Wide Association Analysis Identifies Loci for Type 2 Diabetes and Triglyceride Levels". *Science* **316**:1331-6.
- SCOTT, L. J., Mohlke, K. L., Bonnycastle, L. L., Willer, C. J., Li, Y., Duren, W. L., Erdos, M. R., Stringham, H. M., Chines, P. S., Jackson, A. U., Prokunina-Olsson, L., Ding, C. J., Swift, A. J., Narisu, N., Hu, T., Pruim, R., Xiao, R., Li, X. Y., Conneely, K. N., Riebow, N. L., Sprau, A. G., Tong, M., White, P. P., Hetrick, K. N., Barnhart, M. W., Bark, C. W., Goldstein, J. L., Watkins, L., Xiang, F., Saramies, J., Buchanan, T. A., Watanabe, R. M., Valle, T. T., Kinnunen, L., Abecasis, G. R., Pugh, E. W., Doheny, K. F., Bergman, R. N., Tuomilehto, J., Collins, F. S., Boehnke, M. 2007 "A Genome-Wide Association Study of Type 2 Diabetes in Finns Detects Multiple Susceptibility Variants". *Science* **316**:1341-5.
- SELDIN, M. F. 2007 "Admixture Mapping as a Tool in Gene Discovery". *Curr Opin Genet Dev* **17**:177-81.
- SHAAT, N., Ekelund, M., Lernmark, A., Ivarsson, S., Almgren, P., Berntorp, K., Groop, L. 2005 "Association of the E23k Polymorphism in the Kcnj11 Gene with Gestational Diabetes Mellitus". *Diabetologia* **48**:2544-51.
- SHAAT, N., Groop, L. 2007 "Genetics of Gestational Diabetes Mellitus". *Curr Med Chem* **14**:569-83.
- SIMONIS-BIK, A. M., Nijpels, G., van Haften, T. W., Houwing-Duistermaat, J. J., Boomsma, D. I., Reiling, E., van Hove, E. C., Diamant, M., Kramer, M. H., Heine, R. J., Maassen, J. A., Slagboom, P. E., Willemsen, G., Dekker, J. M., Eekhoff, E. M., de Geus, E. J., Hart, L. M. "Gene Variants in the Novel Type 2 Diabetes Loci Cdc123/Camk1d, Thada, Adamts9, Bcl11a, and Mtnr1b Affect Different Aspects of Pancreatic Beta-Cell Function". *Diabetes* **59**:293-301.
- SLADEK, R., Rocheleau, G., Rung, J., Dina, C., Shen, L., Serre, D., Boutin, P., Vincent, D., Belisle, A., Hadjadj, S., Balkau, B., Heude, B., Charpentier, G., Hudson, T. J., Montpetit, A., Pshzhetsky, A. V., Prentki, M., Posner, B. I., Balding, D. J., Meyre, D., Polychronakos, C., Froguel, P. 2007 "A Genome-Wide Association Study Identifies Novel Risk Loci for Type 2 Diabetes". *Nature* **445**:881-5.

- SMITH, M. W.O'Brien, S. J. 2005 "Mapping by Admixture Linkage Disequilibrium: Advances, Limitations and Guidelines". *Nat Rev Genet* **6**:623-32.
- SODERLING, T. R. 1999 "The Ca-Calmodulin-Dependent Protein Kinase Cascade". *Trends Biochem Sci* **24**:232-6.
- STAIGER, H., Machicao, F., Stefan, N., Tschritter, O., Thamer, C., Kantartzis, K., Schafer, S. A., Kirchhoff, K., Fritsche, A.Haring, H. U. 2007 "Polymorphisms within Novel Risk Loci for Type 2 Diabetes Determine Beta-Cell Function". *PLoS One* **2**:e832.
- "Standards of Medical Care in Diabetes" 2007. *Diabetes Care* **30 Suppl 1**:S4-S41.
- STEINTHORSDOTTIR, V., Thorleifsson, G., Reynisdottir, I., Benediktsson, R., Jonsdottir, T., Walters, G. B., Styrkarsdottir, U., Gretarsdottir, S., Emilsson, V., Ghosh, S., Baker, A., Snorraddottir, S., Bjarnason, H., Ng, M. C., Hansen, T., Bagger, Y., Wilensky, R. L., Reilly, M. P., Adeyemo, A., Chen, Y., Zhou, J., Gudnason, V., Chen, G., Huang, H., Lashley, K., Doumatey, A., So, W. Y., Ma, R. C., Andersen, G., Borch-Johnsen, K., Jorgensen, T., van Vliet-Ostaptchouk, J. V., Hofker, M. H., Wijmenga, C., Christiansen, C., Rader, D. J., Rotimi, C., Gurney, M., Chan, J. C., Pedersen, O., Sigurdsson, G., Gulcher, J. R., Thorsteinsdottir, U., Kong, A.Stefansson, K. 2007 "A Variant in Cdkal1 Influences Insulin Response and Risk of Type 2 Diabetes". *Nat Genet* **39**:770-5.
- STUMVOLL, M., Goldstein, B. J.van Haeften, T. W. 2008 "Type 2 Diabetes: Pathogenesis and Treatment". *Lancet* **371**:2153-6.
- TORGERSEN, K. L.Curran, C. A. 2006 "A Systematic Approach to the Physiologic Adaptations of Pregnancy". *Crit Care Nurs Q* **29**:2-19.
- UBEDA, M., Rukstalis, J. M.Habener, J. F. 2006 "Inhibition of Cyclin-Dependent Kinase 5 Activity Protects Pancreatic Beta Cells from Glucotoxicity". *J Biol Chem* **281**:28858-64.
- UNOKI, H., Takahashi, A., Kawaguchi, T., Hara, K., Horikoshi, M., Andersen, G., Ng, D. P., Holmkvist, J., Borch-Johnsen, K., Jorgensen, T., Sandbaek, A., Lauritzen, T., Hansen, T., Nurbaya, S., Tsunoda, T., Kubo, M., Babazono, T., Hirose, H., Hayashi, M., Iwamoto, Y., Kashiwagi, A., Kaku, K., Kawamori, R., Tai, E. S., Pedersen, O., Kamatani, N., Kadowaki, T., Kikkawa, R., Nakamura, Y.Maeda, S. 2008 "Snps in Kcnq1 Are Associated with Susceptibility to Type 2 Diabetes in East Asian and European Populations". *Nat Genet* **40**:1098-102.
- VAMBERGUE, A., Valat, A. S., Dufour, P., Cazaubiel, M., Fontaine, P.Puech, F. 2002 "[Pathophysiology of Gestational Diabetes]". *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)* **31**:4S3-4S10.
- VAN HOEK, M., Langendonk, J. G., de Rooij, S. R., Sijbrands, E. J.Roseboom, T. J. 2009 "Genetic Variant in the Igf2bp2 Gene May Interact with Fetal Malnutrition to Affect Glucose Metabolism". *Diabetes* **58**:1440-4.
- VILLAREAL, D. T., Koster, J. C., Robertson, H., Akrouh, A., Miyake, K., Bell, G. I., Patterson, B. W., Nichols, C. G.Polonsky, K. S. 2009 "Kir6.2 Variant E23k Increases Atp-Sensitive K+ Channel Activity and Is Associated with Impaired Insulin Release and Enhanced Insulin Sensitivity in Adults with Normal Glucose Tolerance". *Diabetes* **58**:1869-78.
- VILLARREAL-MOLINA, M. T., Aguilar-Salinas, C. A., Rodriguez-Cruz, M., Riano, D., Villalobos-Comaran, M., Coral-Vazquez, R., Menjivar, M., Yescas-Gomez, P., Konigsoerg-Fainstein, M., Romero-Hidalgo, S., Tusie-Luna, M. T.Canizales-Quinteros, S. 2007 "The Atp-Binding Cassette Transporter A1 R230c Variant Affects Hdl Cholesterol Levels and Bmi in the

Mexican Population: Association with Obesity and Obesity-Related Comorbidities". *Diabetes* **56**:1881-7.

- VILLARREAL-MOLINA, M. T., Flores-Dorantes, M. T., Arellano-Campos, O., Villalobos-Comparan, M., Rodriguez-Cruz, M., Miliar-Garcia, A., Huertas-Vazquez, A., Menjivar, M., Romero-Hidalgo, S., Wacher, N. H., Tusie-Luna, M. T., Cruz, M., Aguilar-Salinas, C. A. Canizales-Quinteros, S. 2008 "Association of the Atp-Binding Cassette Transporter A1 R230c Variant with Early-Onset Type 2 Diabetes in a Mexican Population". *Diabetes* **57**:509-13.
- WAN, J., Jiang, X., Bai, J., Shen, D. Wang, T. 2009 "The Effects of E23k Polymorphism in Kir6.2 Subunit on Insulin Sensitivity in Skeletal Muscle Cells by Long-Chain Fatty Acyl Coa". *Biochem Biophys Res Commun* **381**:496-501.
- WEI, F. Y., Nagashima, K., Ohshima, T., Saheki, Y., Lu, Y. F., Matsushita, M., Yamada, Y., Mikoshiba, K., Seino, Y., Matsui, H. Tomizawa, K. 2005 "Cdk5-Dependent Regulation of Glucose-Stimulated Insulin Secretion". *Nat Med* **11**:1104-8.
- XIE, S., Lee, Y. F., Kim, E., Chen, L. M., Ni, J., Fang, L. Y., Liu, S., Lin, S. J., Abe, J., Berk, B., Ho, F. M. Chang, C. 2009 "Tr4 Nuclear Receptor Functions as a Fatty Acid Sensor to Modulate Cd36 Expression and Foam Cell Formation". *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**:13353-8.
- YASUDA, K., Miyake, K., Horikawa, Y., Hara, K., Osawa, H., Furuta, H., Hirota, Y., Mori, H., Jonsson, A., Sato, Y., Yamagata, K., Hinokio, Y., Wang, H. Y., Tanahashi, T., Nakamura, N., Oka, Y., Iwasaki, N., Iwamoto, Y., Yamada, Y., Seino, Y., Maegawa, H., Kashiwagi, A., Takeda, J., Maeda, E., Shin, H. D., Cho, Y. M., Park, K. S., Lee, H. K., Ng, M. C., Ma, R. C., So, W. Y., Chan, J. C., Lyssenko, V., Tuomi, T., Nilsson, P., Groop, L., Kamatani, N., Sekine, A., Nakamura, Y., Yamamoto, K., Yoshida, T., Tokunaga, K., Itakura, M., Makino, H., Nanjo, K., Kadowaki, T. Kasuga, M. 2008 "Variants in Kcnq1 Are Associated with Susceptibility to Type 2 Diabetes Mellitus". *Nat Genet* **40**:1092-7.
- ZEGGINI, E., Scott, L. J., Saxena, R., Voight, B. F., Marchini, J. L., Hu, T., de Bakker, P. I., Abecasis, G. R., Almgren, P., Andersen, G., Ardlie, K., Bostrom, K. B., Bergman, R. N., Bonnycastle, L. L., Borch-Johnsen, K., Burt, N. P., Chen, H., Chines, P. S., Daly, M. J., Deodhar, P., Ding, C. J., Doney, A. S., Duren, W. L., Elliott, K. S., Erdos, M. R., Frayling, T. M., Freathy, R. M., Gianniny, L., Grallert, H., Grarup, N., Groves, C. J., Guiducci, C., Hansen, T., Herder, C., Hitman, G. A., Hughes, T. E., Isomaa, B., Jackson, A. U., Jorgensen, T., Kong, A., Kubalanza, K., Kuruvilla, F. G., Kuusisto, J., Langenberg, C., Lango, H., Lauritzen, T., Li, Y., Lindgren, C. M., Lyssenko, V., Marville, A. F., Meisinger, C., Midtjell, K., Mohlke, K. L., Morken, M. A., Morris, A. D., Narisu, N., Nilsson, P., Owen, K. R., Palmer, C. N., Payne, F., Perry, J. R., Pettersen, E., Platou, C., Prokopenko, I., Qi, L., Qin, L., Rayner, N. W., Rees, M., Roix, J. J., Sandbaek, A., Shields, B., Sjogren, M., Steinthorsdottir, V., Stringham, H. M., Swift, A. J., Thorleifsson, G., Thorsteinsdottir, U., Timpson, N. J., Tuomi, T., Tuomilehto, J., Walker, M., Watanabe, R. M., Weedon, M. N., Willer, C. J., Illig, T., Hveem, K., Hu, F. B., Laakso, M., Stefansson, K., Pedersen, O., Wareham, N. J., Barroso, I., Hattersley, A. T., Collins, F. S., Groop, L., McCarthy, M. I., Boehnke, M. Altshuler, D. 2008 "Meta-Analysis of Genome-Wide Association Data and Large-Scale Replication Identifies Additional Susceptibility Loci for Type 2 Diabetes". *Nat Genet* **40**:638-45.
- ZEGGINI, E., Weedon, M. N., Lindgren, C. M., Frayling, T. M., Elliott, K. S., Lango, H., Timpson, N. J., Perry, J. R., Rayner, N. W., Freathy, R. M., Barrett, J. C., Shields, B., Morris, A. P., Ellard, S., Groves, C. J., Harries, L. W., Marchini, J. L., Owen, K. R., Knight, B., Cardon, L. R., Walker, M., Hitman, G. A., Morris, A. D., Doney, A. S., McCarthy, M. I. Hattersley, A. T. 2007 "Replication of Genome-Wide Association Signals in Uk Samples Reveals Risk Loci for Type 2 Diabetes". *Science* **316**:1336-41.
- ZOLLER, M. 2009 "Tetraspanins: Push and Pull in Suppressing and Promoting Metastasis". *Nat Rev Cancer* **9**:40-55.

GLOSARIO

Curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*): es una representación gráfica de la sensibilidad (verdaderos positivos/enfermos) frente a 1-especificidad (falsos positivos) y, sirve para determinar un resultado positivo o negativo de una prueba. El área bajo la curva ROC provee una medida de la habilidad discriminativa de un modelo logístico. Si el área = 0.5, el modelo no es discriminativo; si $0.5 < \text{área} < 0.7$, el modelo tiene una pobre discriminación; si $0.7 < \text{área} < 0.8$, el modelo tiene una discriminación aceptable; si $0.8 < \text{área} < 0.9$, el modelo tiene una discriminación excelente y; si el área ≥ 0.9 , el modelo tiene una discriminación excepcional.

Desequilibrio de ligamiento (LD, *Linkage Disequilibrium*): es la asociación no al azar entre alelos ubicados en diferentes *loci* en una población debido a su tendencia a ser coheredados, como resultado de una baja recombinación entre ellos. Se dice que hay desequilibrio de ligamiento cuando dos alelos se encuentran juntos más frecuentemente de lo que ocurriría si segregaran al azar. Hay varias medidas que permiten evaluar el LD. Por ejemplo, la r^2 es el cuadrado de la correlación entre los dos *loci*. Una r^2 de 1 indica un desequilibrio de ligamiento perfecto; esto es, los alelos no han sido separados por la segregación y tienen la misma frecuencia.

Equilibrio de Hardy-Weinberg: se deriva del principio de Hardy-Weinberg, el cual postula que la proporción de cada genotipo en una siguiente generación es: $AA = p^2, Aa = 2pq, aa = q^2$. Si las proporciones genotípicas en la generación subsecuente se calculan de dicha forma y no hay diferencias significativas con respecto a las parentales, se dice que no está ocurriendo evolución (no hay cambios en las frecuencias alélicas) y, que la población está en equilibrio de Hardy-Weinberg. En caso de que no se cumpla, se sospecha que algún factor que cambie las frecuencias está operando en la población; por ejemplo, selección, mutación o migración.

HapMap: es un catálogo de variantes genéticas comunes que están presentes en el genoma de los humanos. Hace una descripción de cuáles son las variantes, su posición en el DNA y su frecuencia en diferentes poblaciones del mundo. A partir de dicho catálogo se ha desarrollado un proyecto internacional cuyo propósito es comparar las secuencias genéticas de diferentes individuos para identificar regiones cromosómicas donde se comparten variantes genéticas. La información obtenida es pública y pretende ayudar a identificar genes involucrados en enfermedades, así como en las respuestas individuales a medicamentos y factores ambientales. Considera información genética de poblaciones con ancestría africana, asiática y europea. Este proyecto es una colaboración entre científicos de Japón, Inglaterra, Canadá, China, Nigeria y los Estados Unidos.

Poder estadístico: es la probabilidad de que se rechazará la hipótesis nula de una prueba cuando ésta es falsa ($Poder = 1 - \beta$). β es la probabilidad de cometer error tipo II; esto es, no rechazar una hipótesis nula falsa y, depende de varios factores, por ejemplo, el tamaño de la muestra.

Prevalencia de una enfermedad: es la proporción de individuos que presentan una enfermedad (casos) en una población y en un determinado momento.

Prevalencia = número de casos existentes/número total de individuos en la población.

Probabilidad de riesgo: proporciona una estimación del riesgo de que suceda un evento en presencia de una exposición. Es una transformación del OR a partir de la fórmula:

$Probabilidad = \frac{OR}{OR+1}$ En caso de que el OR=1, la probabilidad es del 50%; es decir, existen las mismas posibilidades de que el evento ocurra estando o no la variable de exposición.

Razón de momios (OR, Odds Ratio): es una medida del tamaño del efecto, ampliamente utilizada en los estudios epidemiológicos. Es el cociente entre la probabilidad de que un evento suceda y la probabilidad de que no suceda. ($OR = \frac{a/c}{b/d}$, donde $a =$ casos expuestos, $b =$ controles expuestos, $c =$ casos no expuestos, $d =$ controles no expuestos). Si el OR=1, significa que la cantidad de veces que un evento ocurra ante la presencia de la variable de exposición será la misma a la cantidad que ocurra cuando no esté presente. Si el OR=2.5, significa que ante la exposición, el evento aparecerá 2.5 veces más que en ausencia de la exposición.

Tasa de genotipificación: cuando una prueba de genotipificación no pasa en puntaje de detección, se considera como no válida. La tasa de genotipificación global de una muestra es el porcentaje del número de muestras con una genotipificación considerada válida, con respecto al número de muestras totales analizadas.

Variable confusora: es una variable que se asocia causalmente con el desenlace (enfermedad) y puede estar asociada causalmente o con la exposición, pero no es una variable intermediaria en el camino causal entre la exposición y el desenlace.

APÉNDICE I. Cuestionarios y hojas de consentimientos

I.1. Muestra de DT2

INVESTIGACIÓN GENÓMICA EN DIABETES MELLITUS TIPO 2 EN UNA MUESTRA DE LA POBLACIÓN MEXICANA

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Nombre: _____ Fecha: _____ Registro: _____
 Dirección: _____ Teléfono: _____ Edad: _____ Sexo: _____
 Ocupación: _____ Fecha nacimiento: _____ Edad dx DT2: _____

ANTECEDENTES FAMILIARES

Diabetes:	SI NO	Tipo:	DM1 DM2 MODY	HTA:	SI NO	Cardiopatía Isquémica:	SI NO
Enfermedad Vascular Cerebral:	SI NO			Pancreatitis:			SI NO

ANTECEDENTES PERSONALES

Tabaquismo:	SI NO	Alcoholismo:	SI NO	HTA:	SI NO	Tx:	SI NO
IECA	β-bloqueador	Ca-antagonista	Diurético	α-bloqueador		ATI	
Tx hormonal:	SI NO	Tipo _____		Pancreatitis:	SI NO	Tipo: _____	
Cardiopatía Isquémica:	SI NO	Tx: _____				Bypass coronario:	SI NO
Cx carotídea:	SI NO	EVC:	SI NO	EVP:	SI NO	Cirugías:	SI NO
HiperCT___	HiperTG___	Hipoαlipoproteinemia___		Dislip.mixta___		Disβlipoprotei___	
Transplante renal:		SI NO	Hipotiroidismo:		SI NO	Tx: _____	
Colestasis:	SI NO	Tx: _____		Colagenopatía:	SI NO	Cirrosis:	SI NO
Nefropatía:	SI NO	Tipo: _____			Grado: _____		
Retinopatía:	SI NO	Neuropatía:	SI NO	Acantosis:	SI NO	Xantomas:	SI NO
Enfermedades autoinmunes:			SI NO	Cuál: _____			

Glucemia promedio durante el último año:
 Tratamiento actual de la DT2 (fármaco y dosis):
 Hospitalizaciones previas relacionadas a la diabetes:
 Infecciones previas (severidad, localización, fecha):

Se encuentra en descontrol metabólico: NO SI
 Causas atribuibles:
 Falta de adherencia al tratamiento farmacológico SI NO
 Falta de adherencia al programa de alimentación SI NO
 Problemas familiares o personales SI NO
 Otras causas (describir): _____

Hipertensión arterial: SI NO	Edad al dx:
	Tratamiento (fecha, dosis):
	TA promedio en los últimos meses:

Albuminuria o	Edad al dx:
---------------	-------------

microalbuminuria: SI NO	Tratamiento (fecha, dosis):		
	Creatinina >2mg/dL: SI NO	Fecha: _____	

Dislipidemia:

Alguna vez se le han medido las concentraciones de:

Colesterol	SI	NO	Fecha:
Triglicéridos	SI	NO	Fecha:
Colesterol HDL	SI	NO	Fecha:

Recibe algún tratamiento hipolipomiente: SI NO Cuál: _____

Obesidad: SI NO	Peso máximo: _____	Edad a la que lo presentó: _____
Evolución peso último año:	Ha recibido tx para perder peso: SI NO Cuál: _____	

Evaluación de la actividad física

Práctica algún ejercicio: SI NO	Cuál:		
Duración:	Veces/sem:	Horario:	
Medio transporte habitual:	Hrs que ve TV:		
Ocupación:	Mins que camina/día:		

Exploración física:

Peso:	Talla:	C.Cintura:	C.Cadera:
TA Sistólica:	TA diastólica:	FC:94	

Otros fármacos que recibe en el momento actual:

Fármaco:	Dosis:	Indicación:
----------	--------	-------------

Laboratorios al diagnóstico:

Gluc:	Col-T:	TG:	LDL:
HDL:	ApoB:	LipoA:	

Anormalidades en el examen general de orina:

Microalbuminuria:

Anormalidades en el electrocardiograma:

TSH:

Evaluación oftalmológica (fecha, resultados):

Lugar de origen:

Paciente:		Madre:	Padre:
Abuelo paterno:	Abuela paterna:	Abuelo materno:	Abuela materna:

Datos socioeconómicos:

Ingreso mensual:	Tipo de vivienda: propia, rentada, compartida		Gastos por pago de servicios
Gastos en alimentación:	Modo de transporte habitual:	No. de dependientes:	Escolaridad:

Hoja de consentimiento informado del paciente

Evaluación de polimorfismos de riesgo para la diabetes tipo 2 en pacientes mexicanos.

INTRODUCCIÓN: La siguiente información describe el protocolo y su papel como participante. El investigador contestará cualquier pregunta sobre ésta forma o el estudio.

PROPÓSITO DEL ESTUDIO: El propósito del estudio es estudiar los defectos genéticos asociados a la diabetes tipo 2.

PROCEDIMIENTOS A SEGUIR: Usted ha sido invitado a participar en el estudio debido a que ha sido recientemente diagnosticado con diabetes tipo 2. Su participación sólo requiere de la toma de una muestra de sangre (40 mL) y del llenado de un cuestionario para evaluar su historia médica.

MOLESTIAS POR SU PARTICIPACIÓN: Se obtendrá una muestra de sangre. La cantidad total de sangre obtenida no implica riesgos para su salud. El estudio no modificará su tratamiento.

BENEFICIO PARA LOS PARTICIPANTES: Los resultados aportarán información nueva e importante sobre las causas genéticas para el desarrollo de la diabetes tipo 2 en pacientes mexicanos. El participante no obtendrá un beneficio directo. Los exámenes genéticos no tendrán costo para usted. Dada la duración del estudio, si en el futuro surgieran nuevos datos que pudieran beneficiarlo, los investigadores haremos lo posible por comunicárselo.

CONFIDENCIALIDAD: Los datos obtenidos de su persona son absolutamente confidenciales, no pueden ser utilizados con otro fin. Usted será informado de cualquier hallazgo obtenido en esta investigación. El DNA obtenido será empleado para el estudio de genes que potencialmente participan en diabetes y en la génesis de las complicaciones crónicas de esta. La información derivada del estudio no será incorporada a su expediente clínico.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA:

Yo _____ declaro libre y voluntariamente que acepto participar en este estudio. Es de mi conocimiento que seré libre de retirarme de la presente investigación en el momento que lo desee. También puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos y beneficios de mi participación en el estudio. En caso de que decidiera retirarme, la atención que recibo como paciente no se verá afectada. Recibiré, si así lo solicito, los resultados de mi participación. Debo informar, tan pronto como sea posible, a los investigadores, de cualquier cambio importante que ocurra en mi estado de salud o cambio de domicilio. Las muestras obtenidas sólo podrán ser utilizadas para los fines de este estudio.

He comprendido el contenido de esta carta de consentimiento, mis dudas han sido resueltas y voluntariamente acepto participar en este estudio:

Firma del paciente y fecha

Firma del investigador y fecha

Firma del testigo 1, parentesco y fecha

Firma del testigo 2, parentesco y fecha

I.2. Muestra de DG

INVESTIGACIÓN GENÓMICA EN DIABETES MELLITUS GESTACIONAL EN UNA MUESTRA DE LA POBLACIÓN MEXICANA

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

INSTRUCCIONES: No se deberán recolectar datos o muestras antes de la firma del consentimiento informado. Sólo llenar con datos reales y confirmados, en caso de haber duda, anotarla en el área de observaciones.

DATOS GENERALES

FECHA DE LLENADO DEL CUESTIONARIO: ____/____/____
 NOMBRE: _____ EDAD: _____ EXP: _____
 DOMICILIO: _____ C.P.: _____
 TELÉFONO (S): _____ EDO. DE ORIGEN: _____ CLÍNICA: _____
 FECHA DE NACIMIENTO: ____/____/____ DIAGNÓSTICO: _____
 PESO HABITUAL: _____ kg PESO ACTUAL: _____ kg TALLA: _____ m IMC: _____ TA: _____
 PESO 1er TRIMESTRE: _____ kg PESO 2do TRIMESTRE: _____ kg PESO 3er TRIMESTRE: _____ kg
 FUR: _____ Edad gestacional actual por USG: _____ sdg.

ANTECEDENTES GINECO-OBSTÉTRICOS

Gestas		Diabetes gestacional en embarazos previos	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Abortos		No. de gesta en la que ha sufrido DG	
Cesáreas		Glucemia antes del embarazo (mg/dL)	
Partos		Fecha al momento de la muestra	

	Año	Sem	Aborto		Parto	Forceps	Cesárea	Anestesia		Al nacer		Muerte			Edad al morir	Fecha
			Esp	Prov				BPD	Gral	Sexo	Peso	Preparto	Trans	Post		
1																
2																
3																
4																
5																
6																
7																

Información de embarazos previos:

Hipertensión: SI () NO () En cuál: _____ Preeclampsia: SI () NO () En cuál: _____
 Intolerancia a carbohidratos: SI () NO () En cuál: _____ Edad de la paciente al hacer el dx: _____ años
 Polihidramnios: SI () NO () Macrosómicos: SI () NO () Malformaciones: SI () NO ()
 Especificar cual (es), otras complicaciones ó padecimientos de productos anteriores: _____

Valores de glucemias en ayuno durante el embarazo:

Fecha	mg/dL										

Prueba de tamiz:

Fecha	Semana de gestación	Gramos de glucosa administrados	Glucemia en ayuno (mg/dL)	Glucemia post-carga (mg/dL)	Tiempo de glucosa post-carga

Curva de tolerancia oral a la glucosa (CTOG):

Fecha	Semana de gestación	Valores de glucemia (mg/dL) en:				Normal o alterada
		Ayuno	60 min	120 min	180 min	

Normoglucemia () Intolerante a carbohidratos () Diabetes Gestacional ()

PATOLOGÍA DE BASE

Razón por la que acude al hospital	INFORMACIÓN
Control prenatal	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Diabetes Gestacional	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Obesidad	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Preeclampsia	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Edad materna avanzada	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Pérdida gestacional recurrente	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Infertilidad	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Si otra, ¿cuál?	

ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS

ENFERMEDAD	INFORMACIÓN
Diabetes Mellitus	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Síntomas de hiperglucemia	<input type="checkbox"/> Poliuria <input type="checkbox"/> Polidipsia <input type="checkbox"/> Polifagia <input type="checkbox"/> Pérdida de peso
Obesidad	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Colesterol elevado	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Hipertensión	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Diagnóstico o sospecha de Sx de ovario poliquístico	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Enfermedad endócrina (hiper o hipotiroidismo, Cushing, Addison, hipofisiaria, otra)	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
¿cuál?	
Antecedentes de pancreatitis	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Ingesta de esteroides u hormonas tiroideas	<input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO
Otras	

ANTECEDENTES FAMILIARES

Anotar país y/o estado de nacimiento de:

FAMILIAR	PAÍS/ESTADO	FAMILIAR	PAÍS/ESTADO
Abuelo Paterno		Abuelo Materno	
Abuela Paterna		Abuela Materna	
Padre		Madre	

¿Existe algún ascendiente extranjero en la familia?

SI NO Parentesco: _____

Anotar antecedentes familiares de diabetes, obesidad, colesterol elevado, hipertensión, enfermedad endocrina (Cushing, Addison, hipofisiaria, hiper o hipotiroidismo).

Nombre	Edad	Parentesco	Lugar de origen o gpo. étnico	Enfermedad	Edad dx	Complicaciones	Tratamiento	Teléfono

Anotar si algún familiar (abuela materna, abuela paterna, madre, hermanas, tías) ha presentado diabetes gestacional; y en el caso afirmativo, especificar de quién se trata:

DATOS OBTENIDOS DURANTE EL EMBARAZO

Diabetes pregestacional () Insulinodependiente () No dependiente de insulina ()

Especificar tratamiento: Dieta SI () NO () _____ kcal Ejercicio SI () NO () Insulina SI () NO ()

1er. Trimestre NPH _____ Rápida _____ NPH _____ Rápida _____ Dieta _____ HbA1C _____ %

2do. Trimestre NPH _____ Rápida _____ NPH _____ Rápida _____ Dieta _____ HbA1C _____ %

3er. Trimestre NPH _____ Rápida _____ NPH _____ Rápida _____ Dieta _____ HbA1C _____ %

Fecha de datos bioquímicos: _____

Glucosa basal _____ Ac. Úrico _____ Creatinina _____ Colesterol _____ Triglicéridos _____

HDL _____ LDL _____ Hb _____ Hto _____ Urea _____ IND. Filtración glomerular _____

Orina 24 h: Albúmina _____ Calcio _____ Microalbúmina _____

Continuación DATOS OBTENIDOS DURANTE EL EMBARAZO

Fondo de ojo: _____

Electrocardiograma (Interpretación): _____

Inductores: Dexametasona 8 x 3 x 2 1°. _____ 2°. _____ 3°. _____
Semanas de gestación 1°. _____ 2°. _____ 3°. _____

Betametasona Especificar fecha y dosis _____
Semanas de gestación 1°. _____ 2°. _____

Fecha de punción 1ª. _____ 2ª. _____ 3ª. _____ Transquirúrgico _____

Semanas de gestación 1ª. _____ 2ª. _____ 3ª. _____

Perfil de fosfolípidos acorde con edad gestacional: SI () NO ()

Preeclampsia SI () NO () Leve () Severa ()

Término del embarazo: Fecha _____ Semanas de gestación _____

Parto () Forceps () Cesárea () Kerr ()

Anestesia: BPD () General ()

Complicaciones SI () NO () Cuál (es): _____

DATOS DEL RECIÉN NACIDO

Sexo _____ Peso _____ Talla _____ Capurro _____

Complicaciones: SI () NO () Cuál (es): _____

Malformaciones: _____

Se tomó muestra de:

Sangre materna () Suero materno () Sangre de cordón () Suero de cordón ()

Fecha _____ Fecha _____ Fecha _____ Fecha _____

CURVA DE RECLASIFICACIÓN (preparación 75 g de glucosa):

Fecha: _____

Ayuno _____ 120 min _____

OBSERVACIONES IMPORTANTES: _____

Nombre y firma de quien elaboró: _____

Categoría: _____

Fecha: _____

Hoja de consentimiento informado del paciente

El que suscribe _____ con
residencia en _____ acepta
participar en el estudio:

“INVESTIGACIÓN GENÓMICA DE PACIENTES CON DIABETES MELLITUS GESTACIONAL EN MÉXICO”

He recibido información completa por parte de _____, quién ha estado a cargo de la descripción del consentimiento informado, de la naturaleza, propósito y duración del estudio. Tuve la oportunidad de formularle preguntas con relación a todos los aspectos del estudio. Además, se me ha especificado que el material genético obtenido de mi persona será utilizado únicamente para los fines establecidos en este estudio.

Luego de la debida consideración, acepto cooperar con los investigadores involucrados en el proyecto.

Entiendo que soy libre de abandonar el estudio en cualquier momento si así lo deseara.

Estoy al tanto de que mi identidad nunca será revelada y los datos obtenidos serán tratados con carácter confidencial. Entiendo que pueden ser supervisados por otros individuos involucrados en el estudio bajo la autoridad delegada de las autoridades sanitarias. Acepto que no procuraré limitar el uso al cual se destinan los resultados del estudio.

Fecha, firma y nombre la persona que estuvo a cargo de la descripción del consentimiento informado:

Fecha y firma del participante: _____

Fecha, firma y nombre del testigo No. 1: _____

Fecha, firma y nombre del testigo No. 2: _____

APÉNDICE II. Poderes estadísticos de los modelos de regresión logística.

II.1. Asociaciones a la DT2

A. Modelo aditivo

Gen	SNP	Alelo riesgo	Total	Temprano	Tardío	Hospital	Abierta
KCNJ11	rs5219	T	80.75	76.27	77.87	79.75	58.88
SLC30A8	rs13266634	C	33.48	81.01	17.43	34.83	27.17
HHEX/IDE	rs1111875	T	53.43	69.23	42.03	46.49	52.40
	rs7923837	G	16.27	5.38	12.19	7.33	29.40
CDKN2A/2B	rs10811661	T	70.98	65.04	8.97	66.77	58.79
CDKAL1	rs7754840	C	8.68	5.0	5.33	5.09	12.88
	rs10484634	T	49.68	62.72	26.02	20.53	46.61
IGF2BP2	rs4402960	T	29.47	7.08	28.87	5.97	68.71
	rs1470579	C	15.41	5.96	16.28	5.25	38.14
ARHGEF11	rs945508	C	41.47	7.69	53.98	19.44	36.10
JAZF1	rs864745	A	29.15	38.56	19.97	14.67	39.55
CDC123/CAMK1D	rs12779790	G	71.51	66.07	49.33	9.55	88.67
TSPAN8/LGR5	rs7961581	T	14.92	40.48	6.87	6.18	25.67
THADA	rs7578597	T	14.46	48.85	8.41	14.32	10.69
ADAMTS9	rs4607103	C	12.73	17.51	5.71	16.08	6.24
NOTCH2	rs10923931	T	5.15	12.05	6.41	6.06	5.03

B. Modelo dominante

Gen	SNP	Alelo riesgo	Total	Temprano	Tardío	Hospital	Abierta
KCNJ11	rs5219	T	66.36	73.08	56.45	57.64	64.46
SLC30A8	rs13266634	C	8.05	21.12	5.13	5.17	13.78
HHEX/IDE	rs1111875	T	24.61	67.09	12.54	16.74	35.39
	rs7923837	G	27.93	8.5	24.33	9.29	52.86
CDKN2A/2B	rs10811661	T	32.83	12.34	56.59	38.66	17.53
CDKAL1	rs7754840	C	9.80	6.21	5.05	5.41	10.52
	rs10484634	T	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
IGF2BP2	rs4402960	T	39.97	10.79	38.93	7.71	79.28
	rs1470579	C	34.29	8.36	39.42	9.27	65.77
ARHGEF11	rs945508	C	60.70	20.05	66.05	33.80	63.90
JAZF1	rs864745	A	8.14	9.71	6.45	5.08	14.10
CDC123/CAMK1D	rs12779790	G	22.60	17.29	16.69	5.33	87.03
TSPAN8/LGR5	rs7961581	T	14.34	28.91	12.57	6.35	5.30
THADA	rs7578597	T	n.d.	n.d.	n.d.	21.46	n.d.
ADAMTS9	rs4607103	C	5.17	5.06	5.07	5.06	5.53
NOTCH2	rs10923931	T	5.13	9.74	5.10	5.65	6.76

C. Modelo recesivo

Gen	SNP	Alelo riesgo	Total	Temprano	Tardío	Hospital	Abierta
KCNJ11	rs5219	T	58.28	31.02	69.18	64.82	16.06
SLC30A8	rs13266634	C	39.72	84.68	24.17	27.89	23.59
HHEX/IDE	rs1111875	T	66.03	26.07	66.66	71.29	45.71
	rs7923837	G	5.36	13.57	5.03	5.29	5.50
CDKN2A/2B	rs10811661	T	99.93	69.08	69.19	56.72	57.32
CDKAL1	rs7754840	C	5.95	7.58	6.24	7.02	9.69
	rs10484634	T	59.94	70.47	36.84	21.52	51.67
IGF2BP2	rs4402960	T	5.22	6.10	5.01	5.64	5.33
	rs1470579	C	10.98	6.62	15.00	10.35	8.07
ARHGEF11	rs945508	C	16.18	5.05	25.68	8.90	12.53
JAZF1	rs864745	A	34.96	50.55	29.09	20.57	46.13
CDC123/CAMK1D	rs12779790	G	35.06	50.30	15.29	28.99	35.17
TSPAN8/LGR5	rs7961581	T	6.12	29.89	10.71	5.60	32.89
THADA	rs7578597	T	17.40	57.12	10.71	n.d.	10.38
ADAMTS9	rs4607103	C	17.34	30.43	7.23	24.2	6.14
NOTCH2	rs10923931	T	23.55	15.59	35.08	8.26	37.98

n.d. no datos

II.2. Asociaciones a la DG

A. Modelo aditivo

Gen	SNP	Alelo riesgo	Controles DG y casos DG totales	Controles DG y casos DG con AHDM	Controles DT2 y casos DG totales
<i>KCNJ11</i>	rs5219	T	59.43	30.81	57.08
<i>SLC30A8</i>	rs13266634	C	5.00	5.78	21.11
<i>HHEX/IDE</i>	rs1111875	T	59.51	42.39	5.49
<i>CDKN2A/2B</i>	rs10811661	T	5.00	5.87	22.33
<i>THADA</i>	rs7578597	T	5.23	5.11	7.31

A. Modelo dominante

Gen	SNP	Alelo riesgo	Total	Temprano	Tardío
<i>KCNJ11</i>	rs5219	T	25.75	12.72	38.41
<i>SLC30A8</i>	rs13266634	C	5.04	9.5	66.33
<i>HHEX/IDE</i>	rs1111875	T	43.55	26.61	6.59
<i>CDKN2A/2B</i>	rs10811661	T	5.19	6.56	20.57
<i>THADA</i>	rs7578597	T	5.01	n.d.	n.d.

A. Modelo recesivo

Gen	SNP	Alelo riesgo	Total	Temprano	Tardío
<i>KCNJ11</i>	rs5219	T	72.61	42.16	44.42
<i>SLC30A8</i>	rs13266634	C	5.00	5.08	9.02
<i>HHEX/IDE</i>	rs1111875	T	49.60	40.79	16.29
<i>CDKN2A/2B</i>	rs10811661	T	5.11	5.42	17.55
<i>THADA</i>	rs7578597	T	5.28	5.11	7.16

n.d. no datos