



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS

Y NUTRICIÓN "SALVADOR ZUBIRÁN"

**"ASOCIACION DE LAS VARIANTES DEL GEN SLC30A8 Y R230C DEL GEN ABCA1 CON EL
DESARROLLO DE COMPLICACIONES MICROVASCULARES EN PACIENTES CON
DIABETES MELLITUS TIPO 2 DE INICIO TEMPRANO"**

TESIS DE POSTGRADO

PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALIDAD EN

ENDOCRINOLOGIA

PRESENTA

DR. RAFAEL LÓPEZ CRUZ



TUTOR

DR. ISRAEL LERMAN GARBER

MEXICO

2011



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.

Dra. Israel Lerman Garber

Médico Adscrito del Departamento de Endocrinología y Metabolismo INCMNSZ

TUTOR DE TESIS

Dr. Francisco J. Gómez Pérez

Jefe del Departamento de Endocrinología y Metabolismo INCMNSZ

Dr. Luis Federico Uscanga Domínguez

DIRECTOR DE ENSEÑANZA DEL INCMNSZ

DEDICATORIA

A mis padres, por el gran apoyo que me han brindado durante toda la vida.

A mis hermanos, por el gran cariño que nos une.

A mis profesores y compañeros del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubiran"

ÍNDICE

Resumen	1
I. Marco teórico	3
II. Planteamiento del problema	6
III. Justificación	8
IV. Hipótesis	8
V. Objetivos	9
VI. Material y métodos	9
VII. Resultados	14
Tabla de resultados	17
VIII. Discusión	24
IX. Conclusiones	26
X. Referencias	27

RESUMEN

Objetivo: Establecer la frecuencia de los polimorfismos de riesgo R230C/C230C del gen ABCA1 y CT/CC (rs13266634) del gen SLC30A8 en pacientes con DM tipo 2 de inicio temprano e investigar su asociación con la presencia de complicaciones microvasculares asociadas a la diabetes.

Métodos: Se revisaron durante 6 semanas los expedientes de todos los pacientes con diabetes que se atienden en la clínica de diabetes de nuestra institución. Un total de 241 pacientes (27.8%) tenían DM tipo 2 de inicio temprano (diagnóstico antes de los 40 años de edad). Se incluyeron 168 pacientes en forma consecutiva con más de 10 años de evolución de la enfermedad; se evaluaron sus características clínicas, metabólicas y complicaciones microvasculares y macrovasculares. Los estudios de laboratorio incluyeron; química sanguínea, perfil de lípidos, hemoglobina glucosilada, recolección de orina de 24 hrs para determinación de microalbuminuria y la frecuencia de los polimorfismos R230C/C230C de ABCA1 y CT/CC (rs13266634) del gen SLC30A8 mediante la técnica de PCR en tiempo real. Todos los pacientes contaban también con una evaluación oftalmológica. Los resultados de las variantes genéticas se correlacionaron con la presencia o ausencia de complicaciones ajustando para otras variables clínicas y se determinó la razón de momios.

Resultados: La edad promedio de los pacientes fue de 54 ± 10 años, 51.2 % fueron mujeres con un IMC de 27.7 ± 5.3 kg/m². El 84.4 % tenían antecedentes familiares de diabetes en línea directa y un 66.2 % tuvieron antecedentes personales de obesidad. El 78 % de los pacientes tuvieron síndrome metabólico, 56 % eran hipertensos, 60.7 % tenían hipertrigliceridemia y 58.3 % hipoalfalipoproteinemia. La edad al diagnóstico fue de 33 ± 5 años, con una duración promedio de la enfermedad de 21 ± 8 años. El 79.2 % se aplicaban insulina, misma que se inició en promedio 14 ± 7 años después de establecido el diagnóstico. La HbA1c fue de 9.9 ± 2 % y el 64.8% presentaron cifras de HbA1c >9%. La prevalencia de complicaciones fue la siguiente; neuropatía periférica sintomática 33.9 %, retinopatía no proliferativa leve a moderada 32.9 %, retinopatía proliferativa y/o edema macular en 34.2 %, microalbuminuria en 21.8 %, proteinuria clínica en 22.4 %, pie diabético en 17.9 % y cardiopatía isquémica en 12.5%. El tiempo de evolución de la enfermedad fue la principal variable asociada con el riesgo de desarrollar complicaciones tanto micro como macrovasculares ($p < 0.001$). Se encontró una alta prevalencia de los 2 alelos de riesgo en nuestro grupo de pacientes (30.3% variante ABCA1 y 85.6% para la variante del gen SLC30A8. La variante R230C/C230C de ABCA1 fue encontrada más frecuentemente en los pacientes en diálisis o con trasplante renal (OR 4.29, $p = 0.01$) y en pacientes con retinopatía diabética (OR 2.789, $p = 0.04$) comparado con aquellos sin complicaciones. La frecuencia de la variante CT/CC (rs13266634) del gen SLC30A8 fue menor en los pacientes en diálisis o con trasplante renal (OR 0.101, $p = 0.00$). Esto

permaneció con significancia estadística posterior a un análisis multivariado incluyendo otras variables estrechamente asociadas con el riesgo de desarrollar complicaciones.

Conclusiones: La aparición temprana de la enfermedad y su larga evolución en asociación con el pobre control glucémico, favorecen una alta frecuencia de complicaciones tanto micro como macrovasculares en los pacientes con DM tipo 2 de inicio temprano atendidos en nuestra Institución. Los alelos de riesgo se encontraron con una prevalencia mayor a la reportada en la población no diabética y se demostró una asociación significativa entre la variante R230C/C230C de ABCA1 y el desarrollo de daño microvascular a nivel de riñón y retina posterior a un análisis multivariado. Se requieren de estudios con un número mayor de pacientes para confirmar estos resultados.

I. MARCO TEÓRICO

La diabetes mellitus tipo 2 (DM tipo 2) o no insulino dependiente es una enfermedad con alta prevalencia a nivel mundial ⁽¹⁾. El grupo de pacientes con diagnóstico de DM tipo 2 en una edad temprana (menos de 40 años) tiene mayor riesgo para el desarrollo de complicaciones crónicas debido a los largos periodos de hiperglucemia a los que están expuestos y el deficiente control metabólico que logran aun con tratamiento ^(2,3,4,5). Además se caracterizan por requerir en forma más temprana insulina ^(5,6). La distinción entre diabetes mellitus tipo 1 (DM tipo 1) de inicio tardío y DM tipo 2 de inicio temprano es un reto para el clínico. Los datos que ayudan a distinguir a esta última son la obesidad, la asociación con otras manifestaciones de resistencia a la insulina como el síndrome metabólico y la acantosis nigricans, niveles elevados de péptidos C y la buena respuesta a hipoglucemiantes orales. Además, la mayoría de los pacientes tienen historia familiar de diabetes sin importar su origen étnico ^(7,8). No obstante, es cada vez más común, que los pacientes con DM tipo 1 sean obesos y tengan antecedentes familiares de DM tipo 2, lo que dificulta aún más el diagnóstico de certeza del tipo de diabetes ^(9,10,11). Su etiología es heterogénea e influyen en su aparición factores ambientales y un modo de herencia poligénica ⁽¹²⁾.

En el transcurso de los años se ha observado un incremento en la prevalencia DM tipo 2 en todas las poblaciones del mundo, en edades más tempranas, lo que se ha atribuido al incremento de la obesidad, adopción de estilos de vida sedentarios y cambios en la dieta ^(13,14). Esto lo han demostrado diversos estudios que han evaluado a pacientes diabéticos con inicio temprano de la enfermedad, en donde un porcentaje alto poseen varios componentes del síndrome metabólico. Un estudio transversal en Oregón USA ⁽¹⁵⁾ que evaluó a 2,437 diabéticos (277 con diagnóstico entre los 18 a 44 años vs 2160 con diagnóstico a una edad mayor de 45 años) reportó que el IMC fue significativamente mayor en el grupo con inicio temprano de la enfermedad (39 ± 24 vs 33 ± 27 , $p < 0.001$). Además en el grupo con diagnóstico temprano, la prevalencia de hipertensión fue del 49 % y un 82 % tenían alguna anormalidad en los lípidos.

El fuerte componente hereditario de la enfermedad queda en evidencia desde varios estudios que han demostrado que algunos grupos raciales como son afroamericanos, hispanos-latinos, asiáticos (Islas del Pacífico) e indios americanos (indios Pima) tienen mayor prevalencia de diabetes tipo 2 y que ciertos individuos aun teniendo obesidad no desarrollan la enfermedad ⁽¹⁶⁾. Tradicionalmente se han usado 2 métodos para descubrir genes asociados a diabetes ⁽¹⁷⁾: uno de ellos es el análisis de regiones genómicas compartidas por familiares que se presentan con más frecuencia de lo esperado (análisis de ligamiento); el otro es el estudio de genes candidatos, particularmente por correlacionar la variación biológica (fenotipo) con las variaciones en las secuencias de ADN (genotipo) a través de polimorfismos de nucleótido simple (análisis de asociación de genoma amplio). El estándar de oro es secuenciar el genoma entero en los individuos afectados y en los no afectados pero esto por razones prácticas no es posible. Con estos métodos al momento actual se han identificado 18 genes que contribuyen en el desarrollo de la diabetes no obstante su efecto es de leve a moderado

sobre su desarrollo ⁽¹⁸⁾. La mayoría de ellos están implicados en la función de la célula beta, solo uno de ellos claramente se asocia con resistencia a la insulina.

En población mexicana se ha evaluado la prevalencia de varias de estas variantes genéticas. La variante genética R230C/C230C de ABCA1 se ha encontrado con mayor frecuencia en los individuos con síndrome metabólico y DM tipo 2 de inicio temprano ^(19,20). También la variante genética rs13266634 del gen SCL30A8 se encontró con una más alta frecuencia en pacientes con DM tipo 2 de inicio temprano.

ABCA1 es una proteína integral de membrana que participa en el transporte de colesterol y fosfolípidos desde los macrófagos presentes en las placas de aterosclerosis o bien desde los tejidos periféricos hacia moléculas de HDL pobremente cargadas en lípidos ⁽²¹⁾. Hay evidencia que sugiere que su presencia protege contra el desarrollo de diabetes, esto derivado de estudios en animales de experimentación con ablación selectiva de ABCA1. Estudios en humanos en diferentes grupos étnicos, incluyendo población mexicana, han confirmado que sus polimorfismos se asocian con diabetes de inicio temprano y con las complicaciones macrovasculares asociadas a la misma ⁽²²⁾. La variante R230C del gen ABCA1 representa un importante alelo de riesgo para el desarrollo de DM tipo 2 de inicio temprano en sujetos de la población mestiza-mexicana ⁽²³⁾. Adicionalmente, evidencia generada de modelos animales muestra que la inactivación específica de la proteína ABCA1 en la célula β en el ratón reduce significativamente la secreción de insulina aparentemente como resultado de la acumulación excesiva de colesterol al interior de la célula β , apoyando con ello un nuevo mecanismo de daño de célula β mediado por colesterol (e.g lipotoxicidad mediada por colesterol a diferencia de la lipotoxicidad por ácidos grasos). En población japonesa se han descrito también variantes de secuencia (un diplotipo específico) asociadas al riesgo de manifestar DM tipo 2 ⁽²⁴⁾.

El gen SCL30A8 (solute carrier family 30, member 8) codifica para una proteína exclusivamente expresada en las células beta del páncreas llamada ZnT-8 que se encarga del transporte de Zinc desde el citoplasma hacia el interior de las vesículas secretorias de insulina, donde la insulina es almacenada como un hexámero unida a dos iones zinc antes de su secreción ^(25,26). Se cree que variaciones en este gen podrían afectar la acumulación de zinc en los gránulos ocasionando problemas en el almacenaje, estabilidad o secreción de la insulina. Durante la realización de estudios de asociación de genoma amplio se identificó una variante de este gen, rs13263634 ocasionando un cambio de arginina a triptófano en la posición 325 en el último exón del gen SCL30A8, la cual se encuentra con mayor frecuencia en los individuos con diabetes.

En lo que concierne a las complicaciones micro y macrovasculares, incrementan significativamente en relación con la duración de la enfermedad ocasionando incapacidad en un porcentaje alto de pacientes durante su edad productiva. Un estudio transversal del Reino Unido ⁽²⁷⁾ que estudió a 527 diabéticos con diagnóstico a una edad menor de 40 años vs 2,206 diabéticos con diagnóstico después de los 40 años, demostró que la prevalencia de complicaciones microvasculares (retinopatía, neuropatía) de acuerdo con diferentes tiempos de evolución de la enfermedad (<10 años, 10 a 20 años, > 20 años) fueron similares en ambos grupos. Por el contrario, las complicaciones macrovasculares fueron más frecuentes en el grupo con diagnóstico a una edad mayor de 40 años (presencia de enfermedad cardiovascular 50.7 % vs 37.2 % con tiempo de evolución mayor de 20 años). No obstante, hubo un incremento mayor en la aparición de complicaciones macrovasculares en relación con el transcurso de los años en el grupo de diabéticos de inicio temprano comparado con los de inicio tardío. Otro estudio evaluó 7,844 diabéticos (con reciente diagnóstico) para el desarrollo de

complicaciones (28), los dividió en diabéticos de inicio temprano (18 a 45 años) y diabéticos de inicio tardío (> 45 años). El tiempo promedio para el inicio de insulina no fue diferente en ambos grupos (2.2 años) pero los pacientes en el grupo de inicio temprano requirieron insulina con mayor frecuencia (18 % vs 11 %, $p < 0.001$) y el nivel de HbA1c fue más alto (8.7 ± 2.4 vs 8.1 ± 2.2 , $p < 0.001$). En un seguimiento promedio de 3.9 años ambos grupos tuvieron similar porcentaje de complicaciones microvasculares (retinopatía y nefropatía) excepto que el grupo de inicio temprano tuvo un riesgo relativo de 1.2 para el desarrollo de microalbuminuria. También evaluó la prevalencia de complicaciones macrovasculares en ambos grupos usando controles pareados por edad. Como era de esperarse, la prevalencia de enfermedad cardiovascular fue mayor en el grupo con diagnóstico tardío y en sus controles en comparación con el grupo de inicio temprano y sus controles. Sin embargo el incremento en el riesgo relativo para el desarrollo de enfermedad cardiovascular comparando diabéticos de inicio temprano con sus controles fue varias veces mayor (HR 7.9, 95% CI 4.8 –13.0) en comparación con el grupo con diagnóstico tardío y sus controles (HR 3.8, 95% CI 3.4 - 4.2). Esto hace evidente que los diabéticos con inicio temprano de la enfermedad progresan más rápidamente en sus complicaciones. No está claro si esto es producto del descontrol glucémico crónico, la detección tardía de la enfermedad (un estudio reportó que la mitad de sujetos hispanos con DM tipo 2 de inicio temprano no sabían que tenían diabetes), o una menor reserva pancreática de insulina y/o una mayor carga genética para desarrollar la enfermedad.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La reciente Encuesta Nacional de Salud 2006, mostró que la prevalencia de diabetes en población mexicana en general fue del 14.4 % y en individuos con una edad menor de 40 años la prevalencia fue del 5.8 %, lo que significó que 1,682,870 mexicanos en este grupo de edad estuvieron afectados. Desde otra perspectiva, el 21.5 % del total de todos los diabéticos de nuestro país tenían una edad menor de 40 años ^(29,30). Nuestra prevalencia para DM tipo 2 es más alta que lo reportado en países desarrollados o de Europa (< 9.4 %), pero aun algo más baja que lo reportado en la India (25 %), en el este medio (36 %) y entre los nativo-americanos de Norteamérica (26.5 %).

Existe información respecto de las características de la DM tipo 2 de inicio temprano en nuestro país. Este grupo se caracteriza por una mayor prevalencia de obesidad, resistencia a la insulina, hipertensión y alteraciones en los lípidos, comparado con controles no diabéticos pareados para su edad. En la encuesta nacional de salud se reportó que 24.9 % eran hipertensos, 30.3 % tenían sobrepeso, 42.5 % eran obesos. El nivel promedio de Hb A1c estaba lejos de lo deseable (11.6 %). Además se realizó el diagnóstico de la enfermedad en el momento de la encuesta en casi dos terceras partes del total de diabéticos de inicio temprano evaluados ⁽²⁹⁾.

Por otra parte se ha demostrado que este subgrupo de diabéticos es heterogéneo clínica y genéticamente, lo que hace difícil obtener una clara imagen acerca de la historia natural de la enfermedad. Esto se confirma en estudios previos en población mexicana. En un estudio realizado en un hospital de tercer nivel (n = 40), la edad promedio al diagnóstico fue de 28 años y solo el 35% de los pacientes tenían anomalías metabólicas asociadas a resistencia a la insulina. La mayoría no tenían sobrepeso y eran insulino-dependientes, lo que difirió del estudio de población realizado previamente, sin embargo si prevalecieron antecedentes familiares de DM tipo 2 y 20% tenía historia de diabetes en ambos padres ⁽³¹⁾. Existen pocos estudios que evalúen la tasa de complicaciones y sus determinantes asociadas, en el grupo de diabéticos que comprende los 18 a 40 años.

Un estudio de población mexicana evaluó la contribución de la variante R230C de ABCA1 (un SNP presente exclusivamente en población india americana) ⁽²³⁾. La variante R230C/C230C estaba presente en el 20 % de nuestra población y su presencia se le relacionó con un IMC mayor (29.3 ± 6.4 vs 27.1 ± 5.3 , $p = 0.005$), un porcentaje mayor de obesidad (64.8 % vs 38.5 %, $p = 0.003$) y niveles más bajos de colesterol HDL (44.4 ± 11.1 vs 48.7 ± 13.8 , $p = 0.024$). Así mismo confirmó un riesgo relativo para obesidad de 2.52 ($p = 0.005$) y de síndrome metabólico de 1.87 ($p = 0.0007$). Un estudio posterior ⁽¹⁷⁾ analizó la presencia del alelo de riesgo en una población de 486 diabéticos y 427 sujetos control. Comparado con los controles, en los pacientes con diagnóstico de DM tipo 2 a una edad > 45 años, la prevalencia del alelo fue mayor (OR 1.82, $p = 0.01$), pero fue aún mayor en el grupo con diagnóstico a una edad < 45 años (OR 2.75, $p = 9.4 \times 10^{-8}$). Por otra parte, los niveles de insulina fueron más bajos en los pacientes con los alelos de riesgo 58.3 ± 35.3 vs 75.2 ± 59.0 , $p = 0.05$, la edad en el diagnóstico tendió a ser menor (42.6 ± 9.3 vs 47.0 ± 10.9 , $p < 0.005$) y el IMC

fue ligeramente más alto (28.9 ± 4.7 vs 28.3 ± 4.8). Otro estudio en proceso de publicación realizado en población mexicana evaluó la contribución de diversas variantes genéticas en población mexicana y reportó una frecuencia mayor para un polimorfismo de rs13263634 del gen SCL30A8 (CC/CT vs TT) en diabéticos tipo 2 de inicio temprano.

Hasta la fecha pocos estudios han evaluado la contribución de variantes genéticas en el desarrollo de complicaciones en diabéticos. En nuestra Institución, siendo un hospital de concentración a donde son referidos muchos pacientes con DM tipo 1 de Instituciones pediátricas, el 16.1% de la consulta de diabetes corresponden a DM tipo 1 (versus 27.8 % con DM tipo 2 de inicio temprano). En algunos centros que atienden pacientes con diabetes en la infancia y adolescencia, la DM tipo 2 ya representa la mitad de los casos de diabetes ⁽³²⁾.

III. JUSTIFICACIÓN

Diversos estudios han evaluado las características clínicas y la prevalencia de complicaciones micro y macrovasculares en grupos de pacientes diabéticos con diagnóstico a una edad menor de 40 años (DM tipo 2 de inicio temprano). Otros estudios han evaluado la frecuencia de variantes genéticas por medio de SNP en una población grande de individuos con DM tipo 2.

En México contamos con estudios en pacientes diabéticos de inicio temprano que han corroborado una mayor prevalencia de obesidad, resistencia a la insulina, hipertensión y alteraciones en los lípidos comparado con controles no diabéticos pareados por edad. Otros estudios analizaron la presencia de complicaciones en niños y adolescentes con DM tipo 2.

No obstante, la información es escasa sobre el desarrollo de complicaciones tanto micro como macrovasculares en el subgrupo de diabéticos con edad al diagnóstico entre los 18 a 40 años. En nuestra Institución, siendo un hospital de concentración a donde son referidos muchos pacientes con diabetes mellitus tipo 2 se atiende a un porcentaje significativo de individuos con diagnóstico temprano. Conocer la tasa y progresión de complicaciones, los factores asociados en su desarrollo y la contribución que tienen ciertas variantes genéticas con mayor prevalencia en nuestra población, pudieran favorecer cambios en nuestras estrategias de manejo internamente y en el caso de encontrar resultados muy significativos, el estudio apoyaría la realización de estudios prospectivos que evalúen el efecto diferencial de las variantes genéticas sobre el desarrollo de complicaciones en este subgrupo de pacientes.

IV. HIPOTESIS

Los pacientes con DM tipo 2 de inicio temprano que sufren complicaciones tienen una mayor frecuencia de los polimorfismos R230C/C230C del gen ABCA1 y rs13266634 del gen SCL30A8 que los pacientes sin complicaciones.

Los pacientes con DM tipo 2 de inicio temprano que tienen nefropatía y retinopatía graves tienen una mayor frecuencia de los polimorfismos R230C/C230C del gen ABCA1 y rs13266634 del gen SCL30A8 que aquellos con nefropatía y retinopatía leve.

El tiempo de inicio de insulina difiere en los pacientes diabéticos de inicio temprano que poseen las variantes genéticas de riesgo comparado con aquellos que no las presentan.

V. OBJETIVOS

Describir las características clínicas y metabólicas de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 de inicio temprano atendidos en una clínica de diabetes de un centro hospitalario de tercer nivel.

Determinar la prevalencia de complicaciones microvasculares y macrovasculares en este subgrupo de pacientes y la asociación que tienen otras variables clínicas con su presencia y desarrollo.

Determinar la frecuencia de las variantes genéticas de ABCA1 y SCL30A8 de acuerdo a grupos de pacientes con complicaciones versus sin complicaciones y con complicaciones graves (de nefropatía y retinopatía) versus sin complicaciones graves.

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio de casos descriptivo retrolectivo tipo transversal.

POBLACIÓN DE ESTUDIO

Se revisaron los expedientes en un periodo de seis semanas de todos los pacientes con diabetes que se atendieron durante julio y agosto del 2010 en la clínica de diabetes de nuestra institución, esto con el objetivo de investigar la prevalencia de DM tipo 2 de inicio temprano en nuestra población.

En total fueron 866 expedientes; 241(27.8%) fueron diagnosticados con DM tipo 2 de inicio temprano (diagnóstico antes de los 40 años de edad), 433 (50%) tenían DM tipo 2 con diagnóstico después de los 40 años de edad, 140 (16.1%) DM tipo 1 (de estos el 62% con diagnóstico en la infancia o adolescencia), 24 (2.8%) tenían DM secundaria a pancreatitis, 20 (2.3%) tenían DM relacionada al uso de esteroides u otros padecimientos y 8 (0.9%) de los casos correspondieron a MODY (Maturity Onset Diabetes of the Youth).

Sujetos.

De los 241 pacientes con DM tipo 2 de inicio temprano, 168 pacientes se incluyeron en forma consecutiva para el presente estudio. Se revisó su expediente y se llevó a cabo un registro de las características clínicas, de laboratorio y complicaciones microvasculares y macrovasculares registradas hasta el momento de la revisión. De estos pacientes se obtuvo muestra sanguínea para determinación de las variantes genéticas R230C/C230C del gen ABCA1 y rs13266634 del gen SCL30A8.

Estudios de laboratorio.

La evaluación incluyó el registro de diversas determinaciones llevadas a cabo en nuestra institución para química sanguínea, perfil de lípidos, hemoglobina glucosilada, recolección de orina de 24 hrs para determinación de microalbuminuria y ácido úrico. La glucosa se mide con el método de glucosa oxidasa, (Equipo Synchron Lx20 de Beckman Coulter con un coeficiente de variación del 4%), la hemoglobina glucosilada con el método de cromatografía líquida de alta resolución de intercambio iónico (VARIANT II Hemoglobina A1c con coeficiente de variación del 1.6%). La medición de colesterol total y triglicéridos se realiza con el método enzimático (Equipo Synchron Lx20 de Beckman Coulter con un coeficiente de variación máximo de 4%). El colesterol HDL se mide por precipitación con ácido fosfotúngstico y Mg21 (coeficiente de variación 2.5%). La concentración de colesterol LDL fue estimada utilizando la fórmula de Friedewald y la medición directa con el método enzimático (Equipo Synchron Lx20 de Beckman Coulter con un coeficiente de variación máximo de 4%). La evaluación para microalbuminuria de 24 horas se realiza por el método de Nefelometría (IMAGE 800 con un coeficiente de variación de 4.6). También se obtuvo muestra para medición de anticuerpos contra ácido glutámico descarboxilasa (anti-GAD 65).

Estudios genéticos.

El DNA genómico se obtuvo a partir de sangre total utilizando un método libre de fenol (Buffone y Darlington, 1985), o utilizando el kit de Qiagen, Cat. 51162. La genotipificación en todos los sujetos estudiados se realizó mediante la técnica de PCR en tiempo real, a través de sonda TaqMan (Perkin-Elmer) prediseñada específicamente para la variante rs9282541 del gen ABCA1, en un termociclador ABI Prism 7900 HT (Applied Biosystems). Se corrieron duplicados y controles de genotipificación. Se confirmó el 10% de los genotipos por secuenciación directa, utilizando los reactivos de Big Dye Terminators v3 de ABI Prism y un secuenciador automático ABI 3100 (Applied Biosystems).

Para la genotipificación de la variante rs13266634 del gen SCL30A8 se realizó a través de ensayos Kaspar mediante la plataforma comercial de Kbiosciences U.K.

VARIABLES

VARIABLES cualitativas:

Socio-demográficas: sexo, escolaridad, ocupación, nivel socioeconómico.

Características metabólicas: variables dicotómicas (1:Si, 2: No): antecedente de obesidad, obesidad actual, sobrepeso, acantosis nigricans, dislipidemia mixta, hipertensión, síndrome metabólico, presencia de gota o hiperuricemia.

Características clínicas: grupo de edad al diagnóstico (1: menor de 20 años, 2: entre 20 y 30 años, 3: entre 30 y 40 años); tiempo de evolución de la enfermedad (1: entre 10 y 20 años, 2: > 20 años); tiempo de inicio de insulina (1: < de 10 años después del diagnóstico, 2: > 10 años después del diagnóstico); grado de control glucémico (1: HbA1c < 7 %, 2: HbA1c entre 7-9 %, 3: HbA1c > 9 %); variables dicotómicas (1: Si, 2: No): aplicación de insulina, uso exclusivo de insulina, hipoglucemiantes ó uso combinado de hipoglucemiantes e insulina; uso de antihipertensivos, fibratos, estatinas o aspirina; presencia de cualquier complicación.

Complicaciones: grado de albuminuria (1: sin microalbuminuria, 2: con microalbuminuria, 3: proteinuria en rangos subnefróticos, 300 mg a 3 gr en 24 hrs, 4: proteinuria en rangos nefróticos, > 3 gr en 24 hrs); grado de elevación de azoados (1: < 2 mg/dl, 2: > 2 mg/dl, 3: paciente en diálisis o trasplantado); grado de retinopatía (1: ausencia de retinopatía, 2: presencia de retinopatía diabética no proliferativa leve a moderada, 3: presencia de retinopatía diabética no proliferativa grave, proliferativa, edema macular o tratamiento con fotocoagulación; variables dicotómicas (1: Si, 2: No): neuropatía sintomática, cardiopatía isquémica, claudicación, pie diabético.

Variables cuantitativas:

Edad actual, edad al diagnóstico, duración de la diabetes, años de aplicación de insulina después del diagnóstico, promedio de Hb. glucosilada.

DEFINICIONES OPERACIONALES

Diabetes tipo 2 de inicio temprano (DM tipo 2 de inicio temprano) se definió como pacientes con diagnóstico clínico establecido de diabetes tipo 2 antes de los 40 años de edad, que no requirieran del uso de insulina los primeros 2 años a partir del diagnóstico, con anticuerpos anti GAD 65 (Descarboxilasa del ácido glutámico) negativos y sin antecedentes familiares sugestivos de MODY.

El diagnóstico de diabetes y sus complicaciones se establecieron de acuerdo a los criterios de la ADA ⁽³³⁾. Con el propósito del análisis de los datos:

En cuanto a las complicaciones microvasculares se dividió a los pacientes en 2 grupos: a) pacientes sin complicaciones vs pacientes con complicaciones sin importar el nivel de gravedad; b) pacientes sin complicaciones graves vs pacientes con complicaciones graves. Definidas como sigue: 1) neuropatía grave: con sintomatología grave requiriendo uso de analgésicos o neuromoduladores; 2) retinopatía grave: con retinopatía no proliferativa grave en adelante; 3) nefropatía grave: con proteinuria > 3 gr en 24 hrs o creatinina > 2 mg/dl en adelante; con insuficiencia renal crónica terminal en diálisis o postrasplante.

En cuanto a las características clínicas: obesidad se definió como un IMC ≥ 30 kg/m²; sobrepeso como un IMC entre 25-29.9 kg/m²; hipertensión arterial se definió como tensión arterial $\geq 130/80$ mmHg, si se estaba utilizando medicamentos antihipertensivos, o con diagnóstico establecido en expediente; dislipidemia fue definida de acuerdo al Programa Nacional de Educación en Colesterol III ⁽³⁴⁾; hiperuricemia asintomática fue definida por concentraciones séricas de ácido úrico > 7 mg/dl; gota por la presencia de podagra o cuadro clínico compatible y documentación de cristales de ácido úrico en líquido articular.

En cuanto a las complicaciones macrovasculares solo se registraron los eventos clínicamente evidentes con registro en el expediente: cardiopatía isquémica confirmada por coronariografía, ECG, elevación de enzimas cardíacas o prueba de esfuerzo; claudicación confirmada por medición de índice tobillo brazo o arteriografía; pie diabético ocasionando úlceras de tipo neuropático o amputación secundaria a infección de tejidos blandos u osteomielitis; cualquier complicación hace referencia que el paciente tuvo al menos una complicación microvascular, macrovascular o un evento de cetoacidosis o hipoglucemia grave.

En cuanto a las características socioeconómicas, se agruparon como variables categóricas: a) escolaridad: 1.- ninguna o primaria; 2.- secundaria, preparatoria o licenciatura; b) nivel socioeconómico (asignado por trabajo social): 1.- nivel 1 y 2 de clasificación; 2.- nivel 3 y 4 de clasificación; 3.- nivel 5 o mayor.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Pacientes con DM tipo 2 de inicio temprano con más de 10 años de evolución de la enfermedad que cumplieron con los criterios de exclusión.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Pacientes con diabetes mellitus tipo 1 o anticuerpos anti-GAD positivos.

Pacientes con diabetes tipo MODY.

Pacientes con diabetes secundaria a pancreatitis o secundaria a tratamiento con glucocorticoides.

Pacientes con diagnóstico de diabetes después de los 40 años de edad.

Pacientes con uso de insulina en los 2 primeros años del diagnóstico.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para probar diferencias estadísticas entre variables continuas se empleó la prueba *t*-Student para muestras independientes, reportándose como medidas de descripción la media y desviación estándar. Las diferencias entre variables categorizadas fueron probadas a través de la prueba estadística de Chi cuadrada, por medio de exacta de Fisher (2 colas) cuando se contrastaron dos variables binarias y por medio de la χ^2 de Pearson cuando se compararon

variables con más de dos categorías. El nivel de significancia se estableció en un valor $\alpha=0.05$. La descripción se estableció mediante el reporte de frecuencias absolutas y relativas (porcentajes). Se obtuvieron las razones de momios (RR) realizando análisis de regresión logística ajustando por variables confusoras, incluyendo en el modelo la edad, IMC, tratamiento, grado de control glucémico, tiempo de duración de la enfermedad, edad al diagnóstico, antecedentes familiares de diabetes y antecedentes de obesidad (cuando el estadístico de Wald arrojó $p \leq 0.05$) así como por niveles de HDL. Se consideró un valor de $P < 0.05$ como estadísticamente significativo para la asociación. Estos análisis se realizaron con el paquete estadístico SPSS v15.0 para Windows SPSS, Inc. Chicago, IL. USA.

Para evaluar el efecto de la variante genética R230C del gen ABCA1 y de la variante rs13263634 de SCL30A8 sobre los fenotipos de interés relacionados con complicaciones de DM tipo 2 de inicio temprano se utilizó un modelo dominante, comparando a los sujetos con el genotipo “silvestre” *versus* los sujetos portadores homocigotos o heterocigotos del alelo de riesgo (genotipos TC y CC) en una o ambas copias. Se obtuvieron las razones de momios (RR) realizando análisis de regresión logística ajustando por variables confusoras, incluyendo en el modelo la edad al diagnóstico, el sexo, la duración de la diabetes, la presencia de obesidad y el grado de control glucémico (cuando el estadístico de Wald arrojó $p \leq 0.05$). Se consideró un valor de $P < 0.05$ como estadísticamente significativo para la asociación.

Estos análisis se realizaron con el paquete estadístico SPSS v15.0 para Windows SPSS, Inc. Chicago, IL. USA. Al realizar la prueba de χ^2 mediante el programa R 2.7.1 para determinar el ajuste de la muestra con el equilibrio de Hardy-Weinberg se obtuvo una p de 0.40, que indica que no parece haber factores distorsionadores sobre la población seleccionada que provocaran una desviación de este equilibrio y lo cuál valida su análisis.

VII. RESULTADOS

Características de los pacientes

Fueron evaluados 168 pacientes. La edad promedio fue de 53.7 ± 10.5 años, 51.2 % fueron mujeres y el IMC promedio de 27.7 ± 5.3 kg/m². El 84.4 % tenían antecedentes familiares de diabetes en línea directa y el 66.2 % habían sido obesos. La edad promedio al diagnóstico fue de 32.9 ± 5.5 años (un 75.6 % de los pacientes se diagnosticaron entre la edad de 30 a 40 años). La duración promedio de la diabetes fue de 21 ± 8.5 años (un 49.4 % tenían más de 20 años de evolución).

Al momento de la evaluación solo el 30.3 % de los pacientes eran obesos y un 36.4 % tenían sobrepeso. La mayoría de los pacientes tenían alteraciones metabólicas: 78 % tenían síndrome metabólico, 56 % eran hipertensos, 60.7 % tenían hipertrigliceridemia, 58.3 % hipoalfalipoproteinemia y 57.7 % niveles de LDL mayores de 130 mg/dl. Otras alteraciones metabólicas observadas fueron acantosis nigricans en el 40.4 %, hiperuricemia en el 19.1 % y antecedentes de gota en el 7.1 %.

Como parte de su tratamiento, 79.2 % se aplicaban insulina, cuya mediana fue 13 años después de establecido el diagnóstico. El 57.7 % de la población evaluada se aplicaba la insulina en combinación con hipoglucemiantes orales. La mayoría de los pacientes tenían un descontrol metabólico importante (HbA1c; 9.9 ± 2 %). Solo 9 pacientes (5.4 %) tuvieron un excelente control de la glucemia (HbA1c < 7%) y en contraparte el 65.6 % presentaban un descontrol glucémico importante (HbA1c >9%). El porcentaje de pacientes tomando estatinas fue de 49.4 %, el de fibratos 38.7 %, el de antihipertensivos 70.8 % y el de aspirina de 70.8 %.

Al comparar ambos sexos (tabla 1), no hubo diferencias significativas en cuanto a sus características clínicas, excepto que el grupo de mujeres tenía un porcentaje mayor de obesidad (38.8 % vs 21.3 %, $p=0.01$) y un porcentaje menor de hipoalfalipoproteinemia (47.7 % vs 69.5 %, $p = 0.004$).

En lo que respecta a las características socioeconómicas el 37.8 % de los pacientes pertenecía a un estrato socioeconómico bajo y un 54.9 % a un estrato medio. Una gran parte de los pacientes (59.7 %) contaban con estudios de secundaria, preparatoria o licenciatura, mientras el resto contaban con una escolaridad máxima de primaria.

Complicaciones de los pacientes

La mayoría de los pacientes (76.8 %) presentó al menos una complicación ya sea micro o macrovascular, cetoacidosis o hipoglucemia (tabla 2). No obstante, enfocándonos en la función renal un 50.9 % tenían albuminuria normal y el 83.3 % de los pacientes tenían un valor de creatinina menor de 2 mg/dl.

En lo referente a la prevalencia de complicaciones microvasculares se observó neuropatía periférica sintomática en el 33.9 %, retinopatía no proliferativa leve a moderada en 32.9 %, retinopatía diabética grave en el 34.2 %, microalbuminuria en 21.8 %, proteinuria subnefrótica en 22.4 % y pie diabético en 17.9 %. El porcentaje de pacientes en diálisis o transplantados fue de 9.5 %.

En lo que respecta a las complicaciones macrovasculares se encontró cardiopatía isquémica en un 12.5% y claudicación intermitente en 5.4 %. Un 12.5 % de los pacientes desarrollaron cetoacidosis en alguna ocasión, un 11.9 % tuvieron al menos un evento de hipoglucemia grave.

Variables asociadas al control glucémico y la presencia de complicaciones

El nivel de control glucémico fue peor en grupos con duración de la enfermedad < 20 años (HbA1c de 10.24 ± 2.2 vs HbA1c 9.57 ± 1.69 , $p = 0.031$ comparado con grupos con duración > 20 años). La duración de la diabetes fue claramente relacionada con mayor prevalencia de complicaciones (tabla 3). En los pacientes con una duración de la enfermedad mayor de 20 años comparado con aquellos con una duración menor de 20 años, se observó mayor porcentaje de proteinuria > 3 gr/24 hrs ($p = 0.003$), de IRC (creatinina > 2 mg/dl, $p = 0.006$), un número mayor de pacientes en diálisis o trasplantados ($p = 0.007$), mas retinopatía grave ($p = 0.000$), neuropatía periférica ($p = 0.011$) y pie diabético ($p = 0.004$). También se observó mayor porcentaje de cardiopatía isquémica (11.9 % vs 0.6 %, $p = 0.000$) pero en lo referente a claudicación no se observó significancia estadística (4.2 % vs 1.2 %, $p = 0.096$). Cualquier complicación fue más prevalente en el grupo con mayor duración de la enfermedad (44.6 % vs 32.1 %, $p = 0.00$). Por otra parte se observó que dividiendo a los pacientes de acuerdo a grupos de nivel de control glucémico (< 7 %, 7-9 %, > 9 %) la mayor tasa de complicaciones fue directamente proporcional al mayor nivel de descontrol (aunque solo hubo tendencia estadísticamente significativa en retinopatía no proliferativa leve a moderada y retinopatía grave en pacientes con HbA1c > 7 % comparado con aquellos con HbA1c < 7 % ($p = 0.061$ y 0.023 respectivamente). Al comparar la prevalencia de complicaciones en ambos sexos, con excepción de lo referente a microalbuminuria en donde se observaron frecuencias similares, los hombres tuvieron mayor porcentaje de complicaciones microvasculares en comparación con las mujeres (tabla 2). Así mismo se observó mayor frecuencia de cardiopatía isquémica (18.3 % vs 7 %, $p = 0.035$). Los resultados no consiguieron significancia en lo que respecta a mayor porcentaje de claudicación, ni hipoglucemia. Los hombres tuvieron mayor frecuencia de cetoacidosis diabética ($p = 0.035$). Llevando a cabo un ajuste para estas 2 variables (sexo y duración de la diabetes), se observó que ambas de forma independiente fueron más frecuentemente encontradas ante la presencia de complicaciones con significancia estadística (excepto en claudicación). En el ajuste para otras variables, solo algunas complicaciones microvasculares tuvieron mayor frecuencia para edad al diagnóstico > 30 años, aplicación de insulina y síndrome metabólico, ninguna de las complicaciones macrovasculares. Ni el grado de control glucémico, ni la presencia de obesidad se asociaron de forma significativa con las complicaciones.

Variantes genéticas R230C/C230C del gen ABCA1, CT/CC (rs13263634) del gen SCL30A8 y su relación con complicaciones

Del total de diabéticos estudiados, la prevalencia de la variante de riesgo R230C/C230C del gen ABCA1 fue de 30.3 % (tabla 4 y 5). Se observó que para la mayoría de las complicaciones microvasculares, agrupando como presente contra ausente y grave contra leve, el alelo de riesgo fue discretamente más frecuente (excepto en la presencia de neuropatía en que el alelo de riesgo se presentó con menor frecuencia). No obstante solo se observó significancia estadística para los pacientes con requerimiento de diálisis o con trasplante, en donde la frecuencia del alelo de riesgo fue 4.29 veces mayor ($p=0.010$). Llevando a cabo un ajuste para la mayor duración de la enfermedad y el sexo masculino, esta mayor frecuencia permaneció (OR 5.27, $p = 0.009$). Además se observó mayor frecuencia del alelo de riesgo ante presencia de retinopatía (OR 2.789, $p = 0.040$), pero no ante retinopatía grave (OR 1.457, $p =0.386$), ni neuropatía periférica (OR 0.495, $p = 0.110$), ni pie diabético (OR 1.333, $p = 0.565$). Algo similar ocurrió adicionando al ajuste la edad al diagnóstico, la presencia de obesidad, síndrome metabólico y el grado de control glucémico. En cuanto a la presencia de complicaciones macrovasculares, ni la cardiopatía isquémica ni la presencia de claudicación se asociaron con una mayor frecuencia del alelo de riesgo. En los pacientes con uso de insulina, la frecuencia del alelo de riesgo fue menor (65.1 % vs 85.9 %, OR 0.307, $p= 0.005$). No se asoció con una mayor frecuencia entre pacientes con tiempo de inicio de insulina menor a 10 años al diagnóstico comparado con aquellos con más de 10 años (37.9 % vs 38.1 %, OR 0.993, $p= 1.00$).

En lo que respecta a la variante de riesgo del gen SCL30A8 (CT/CC de rs13263634), la frecuencia del alelo de riesgo en la población estudiada fue de 85.6 % (Tabla 6 y 7). Se observó que entre los pacientes en diálisis o con trasplante, la frecuencia de este alelo de riesgo fue menor (3.7 % vs 27.8 %, OR 0.101, $p= 0.00$) además se sugirió su menor prevalencia en cuanto al resto de complicaciones renales pero sin obtener poder estadístico. Tampoco hubo significancia estadística para el resto de complicaciones microvasculares en donde la frecuencia del alelo de riesgo fue discretamente mayor.

Aun ajustando ante la presencia de mayor duración de la enfermedad y sexo masculino, el OR para el alelo de riesgo fue menor para pacientes en diálisis o trasplantados (OR 0.049, $p = 0.001$, lo que permaneció significativo adicionando al ajuste la edad al diagnóstico, la presencia de obesidad, síndrome metabólico y el grado de control glucémico).

Tabla 1. Características clínicas y metabólicas de los pacientes con diabetes tipo 2 de inicio temprano de acuerdo al sexo.

VARIABLE	Masculino (n= 82)	Femenino (n= 86)	Valor de p	Grupo total (n=168)
Edad (años)	54.1 ± 8.6	53.3 ±12	0.61	54 ± 10.5
Edad al diagnóstico	32.9 ± 4.4	32.8 ± 6.4	0.47	32.9 ± 5.5
Obesidad actual n(%)	17 (21.3 %)	33 (38.8 %)	0.01	50 (30.3 %)
Ant. personales de obesidad n(%)	49 (67.1 %)	51 (65.4 %)	0.86	100 (66.2 %)
Acantosis nigricans n(%)	22 (40.7 %)	22 (40 %)	1.00	44 (40.4 %)
Hipertensión n(%)	49 (59.8 %)	45 (52.3 %)	0.35	94 (56 %)
Hipertrigliceridemia n(%)	51 (62.2 %)	51 (59.3 %)	0.75	102 (60.7 %)
Hipoalfalipoproteinemia n(%)	57 (69.5 %)	41 (47.7 %)	0.004	98 (58.3 %)
Dislipidemia mixta n(%)	26 (31.7 %)	26 (30.2 %)	0.86	52 (31 %)
Síndrome metabólico n(%)	66 (80.5 %)	65 (75.6 %)	0.46	131 (78 %)
Duración de la diabetes (años)	21.1 ± 7.1	20.9 ± 9.7	0.87	21 ± 8.5
HbA1c (%)	9.98 ± 2	9.85 ± 2	0.84	9.91 ± 2
Insulino requirientes n(%)	68 (82.9 %)	65 (75.6 %)	0.26	133 (79.2 %)
Tiempo transcurrido para el inicio de insulina (años)	13 ± 6.4	15.2 ± 8.4	0.25	14.1 ± 7.5

Tabla 2. Complicaciones en los pacientes con diabetes tipo 2 de inicio temprano de acuerdo al sexo.

VARIABLE	Masculino (n= 82)	Femenino (n= 86)	Valor de p	Grupo total (n=168)
Cualquier complicación n(%)	73 (89 %)	56 (65.1 %)	0.00	129 (76.8 %)
Microalbuminuria n(%)	18 (22.5%)	18 (21.2 %)	0.11	36 (21.4 %)
Proteinuria subnefrotica n (%)	27 (33.8 %)	10 (11.8 %)	0.000	37 (22.4 %)
Proteinuria > 3 gr/24 hr n(%)	6 (7.5 %)	2 (2.4 %)	0.024	8 (4.8 %)
En diálisis o trasplantado renal n(%)	11 (13.4 %)	5 (5.8 %)	0.09	16 (9.5 %)
Retinopatía no proliferativa leve a moderada n(%)	29 (36.7 %)	24 (29.3 %)	0.010	53 (32.9 %)
Retinopatía grave n(%)	34 (43 %)	21 (25.6 %)	0.000	55 (34.2 %)
Neuropatía periférica n(%)	36 (43.9 %)	21(24.4 %)	0.008	57 (33.9 %)
Pie diabético n(%)	21 (25.6 %)	9 (10.5 %)	0.010	30 (17.9 %)
Cardiopatía isquémica n(%)	15 (18.3 %)	6 (7 %)	0.035	21 (12.5 %)
Claudicación n(%)	6 (7.3 %)	3 (3.5 %)	0.32	9 (5.4 %)
Cetoacidosis diabética n(%)	15 (18.3 %)	6 (7 %)	0.035	21 (12.5 %)
Hipoglucemia n(%)	13 (15.9 %)	7 (8.1 %)	0.15	20 (11.9 %)

Tabla 3. Complicaciones en los pacientes con diabetes tipo 2 de inicio temprano en relación con la duración de la enfermedad.

VARIABLE	Duración < 20 años (n= 85)	Duración > 20 años (n= 83)	Valor de p	Grupo total (n=168)
Cualquier complicación n(%)	54 (32.1 %)	75 (44.6 %)	0.00	129 (76.8 %)
Microalbuminuria n(%)	21 (12.7%)	15 (9.1 %)	0.71	36 (21.8 %)
Proteinuria subnefrótica n(%)	17 (10.3 %)	20 (12.1 %)	0.37	37 (22.4 %)
Proteinuria > 3 gr/24 hr n(%)	0 (0 %)	8 (4.8 %)	0.003	8 (4.8 %)
Creatinina > 2 mg/dl n(%)	2 (1.2 %)	10 (6 %)	0.006	12 (7.2 %)
En diálisis o transplantado renal n(%)	3 (1.8 %)	13 (7.7 %)	0.007	16 (9.5 %)
Retinopatía no proliferativa leve a moderada n(%)	26 (16.1 %)	27 (16.8 %)	0.001	53 (32.9 %)
Retinopatía grave n(%)	12 (7.5 %)	43 (26.7 %)	0.000	55 (34.2 %)
Neuropatía periférica n(%)	21 (12.5 %)	36 (21.4 %)	0.011	57 (33.9 %)
Pie diabético n(%)	8 (4.8 %)	22 (13.1 %)	0.004	30 (17.9 %)
Claudicación n(%)	2 (1.2 %)	7 (4.2 %)	0.097	9 (5.4 %)
Cardiopatía isquémica n(%)	1 (0.6 %)	20 (11.9 %)	0.000	21 (12.5 %)
Control glucémico (%)	10.24 ± 2.2	9.57 ± 1.7	0.031	9.91 ± 2
Aplicación de insulina n(%)	63 (74.1 %)	70 (84.3 %)	0.12	133 (79.2 %)

Tabla 4. Frecuencia de la variante de ABCA1 en diabéticos de inicio temprano en relación con la presencia o ausencia de complicaciones.

Complicaciones	Genotipo n (%)		OR	Valor de p
	R230R	R230C/C230C		
	99 (69.7 %)	43 (30.3 %)		
Retinopatía presente (n = 93)	60 (65.2 %)	33 (76.7 %)	1.760	0.232
Retinopatía ausente (n = 42)	32 (34.8 %)	10 (23.3 %)		
Retinopatía grave (n= 46)	30 (32.6 %)	16 (37.2 %)	1.225	0.697
Sin retinopatía grave (n= 89)	62 (67.4 %)	27 (62.8 %)		
Cualquier grado de albuminuria (n = 72)	48 (49.5 %)	24 (57.1 %)	1.306	0.579
Sin microalbuminuria (n = 67)	49 (50.5 %)	18 (42.9 %)		
Proteinuria grave (n= 40)	26 (26.8 %)	14 (33.3 %)	1.365	0.541
Proteinuria leve (n= 99)	71 (73.2 %)	28 (66.7 %)		
En diálisis o trasplantado (n = 13)	5 (5.1 %)	8 (18.6 %)	4.297	0.010
Sin diálisis o trasplante (n = 129)	94 (94.9 %)	35 (81.4 %)		
Con nefropatía grave (n = 24)	13 (13.4 %)	11 (25.6 %)	2.221	0.092
Sin nefropatía grave (n = 116)	84 (86.6 %)	32 (74.4 %)		
Neuropatía periférica grave (n = 45)	36 (36.4 %)	9 (20.9 %)	0.463	0.080
Sin neuropatía periférica (n = 97)	63 (63.6 %)	34 (79.1 %)		
Historia de pie diabético (n = 24)	16 (16.2 %)	8 (18.6 %)	1.186	0.808
Sin historia de pie diabético (n = 118)	83 (83.8 %)	35 (81.4 %)		
Con cardiopatía isquémica (n = 19)	14 (14.1 %)	5 (11.6 %)	0.799	0.793
Sin cardiopatía isquémica (n = 123)	85 (85.9 %)	38 (88.4 %)		
Claudicación (n = 7)	7 (7.1 %)	0 (0 %)	---	0.102
Sin claudicación (n = 135)	92 (92.9 %)	43 (100 %)		
Usa insulina (n = 113)	85 (85.9 %)	28 (65.1 %)	0.307	0.005
No usa insulina (n = 29)	14 (14.1 %)	15 (34.9 %)		
Inicio de insulina < 10 años al dx (n=43)	32 (38.1 %)	11 (37.9 %)	0.993	1.00
Inicio de insulina > 10 años al dx (n=70)	52 (61.9 %)	18 (62.1 %)		

Tabla 5. Frecuencia de la variante de ABCA1 homocigota en diabéticos de inicio temprano en relación con la presencia o ausencia de complicaciones.

Complicaciones	Genotipo n (%)		OR	Valor de p
	R230R/R230C	C230C		
	128 (90.1 %)	14 (9.9 %)		
Retinopatía presente (n = 93)	80 (66.1 %)	13 (92.9 %)	6.663	0.063
Retinopatía ausente (n = 42)	41 (33.9 %)	1 (7.1 %)		
Retinopatía grave (n= 46)	41 (33.9 %)	5 (35.7 %)	1.084	1.00
Sin retinopatía grave (n= 89)	80 (66.1 %)	9 (64.3 %)		
Cualquier grado de albuminuria (n = 73)	65 (51.6 %)	8 (61.5 %)	1.502	0.569
Sin microalbuminuria (n = 66)	61 (48.4 %)	5 (38.5 %)		
Proteinuria grave (n = 40)	34 (27 %)	6 (46.2 %)	2.319	0.196
Proteinuria leve (n = 99)	92 (73 %)	7 (53.8 %)		
En diálisis o trasplantado (n = 13)	6 (4.7 %)	7 (50 %)	20.333	0.000
Sin diálisis o trasplante (n = 129)	122 (95.3 %)	7 (50 %)		
Con nefropatía grave (n = 24)	17 (13.5 %)	7 (50 %)	6.412	0.001
Sin nefropatía grave (n = 116)	109 (86.5 %)	7 (50 %)		
Neuropatía periférica grave (n = 45)	40 (41.3 %)	5 (35.7 %)	1.222	0.766
Sin neuropatía periférica (n = 97)	88 (68.8 %)	9 (64.3 %)		
Historia de pie diabético (n = 24)	22 (17.2 %)	2 (14.3 %)	0.803	1.00
Sin historia de pie diabético (n = 118)	106 (82.8 %)	12 (85.7 %)		
Con cardiopatía isquémica (n = 19)	17 (13.3 %)	2 (14.3 %)	1.088	1.00
Sin cardiopatía isquémica (n = 123)	111 (86.7 %)	12 (85.7 %)		
Claudicación (n = 7)	7 (5.5 %)	0 (0 %)	---	1.00
Sin claudicación (n = 135)	121 (94.5 %)	14 (100 %)		
Usa insulina (n = 131)	103 (80.5 %)	28 (65.1 %)	0.607	0.485
No usa insulina (n = 40)	25 (19.5 %)	15 (34.9 %)		
Inicio de insulina < 10 años al dx (n = 49)	39 (37.9 %)	10 (71.4%)	1.094	1.00
Inicio de insulina > 10 años al dx (n = 68)	64 (62.1 %)	4 (28.6 %)		

Tabla 6. Frecuencia de la variante rs13263634 del gen SCL30A8 en diabéticos de inicio temprano de acuerdo en relación con la presencia o ausencia de complicaciones.

Complicaciones	Genotipo n (%)		OR	Valor de p
	TT	CT/CC		
	18 (14.4 %)	107 (85.6 %)		
Retinopatía presente (n = 84)	12 (66.7 %)	72 (71.3 %)	1.241	0.780
Retinopatía ausente (n = 35)	6 (33.3 %)	29 (28.7 %)		
Retinopatía grave (n= 37)	5 (27.8 %)	32 (31.7 %)	1.206	1.00
Sin retinopatía grave (n= 82)	13 (72.2 %)	69 (68.3 %)		
Cualquier grado de albuminuria (n = 54)	6 35.3 %)	48 (45.3 %)	1.517	0.600
Sin microalbuminuria (n = 69)	11 (64.7 %)	58 (54.7 %)		
Proteinuria grave (n= 29)	5 (29.4 %)	25 (23.6 %)	0.741	0.559
Proteinuria leve (n= 93)	12 (70.6 %)	81 (76.4 %)		
En diálisis o transplantado (n = 9)	5 (27.8 %)	4 (3.7 %)	0.101	0.000
Sin diálisis o trasplante (n = 116)	13 (72.2 %)	103 (96.3 %)		
Con nefropatía grave (n= 19)	5 (27.8 %)	14 (13.2 %)	0.369	0.151
Sin nefropatía grave (n= 105)	13 (72.2 %)	92 (86.8 %)		
Neuropatía periférica grave (n = 41)	4 (22.2 %)	37 (34.6 %)	1.850	0.418
Sin neuropatía periférica (n = 84)	14 (77.8 %)	70 (75.4 %)		
Historia de pie diabético (n = 22)	2 (11.1 %)	20 (18.7 %)	1.839	0.738
Sin historia de pie diabético (n = 103)	16 (88.9 %)	87 (81.3 %)		
Con cardiopatía isquémica (n = 13)	3 (16.7 %)	10 (9.3 %)	0.515	0.399
Sin cardiopatía isquémica (n = 112)	15 (83.3 %)	97 (90.7 %)		
Claudicación (n = 6)	0 (0 %)	6 (5.6 %)	---	0.592
Sin claudicación (n = 119)	18 (100 %)	101 (94.4 %)		
Usa insulina (n = 100)	12 (66.7 %)	88 (82.2 %)	2.316	0.198
No usa insulina (n = 25)	6 (33.3 %)	19 (17.8 %)		
Inicio de insulina < 10 años al dx (n=42)	3 (25 %)	39 (44.3 %)	2.388	0.232
Inicio de insulina > 10 años al dx (n=58)	9 (75 %)	49 (55.7 %)		

Tabla 7. Frecuencia de la variante rs13263634 del gen SCL30A8 homocigota en diabéticos de inicio temprano de acuerdo en relación con la presencia o ausencia de complicaciones.

Complicaciones	Genotipo n (%)		OR	Valor de p
	TT/CT	CC		
	56 (44.8 %)	69 (55.2 %)		
Retinopatía presente (n = 84)	33 (62.3 %)	51 (77.3 %)	2.061	0.105
Retinopatía ausente (n = 35)	20 (37.7 %)	15 (22.7 %)		
Retinopatía grave (n= 37)	17 (32.1 %)	20 (30.3 %)	0.921	0.845
Sin retinopatía grave (n= 82)	36 (67.9 %)	46 (69.7 %)		
Cualquier grado de albuminuria (n = 54)	25 (45.5 %)	29 (42.6 %)	0.892	0.855
Sin microalbuminuria (n = 69)	30 (54.5 %)	39 (57.4 %)		
Proteinuria grave (n= 30)	19 (34.5 %)	11 (16.2 %)	0.366	0.018
Proteinuria leve (n= 93)	36 (65.5 %)	57 (83.8 %)		
En diálisis o transplantado (n = 9)	6 (10.7 %)	3 (4.3 %)	0.379	0.297
Sin diálisis o trasplante (n = 116)	50 (89.3 %)	66 (95.7 %)		
Con nefropatía grave (n= 19)	11 (19.6 %)	8 (11.8 %)	0.545	0.317
Sin nefropatía grave (n= 105)	45 (80.4 %)	60 (88.2 %)		
Neuropatía periférica grave (n = 41)	16 (28.6 %)	25 (36.2 %)	1.420	0.444
Sin neuropatía periférica (n = 84)	40 (71.4 %)	44 (63.8 %)		
Historia de pie diabético (n = 22)	9 (16.1 %)	13 (18.8 %)	1.212	0.814
Sin historia de pie diabético (n = 103)	47 (83.9 %)	56 (81.2 %)		
Con cardiopatía isquémica (n = 9)	8 (14.3 %)	5 (7.2 %)	0.469	0.245
Sin cardiopatía isquémica (n =112)	48 (85.7 %)	64 (92.8 %)		
Claudicación (n = 6)	2 (3.6 %)	4 (5.8 %)	1.662	0.690
Sin claudicación (n = 119)	54 (96.4 %)	65 (94.2 %)		
Usa insulina (n = 100)	42 (75 %)	58 (84.1 %)	1.758	0.262
No usa insulina (n = 25)	14 (25 %)	11 (15.9 %)		
Inicio de insulina < 10 años al dx (n=42)	15 (35.7 %)	27 (46.6 %)	1.568	0.310
Inicio de insulina > 10 años al dx (n=58)	27 (64.3 %)	31 (53.4 %)		

VIII. DISCUSIÓN

Se observó una tasa alta de cualquier complicación en los pacientes evaluados (76.8 % de los casos) en una edad promedio de 54 ± 10.5 años. El 48.6 % de los pacientes tuvieron algún tipo de afección renal (desde microalbuminuria a proteinuria > 3 gr en 24 hrs), mientras un 16.7 % tuvieron insuficiencia renal crónica con creatinina > 2 mg/dl, requirieron diálisis o de trasplante renal. La retinopatía diabética se presentó en el 67.1 % y aproximadamente la mitad de los pacientes había desarrollado retinopatía grave. Esto en acuerdo con otros estudios en donde se reporta una alta prevalencia de complicaciones tanto micro como macrovasculares en pacientes diabéticos tipo 2 de inicio temprano en una edad aun productiva (27,28). Dado que nuestra población sigue siendo conformada mayoritariamente por personas en edad productiva y como se ha mencionado, un alto porcentaje de nuestra población diabética (21.5 %) tiene una edad menor de 40 años, esto representa una gran carga económica en gastos de salud tanto para el país y las familias mexicanas involucradas en el cuidado de estos pacientes. Es preocupante el hecho de que en la encuesta nacional de salud realizada en el 2006 (29), más de dos terceras partes de los diabéticos con inicio temprano de la enfermedad solo fueron diagnosticados en el momento de la encuesta, lo que implica un mayor riesgo para la aparición de complicaciones al privar a los pacientes de las medidas correctivas.

Un 78 % de los pacientes de nuestro estudio tuvieron síndrome metabólico y 66.2 % fueron obesos en el diagnóstico de la enfermedad. Aunque es bien conocido que la diabetes tipo 2 es una enfermedad heterogénea que es ocasionada por diversos factores, al menos podríamos afirmar que para nuestro medio hay una contribución importante de los componentes del síndrome metabólico en su desarrollo. Lo que se reportó en la última encuesta nacional de salud fue que un 77 % de los diabéticos de inicio temprano tuvieron sobrepeso u obesidad (29). Por otra parte como se ha observado en otros estudios (27,28), nuestro resultados demostraron que la prevalencia de complicaciones tanto micro como macrovasculares es mayor en aquellos pacientes con mayor tiempo de evolución de la enfermedad (más de 20 años), esto fue independiente de la presencia de otras variables como edad al diagnóstico de la enfermedad, el uso temprano de insulina y la presencia de síndrome metabólico u obesidad.

Diversos estudios han demostrado que tanto las complicaciones microvasculares como macrovasculares son menos frecuentes en pacientes diabéticos con un control estricto de la glucosa (35). No obstante han comparado en general a grupos de pacientes con Hb. glucosilada < 7 % contra > 7 %. En nuestro grupo de diabéticos, el número de pacientes que permanecieron con un excelente control glucémico (Hb. glucosilada < 7 %) fue escaso (9 pacientes) y esto pudo haber inflado nuestro porcentaje de complicaciones. Por otra parte el mayor porcentaje de complicaciones tanto micro como macrovasculares observadas en el grupo de hombres puede estar en relación con una variable no medida en el estudio. Es posible que exista un sesgo de referencia ya que mientras en nuestro país las mujeres suelen asistir a nuestra consulta aun en la ausencia de importantes comorbilidades, los hombres en general solo lo hacen cuando desarrollan comorbilidades importantes que limitan su calidad de vida. En cuanto al desarrollo de complicaciones macrovasculares es bien conocido que los factores mayormente asociados con su desarrollo son la presencia de los componentes del síndrome metabólico (obesidad, hipertensión, dislipidemia), la edad, el sexo, otros factores como

tabaquismo y en los pacientes con DM tipo2 la tasa de eventos cardiovasculares y mortalidad es mayor tanto más factores de riesgo estén presentes ⁽³⁶⁾.

En el presente estudio la frecuencia del genotipo R230C/C230C de ABCA1 fue de 30.3 %, cifra elevada con respecto a la población mexicana sin diabetes (12.6 %). También la frecuencia de la variante CT/CC del gen SCL30A8 fue relativamente alta en nuestra población de diabéticos de inicio temprano (85.6 %) en comparación con la población mexicana sin diabetes (59.7 %). La frecuencia de la variante de riesgo de ABCA1 fue claramente mayor en los pacientes diabéticos en diálisis o con trasplante (OR 4.297, $p = 0.010$) y en aquellos con retinopatía diabética (OR 2.789, $p = 0.040$), aun en el ajuste para otras variables confusoras. Esto sugiere que puede haber SNP cercanos a esta variante de riesgo cuya disfunción pudiera influir en una mayor prevalencia de complicaciones renales y en retina, o bien que la variante normal de ABCA1 cumpla funciones de protección en estos tejidos y la presencia del alelo de riesgo favorezca el desarrollo de una proteína poco funcional incapaz de brindar protección frente a agresiones ambientales como dislipidemia, hiperglucemia, etc. Cabe mencionar que el alelo de riesgo se presentó con menor frecuencia entre los pacientes que usaron insulina, lo que se contrapone con la teoría del defecto secretor en la insulina presente en los pacientes con el alelo de riesgo ya corroborado en otros estudios ⁽²³⁾. Puede ser que la influencia de este defecto sea marginal en comparación con otros factores claramente asociados con más complicaciones.

Por el contrario, el alelo de riesgo del gen SCL30A8 fue menos frecuentemente encontrado en los pacientes en diálisis o con trasplante (OR 0.101, $p = 0.000$) aun en el ajuste para otras variables confusoras. Al parecer este alelo no tiene ningún efecto sobre el desarrollo de complicaciones tanto micro como macrovasculares y nuestro estudio no fue capaz de demostrar poder estadístico significativo para un uso de insulina más temprano y mayor porcentaje de aplicación de insulina.

Al momento actual no se han realizado estudios que relacionen estas variantes de riesgo con el desarrollo de complicaciones en diabéticos tipo 2 de inicio temprano. La mayoría de los estudios se han enfocado en demostrar mayor frecuencia de estos alelos en individuos con diabetes comparados con controles y en establecer su poder predictivo para prediabetes ⁽³⁷⁾. Para estas y otras variantes aun no se conoce el papel fisiopatológico exacto que juegan en el desarrollo de la diabetes. Este estudio exploró la influencia de 2 variantes genéticas ante la presencia de complicaciones en un grupo de individuos con diabetes de inicio temprano. Los resultados apoyaron que existe un efecto para el desarrollo de complicaciones microvasculares en los pacientes con estos alelos de riesgo. Sin embargo el tamaño de la muestra evaluada en este estudio fue relativamente pequeño y será necesaria la realización de otros estudios con un tamaño de muestra mayor antes de establecer las conclusiones definitivas.

IX. CONCLUSIONES

La DM tipo 2 de inicio temprano constituye un grave problema de salud pública. La aparición temprana asociado con el tiempo de evolución más largo y un descontrol crónico contribuyen a la alta frecuencia de complicaciones y probablemente a tasas elevadas de mortalidad en este grupo de individuos. Se requieren en forma urgente medidas de Salud Pública que ayuden a frenar la epidemia de obesidad, promover una mayor actividad física, educación en salud y el diagnóstico temprano de la enfermedad. Se corrobora los datos obtenidos en otros estudios acerca de las complicaciones y características metabólicas de estos individuos. En lo que respecta a los alelos de riesgo R230C/C230C de ABCA1 y rs13266634 del gen SLC30A8, constituyen un factor de riesgo discreto para el desarrollo de DM tipo 2 de inicio temprano, y sobre todo para el caso de la variante de riesgo de ABCA1, pudiera asociarse con una mayor incidencia de complicaciones en los individuos que la poseen.

X. REFERENCIAS

- 1.- L Fagot-Campagna A, Pettitt DJ, Engelgau MM, Burrows NR, Geiss LS, Valdez Beckles GL, Saaddine J, Gregg EW, Williamson DF, Narayan KM: Type 2 diabetes among North American children and adolescents: an epidemiologic review and a public health perspective. *J Pediatr* 136: 664–672, 2000.
- 2.- Dean H, Flett B. Natural history of type 2 diabetes diagnosed in childhood: long-term follow-up in young adult years. *Diabetes* 2002; 51(S2):A24.
- 3.- American Diabetes Association: Type 2 diabetes in children and adolescents (Consensus Statement). *Diabetes Care* 23: 381–389, 2000.
- 4.- Hillier TA, Pedula KL. Complication in young adults with early-onset type 2 diabetes: losing the relative protection of youth. *Diabetes Care*. 2003; 26:2999-3005.
- 5.- Meda E, Pavkov, Peter H. Bennett, William C Knowler, Jonathan Krakoff, Maurice L. Sievers, Robert G. Nelson. Effect of Youth-Onset type 2 Diabetes Mellitus on incidence of End-Stage Renal Disease and Mortality in Young and Middle-Aged Pima Indians. *JAMA*. 2006; 296: 421-426.
- 6.- Hale DE, Danney KM. Non-insulin dependent diabetes in Hispanic youth (type 2). *Diabetes* 1998; 47(Suppl 1):A82.
- 7.- Scott CR, Smith JM. Characteristics of Youth-onset Noninsulin-dependent Diabetes Mellitus and Insulin-dependent Diabetes Mellitus at Diagnosis. *Pediatrics* 1997;100:84-91.
- 8.- Sobngwi E, Gautier JF: Adult-onset idiopathic type I or ketosis-prone type II diabetes: evidence to revisit diabetes classification. *Diabetologia* 45:283–285, 2002.
- 9.- Hillier TA, Pedula KL: Characteristics of an adult population with newly diagnosed type 2 diabetes: the relation of obesity and age of onset. *Diabetes Care* 24: 1522–1527, 2001.
- 10.- Zimmet P, Turner R, McCarty D, et al. Crucial points at diagnosis: type 2 diabetes or slow type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1999; 22(Suppl 2):B59– 64.
- 11.- Gungor N, Hannon T, Libman I, Bacha F, Arslanian S. Type 2 diabetes mellitus in youth: The complete picture to date. *Pediatr Clin N Am* 2005; 52: 1579-1609.
- 12.- Ridderstrale M, Groop L. Genetic dissection of type 2 diabetes. *Molecular and Cellular Endocrinology* 297 (2009) 10–17.
- 5- King H, Aubert R, Herman W. Global burden of diabetes, 1995– 2025. *Diabetes Care*. 1998; 21: 1414–1431.
- 13.- Mokdad AH, Bowman BA, Ford ES, Vinicor F, Marks JS, Koplan JP: The continuing epidemics of obesity and diabetes in the United States. *JAMA* 286:1195–1200, 2001.
- 14.- Rios Burrows N, Geiss L, Engelgau M, Acton K. Prevalence of diabetes among native American and Alaska natives 1990–1997. *Diabetes Care*. 2000;23:1786–1790.
- 15.- Hillier TA, Pedula KL. Characteristics of an Adult Population With Newly Diagnosed Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 24:1522–1527, 2001.

- 16.- Guzmán JN, Madrigal BE. Revisión de las características clínicas, metabólicas y genéticas de la diabetes mellitus. *Bioquímica* vol. 28 No. 2, 14-23, 2003.
- 17.- Soo Park K. The Search for Genetic Risk Factors of Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes Metab J* 2011;35:12-22.
- 18.- Lyssenko V, Groop L. Genome-wide association study for type 2 diabetes: clinical applications. *Current Opinion in Lipidology* 2009, 20:87–91.
19. Aguilar SC, Cruz-Bautista I, Mehta R, Villarreal-Molina MT, Perez FJ, Tusié-Luna MT, Canizales-Quinteros S. The ATP-binding cassette transporter subfamily a member 1 (ABC-A1) and type 2 diabetes: an association beyond HDL cholesterol. *Curr Diabetes Rev.* 2007; 3:264-7.
- 20.- Villarreal MM, Aguilar SC. 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* 56:1881–1887, 2007.
13. Artículo en proceso de publicación por el grupo previo.
- 21.- Oram JF and Heinecke JW. ATP-binding cassette transporter A1: a cell cholesterol exporter that protects against cardiovascular disease. *Physiol Rev* 2005; 85:1343-1372.
- 22.- Brunham LR, Kruijt JK. B-cell ABCA1 influences insulin secretion, glucose homeostasis and response to thiazolidinedione treatment. *Nature Medicine*. Volume 13, number 3, march 2007.
- 23.- Villarreal-Molina MT, Flores-Dorantes MT, Arellano-Campos O, Villalobos-Comparan M, Rodríguez-Cruz M, Miliar-García A, Huertas-Vázquez A, Menjivar M, Romero-Hidalgo S, Wachter NH, Tusié-Luna MT, Cruz M, Aguilar-Salinas CA, Canizales-Quinteros S; Metabolic Study Group. Association of the ATP-binding cassette transporter A1 R230C variant with early-onset type 2 diabetes in a Mexican population. *Diabetes*. 2008; 57:509-13.
- 24.- Daimon M, Kido T, Baba M, Oizumi T, Jimbu Y, Kameda W, Yamaguchi H, Ohnuma H, Tominaga M, Muramatsu M, Kato T. Association of the ABCA1 gene polymorphisms with type 2 DM in a Japanese population. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005 Apr 1; 329(1):205-10.
- 25.- Weijers R. Three-dimensional structure of β -cell-specific zinc transporter, ZnT-8, predicted from the type 2 diabetes-associated gene variant SLC30A8 R325W. *Diabetology & Metabolic Syndrome* 2010, 2:33.
- 26.- Perry JR, Frayling T. New gene variants alter type 2 diabetes risk predominantly through reduced beta-cell function. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 2008, 11:371–377.
- 27.- Song SH, Hardisty CA. Early onset type 2 diabetes mellitus: a harbinger for complications in later years—clinical observation from a secondary care cohort. *Q J Med* 2009; 102:799–806.
- 28.- Hillier TA, Pedula KL. Complications in Young Adults With Early-Onset Type 2 Diabetes. Losing the relative protection of youth. *Diabetes Care* 26:2999–3005, 2003.
- 29.- Jiménez CA, Rojas R, Gómez Pérez FJ, Aguilar Salinas CA, . Early-onset type 2 diabetes in a Mexican survey. Results from the National Health and Nutrition Survey 2006. *Salud Publica Mex* 2010;52 supl 1:S27-S35.
- 30.- Aguilar-Salinas C. ; Velazquez O.; Gómez Perez F. et al. Prevalence and Characteristics of Early-Onset Type 2 Diabetes in Mexico. *Am J Med*. 2002;113:569 –574.
31. - Aguilar Salinas C, Reyes E; Ordoñez María Luisa;et al. Early-Onset Type 2 Diabetes: Metabolic and Genetic Characterization in the Mexican Population. *J Clin EndocrinolMetab* 86: 220–226, 2001.

- 32.- Frenk BP, Márquez E. Diabetes mellitus tipo 2 en niños y adolescentes. *Medicina Interna de México* Volumen 26, núm. 1, enero-febrero 2010.
- 33.- Expert Committee on Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. 1997 Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 20:1183–1197.
- 34.- Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert panel on detection, evaluation and treatment of high cholesterol. *JAMA*. 2001; 285:2486–2497.
- 35.- Turnbull FM, Abraira C. Intensive glucose control and macrovascular outcomes in type 2 diabetes. *Diabetologia* (2009) 52:2288–2298.
- 36.- Howard BV, Best LG. Coronary Heart Disease Risk Equivalence in Diabetes Depends on Concomitant Risk Factors. *Diabetes Care* 29:391–397, 2006.
- 37.- Staiger H, Machicao F. Novel Meta-Analysis-Derived Type 2 Diabetes Risk Loci Do Not Determine Prediabetic Phenotypes. *PLoS ONE* 3(8): e3019.