



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

**“ASOCIACIÓN DE POLIMORFISMOS DE UN SOLO  
NUCLEÓTIDO EN LOS GENES ABCA1, TCF7L2 Y  
SLC16A11 CON COMPLICACIONES  
MICROVASCULARES EN PACIENTES  
PEDIÁTRICOS CON DIABETES MELLITUS TIPO 2”**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:

**ENDOCRINOLOGÍA PEDIÁTRICA**

PRESENTA

DRA. CLAUDIA MONTSERRAT FLORES ROBLES

DIRECTOR DE TESIS:

DR. DARIO JORGE MARIO MOLINA DIAZ

DRA. AMÉRICA LILIANA MIRANDA LORA



Ciudad de México, Febrero 2017



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

HOJA DE FIRMAS

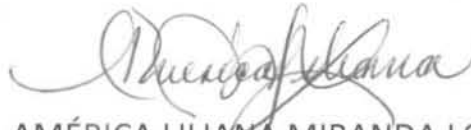
DRA. REBECA GÓMEZ CHICO VELASCO

DIRECTORA DE ENSEÑANZA Y DESARROLLO ACADÉMICO



DR. DARIO JORGE MARIO MOLINA DIAZ

MEDICO ADSCRITO AL DEPARTAMENTO DE ENDOCRINOLOGÍA



DRA. AMÉRICA LILIANA MIRANDA LORA

MEDICO ADSCRITO A LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN

DE MEDICINA BASADA EN LA EVIDENCIA

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

## **DEDICATORIAS**

A mis padres, por su guía y apoyo incondicional durante mi formación como profesionalista y persona.

A mi esposo por acompañarme durante todos mis logros y brincar conmigo todos los obstáculos.

## ÍNDICE

1. RESUMEN .....	5
2. INTRODUCCIÓN .....	6
3. MARCO TEÓRICO .....	8
Factores genéticos involucrados en el riesgo de DM2.....	8
Factores genéticos asociados con complicaciones de DM2.....	<b>12</b>
4. ANTECEDENTES .....	12
5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	14
Pregunta de investigación .....	<b>14</b>
6. JUSTIFICACIÓN.....	15
7. OBJETIVOS .....	16
Hipótesis .....	<b>16</b>
8. MÉTODOS.....	17
Consideraciones éticas.....	19
Plan de análisis estadístico.....	19
Descripción operacional de variables.....	<b>20</b>
9. RESULTADOS .....	21
10. DISCUSIÓN.....	24
11. CONCLUSIONES .....	26
12. LIMITACIÓN DEL ESTUDIO .....	27
13. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES .....	28
14. BIBLIOGRAFÍA .....	29
15. ANEXOS .....	32

## 1. RESUMEN

**Antecedentes.** La asociación más fuerte conocida entre susceptibilidad genética y Diabetes Mellitus 2 (DM2) la representan dos polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) del gen *TCF7L2*, uno de ellos ha sido recientemente asociado con la presencia de nefropatía diabética en adultos. En población mexicana dos SNP de los genes *ABCA1* y *SLC16A11* se han asociado con el desarrollo de DM2 a edad temprana, sin embargo se desconoce su asociación con el riesgo de complicaciones microvasculares.

**Objetivos.** Describir la asociación de los SNPs rs7903146 y rs12255372 del gen *TCF7L2*, rs9282541 del gen *ABCA1* y rs13342232 del gen *SLC16A11* con la presencia de complicaciones microvasculares (nefropatía y neuropatía) en niños y adolescentes con DM2.

**Material y métodos.** Se realizó un estudio de casos y controles en niños de entre 8 y 17 años con DM2 de más de un año de evolución atendidos en el Hospital Infantil de México Federico Gómez. Se realizó la genotipificación de los SNPs: rs7903146, rs12255372, rs9282541 y rs13342232. Se comparó la presencia de nefropatía y neuropatía entre los portadores y no portadores de los SNPs mediante regresión logística multivariada.

**Resultados.** Se incluyeron un total de 71 pacientes con DM2 con un promedio de 2.9 años de evolución, de los cuáles el 21.1% presentaban nefropatía diabética y el 29.6% neuropatía diabética. No se observaron diferencias significativas en las variables clínicas y bioquímicas evaluadas entre los pacientes con y sin complicaciones crónicas. No se encontró una asociación significativa entre la presencia de los SNPs estudiados y la presencia de complicaciones crónicas

**Conclusiones:** Los resultados de este estudio sugieren que los SNPs de los genes *TCF7L2* y *ABCA1* pudieran estar asociados con el desarrollo de complicaciones crónicas, sin embargo, no se alcanzó el poder estadístico necesario para identificar una asociación significativa.

## 2. INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus (DM) afecta al 8% de la población adulta, su incidencia incrementa rápidamente a nivel mundial siendo Estados Unidos de América (EUA), Canadá y México los países con mas gente viviendo con diabetes en el mundo, en la actualidad más del 90% de los casos de DM se deben a Diabetes Mellitus 2 (DM2) [1]. De acuerdo al último reporte de la Federación Internacional de Diabetes (IDF), la prevalencia de DM en México es del 12.6%, representando la primera causa de muerte desde el año 2000 y siendo responsable del 14% de las muertes en el país. En el 2009 el 31% de la población con DM en México tenía una complicación crónica, siendo las principales la enfermedad vascular periférica (14%) y la nefropatía diabética (11%) [2]

Según el estudio SEARCH realizado en EUA, la prevalencia de DM en población pediátrica es de 2.2/1000 habitantes (1.93/1000 para DM 1 y de 0.24/1000 para DM2), la prevalencia de DM2 incrementa más rápidamente con respecto a la DM1 [3]. Del año 2001 al 2009 la prevalencia de DM2 en niños entre 10 y 19 años incrementó un 30.5% y el 35% de los casos de DM en población hispana entre 15 y 19 años correspondían a DM2 [2-5]. Actualmente se estima que el 50% de los casos nuevos de DM en este grupo de edad corresponden a DM2 [5].

Las complicaciones diabéticas clínicamente evidentes son raras en la población pediátrica, sin embargo, anormalidades funcionales y estructurales tempranas pueden presentarse pocos años posteriores al diagnóstico de la enfermedad, principalmente en aquellos con DM2. El desarrollo de complicaciones se relaciona estrechamente con el tiempo de duración de la enfermedad y con el grado de control glucémico.

Los pacientes con DM de inicio temprano representan una población de alto riesgo para el desarrollo de complicaciones, actualmente se reconoce que la DM2 juvenil (DM2J) muestra un curso más agresivo de la enfermedad y tiene una mayor incidencia de complicaciones con respecto a la DM del adulto. Los niños con DM2 tienen también mayor incidencia de complicaciones y una presentación más temprana de nefropatía y neuropatía diabética con respecto a los niños con DM1 (HR 1.47, 95% IC 1.02-2.12) [3, 6, 7].

La DM2 es una enfermedad compleja multifactorial en la que intervienen múltiples factores genéticos y ambientales, los estudios masivos de secuenciación del genoma humano realizados recientemente han permitido identificar múltiples variantes genéticas asociadas con el incremento en el riesgo de DM2, siendo la asociación más fuerte conocida hasta el momento los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) del gen del factor de transcripción 7 tipo 2 (*TCF7L2*).

La historia familiar de complicaciones diabéticas incrementan el riesgo del desarrollo de las mismas por lo que estudios recientes han intentado ligar la presencia de estas variantes genéticas, principalmente de los SNP del gen *TCF7L2*, con el mayor riesgo de complicaciones microvasculares en la DM2 con resultados contradictorios. Hasta el momento se desconocen los factores genéticos involucrados en la mayor incidencia de complicaciones en la DM2J [8-11].



### 3. MARCO TEÓRICO

#### Factores genéticos involucrados en el riesgo de DM2

La DM2 es una enfermedad compleja multifactorial que resulta de una alteración en la sensibilidad periférica a la insulina aunado a una disfunción de la célula  $\beta$  pancreática. Casi el 60% del incremento global en la prevalencia de DM2 ha sido atribuido al incremento en la prevalencia de sobrepeso y obesidad. En México, la prevalencia de la obesidad ha incrementado en promedio 2% por año en las últimas dos décadas, representando el mayor incremento documentado en el mundo [2]. A pesar de esto estudios en gemelos monocigotos y dicigotos, estudios de agregación familiar y de mapeo genético apuntan a que existe también un componente genético importante en el incremento del riesgo de DM2. Actualmente la heredabilidad de la DM2 se estima entre 30 y 70% [12].

La gran disparidad étnica en la prevalencia de DM2 se debe en gran parte a la susceptibilidad genética o a las interacciones genético-ambientales. En EUA la DM2 es 2-6 veces más frecuente en afroamericanos, americanos nativos, indios Pima e hispanoamericanos que en raza blanca [3].

La búsqueda de genes candidatos se ha enfocado en genes que codifican proteínas involucradas en el desarrollo pancreático, función de la célula  $\beta$  o en la síntesis, secreción o acción de la insulina. Los estudios masivos de secuenciación del genoma humano han permitido identificar un gran número de variantes genéticas asociadas con un incremento en el riesgo DM2 y actualmente la lista se extiende a más de 70 locus, sin embargo, el efecto individual de cada uno de ellos es relativamente pequeño [13]. La mayoría de los SNPs identificados se han relacionado con disfunción de la función de la célula  $\beta$  pancreática y muy pocos genes con una alteración en la sensibilidad de la insulina [1].

La asociación más fuerte conocida hasta el momento entre susceptibilidad genética y DM2 a nivel mundial lo constituye dos SNP del *TCF7L*: rs7903146 y rs12255372. En México la búsqueda de polimorfismos de riesgo ha identificado otros dos locus de riesgo exclusivos a la población mestiza mexicana: SNP rs9282541 del gen *ABCA1* y un haplotipo del gen *SLC16A11* [14]. El SNP rs7903146 del gen *TCF7L2* también ha sido asociado con la DM2 de inicio temprano en población mestizo-mexicana.

- TCF7L2

El gen *TCF7L2* se encuentra localizado en el cromosoma 10q25, mide 215.9 kb y comprende 17 exones [15]. Los portadores de variantes de riesgo en este gen presentan un OR para presentar DM2 de 1.4 por alelo de riesgo, mientras que las variantes en otros locus identificados tienen un OR menor entre 1.05 y 1.2 por alelo de riesgo. [14,15]

El *TCF7L2* codifica un factor de transcripción enteroendocrino de la familia “Grupo de alta movilidad” involucrado en la señalización Wnt y en el crecimiento y supervivencia de la célula  $\beta$ , controla también la transcripción del gen del proglucagón que codifica para glucagón y péptido similar a glucagón tipo 1 (GLP1) [1,16]. El GLP-1 es un péptido producido por las células L del epitelio intestinal cuya principal función es estimular la secreción de insulina e inhibir la secreción de glucagón, disminuyendo la elevación de la glucemia durante el estado postprandial [16].

Se ha sugerido que los polimorfismos en el gen *TCF7L2* pueden afectar el riesgo de DM2 al regular la expresión de GLP1, existe además evidencia de que participa en aspectos esenciales de la producción, procesamiento y transporte intracelular de insulina. El silenciamiento de este gen en islotes humanos y de ratones disminuye la expresión de genes como *proinsulina*, *Ins1*, *Ins2* y *endoprohormona convertasa 1 y 2 (PCSK1 y PCSK2)* resultando en una supresión de la secreción de insulina, por el contrario su sobreexpresión estimula la secreción de insulina de la célula  $\beta$  [20]. Paradójicamente estudios en humanos muestran que aquellos con DM2 presentan niveles de *RNA* de *TCF7L2* cinco veces mayores a sujetos sanos [16,17].

Dos SNPs (rs7903146 y rs12255372) localizados en regiones no codificantes del gen *TCF7L2* representan las variantes más fuertemente asociadas con el riesgo de DM2, los pacientes homocigotos para estos alelos de riesgo presentan dos veces mayor riesgo de desarrollar DM2 [18]. Los portadores de estos SNPs muestran una alteración en la producción de insulina y una disfunción de la célula  $\beta$  pancreática in vitro [1].

El SNP rs7903146, que reemplaza una citosina por una timina en el intrón 4, ha sido asociado con una reducción en la densidad y tamaño de los islotes pancreáticos y con un incremento en el radio de células  $\alpha/\beta$ . El riesgo relativo para los portadores de este SNP es de 1.45 para heterocigotos y

2.41 para homocigotos, con un riesgo atribuible poblacional estimado del 21% [19]. Se ha sugerido también que este SNP disminuye la secreción de insulina por la célula  $\beta$  en respuesta a una carga oral e intravenosa de glucosa.

El SNP rs12255372, que involucra un cambio de una guanina por una tiamina en la posición 293 en el intrón 4, se asoció en un meta-análisis que incluyó 33 estudios con 34,076 casos y 36,192 controles en población caucásica, asiática, africana y americana con un incremento en el riesgo de DM2 (OR de 1.42 para heterocigotos y = 1.65 para homocigotos) [16].

- ABCA1

Existe evidencia reciente de que alteraciones en los niveles de colesterol de la célula  $\beta$  contribuyen a la disfunción de estas células y a una disminución en la secreción de insulina. Uno de los determinantes del contenido intracelular de colesterol de la célula  $\beta$  lo constituye el transportador A1 dependiente de la unión ATP (*ABCA1*) el cual se ha involucrado en la regulación de la homeostasis del colesterol y en la secreción de insulina por la célula  $\beta$  [20].

Estudios en ratones muestran que aquellos con ausencia de expresión del gen *ABCA1* en células  $\beta$  pancreáticas presentan niveles séricos normales de colesterol pero un acúmulo de colesterol en los islotes pancreáticos, indicando su importante función en el eflujo de colesterol de la célula  $\beta$  previniendo así la acumulación de lípidos en los islotes. Estos ratones presentan intolerancia a la glucosa y disminución en la secreción de insulina en respuesta a glucosa [21].

El estudio más grande realizado a la fecha que explora la relación entre 13 variantes genéticas del gen *ABCA1* y el desarrollo de DM2, realizado en más de 40,000 individuos de ascendencia danesa, no logró demostrar un incremento entre estas variantes y la susceptibilidad para DM2 [22]; sin embargo, un estudio de casos y controles realizado en 244 mestizos-mexicanos con DM2 y 202 controles reportó que el SNP 9282541 (R230C) está asociado con la presencia de DM2, particularmente con la DM2 de inicio temprano [24]. Esta misma variante se ha asociado además con incremento del IMC, niveles mayores de HbA1C, menores de insulina, así como con HDL bajo y presencia de síndrome metabólico en población mexicana [22].

- SLCA16A11

La presencia de niveles séricos elevados de triglicéridos y la acumulación de lípidos intracelulares han sido involucrados con el desarrollo de resistencia a la insulina. El gen *SLC16A11* localizado en el cromosoma 17p13.1 es un miembro pobremente caracterizado de la familia de transportadores de solutos de ácido monocarboxílico que juega un papel importante en el metabolismo hepático de los lípidos por lo que podría estar involucrado en el desarrollo de resistencia a la insulina [23].

El consorcio para el estudio de DM2 SIGMA (*Iniciativa de SLIM en Medicina Genómica en las Américas*) reportó recientemente una asociación entre un haplotipo del gen *SLC16A11* con el riesgo de presentar DM2 en población mexicana. Este haplotipo incluye una mutación silente y 4 SNPs, entre ellos el SNP rs13342232.

Se analizaron 9.2 millones de SNPs en 8214 pacientes de México y Latinoamérica (3,848 pacientes con DM2 y 4366 controles no diabéticos) encontrando un incremento significativo en el riesgo de presentar DM2 en los portadores de este haplotipo (OR=1.29, 1.20–1.38). Se observó que los individuos portadores del mismo desarrollan DM2 2.1 años antes y con un IMC 0.9kg/m<sup>2</sup> menor que los no portadores y que el riesgo de presentar este haplotipo en aquellos individuos menores de 45 años es mayor que en los de mayor edad (OR 1.49 vs OR 1.11) [23]. Se estima que un 20% de la diferencia en la prevalencia de DM entre la población mexicana y europea podría ser explicada por este factor de riesgo [17]. En población maya no obesa esta variante ha sido asociada con niveles plasmáticos mayores de insulina y de HOMA-IR [13].

## 4. ANTECEDENTES

### Factores genéticos asociados con complicaciones de DM2

Los pacientes con DM2J presentan un mayor riesgo de complicaciones con respecto a aquellos con DM1. El riesgo de presentar albuminuria en cualquier momento de la enfermedad es del doble en la DM2J con respecto a la DM1J y el riesgo de falla renal incrementa hasta cuatro veces, presentando mayor mortalidad para el mismo nivel de control glucémico [6,7,24]. Existe también un incremento en la prevalencia de enfermedad cardiovascular, incluyendo infarto agudo al miocardio e infarto cerebral en los pacientes con DM2J [6].

Según el estudio TODAY los pacientes con DM2J presentan un deterioro más rápido de la función de las células  $\beta$  pancreáticas comparados con los adultos con DM2 (20-35% anual en jóvenes contra 7-11% en adultos) lo cuál podría explicar el deterioro en el control glucémico y la mayor incidencia de complicaciones [5,25].

Estudios epidemiológicos demuestran que la historia familiar de complicaciones incrementa el riesgo de nefropatía y retinopatía diabética, apoyando el rol de la susceptibilidad genética en el desarrollo de complicaciones [9,26]. La asociación más fuerte conocida hasta el momento entre susceptibilidad genética y DM2 se encuentra en el locus del gen TCF7L2.

Estudios recientes sugieren que el gen *TCF7L2* tiene influencia en el control glucémico por lo que podría jugar un rol importante en el desarrollo de complicaciones diabéticas. Se ha propuesto que este gen está involucrado en el remodelamiento vascular al regular la proliferación de células de músculo liso y el crecimiento de células endoteliales. La presencia de los SNPs rs7903146 y rs12255372 se ha asociado con la presencia de aterosclerosis coronaria [10].

Una cohorte que analizó 1065 adultos diabéticos y no diabéticos con insuficiencia renal crónica en etapa terminal (IRCT) y 924 controles, encontró una asociación significativa entre la presencia del SNP rs7903146 con la presencia de IRC terminal, siendo más frecuente su presencia en aquellos pacientes con DM2 (OR 1.7 heterocigotos y 2.61 en homocigotos). Este mismo estudio encontró

también una fuerte asociación entre este SNP con la presencia de enfermedad cardiovascular en los pacientes con DM2 e IRC terminal [10,11].

Un estudio realizado en 810 pacientes coreanos mayores de 30 años con diagnóstico de DM2 de más de 5 años de evolución, no encontró una asociación entre la presencia del SNP rs7903146 y el desarrollo de complicaciones micro o macrovasculares diabéticas; sin embargo, al analizar el subgrupo de pacientes con más de 10 años de duración de la enfermedad, se encontró que los portadores de este SNP presentaban mayor prevalencia de enfermedad vascular cerebral. Se observó también tendencia a una mayor prevalencia de enfermedad coronaria, retinopatía y nefropatía, sin alcanzar significancia estadística [8].

Una revisión sistemática que incluyó 4 estudios de casos y controles con un total de 127 pacientes diabéticos y 817 controles no encontró un incremento significativo en el riesgo de retinopatía diabética en pacientes portadores del SNP rs7903146 del gen *TCF7L2* [11].

Variantes en otros dos genes (*ABCA1* y *SLC16A11*) se han asociado con el incremento en el riesgo de DM2, en particular en población mestizo-mexicana. Se ha observado que los portadores de SNPs en estos dos genes desarrollan DM2 a edades más tempranas que los no portadores. Hasta ahora no existen estudios publicados que busquen una asociación entre los SNPs de los genes *ABCA1* y *SLC16A11* con el desarrollo temprano de complicaciones diabéticas.

## 5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La DM2 de inicio temprano o en la niñez se asocia con una mayor incidencia de complicaciones y con la aparición más temprana de las mismas con respecto a la DM2 del adulto o a la DM1. El descubrimiento de los factores genéticos involucrados en el desarrollo de DM2 ha llevado a la búsqueda de una asociación entre la presencia de variantes genéticas de riesgo de DM2 y el desarrollo de complicaciones diabéticas. Los primeros estudios publicados a la fecha se han centrado en los SNPs del gen *TCF7L2* y su asociación con nefropatía y retinopatía diabética, sin embargo, la asociación entre los SNP de otros genes, entre ellos *ABCA1* y *SLC16A11* y la presencia de complicaciones no ha sido explorada.

Hasta el momento se desconoce si los factores genéticos están involucrados en el curso más agresivo que muestra la DM2J. Debido a que los SNPs de los genes *ABCA1* y *SLC16A11* han sido asociados con el inicio de DM2 a edad temprana en población mestiza-mexicana, podría pensarse que estas variantes genéticas se asocien también con el desarrollo más temprano de complicaciones diabéticas en la DM2J.

### **Pregunta de investigación**

¿Existe asociación entre la presencia de los SNPs rs7903146 y rs12255372 del gen *TCF7L2*, rs9282541 del gen *ABCA1* y rs13342232 del gen *SLC16A11* con la aparición de complicaciones microvasculares tempranas en la población pediátrica con DM2?

## 6. JUSTIFICACIÓN

Los factores genéticos explican parte de la disparidad en la prevalencia de DM2 en México con respecto a otros países, los estudios masivos de secuenciación del genoma humano han permitido identificar múltiples variantes genéticas asociados con el incremento en el riesgo de DM2. Dos SNPs del gen *TCF7L2* representan la asociación más fuerte entre susceptibilidad genética y riesgo DM2 en el mundo y en México otros 2 polimorfismos en los genes *SLC16A11* y *ABCA1* han sido asociados con el incremento en la prevalencia de DM2 observada en este país. Estudios en población adulta han mostrado una asociación entre el SNP rs7903146 y la incidencia de complicaciones crónicas, sin embargo, la asociación entre los SNPs de los genes *SLC16A11* y *ABCA1* y la presencia de complicaciones no ha sido explorada, así como tampoco la asociación entre estos y la aparición de complicaciones a edades tempranas.

Decidimos realizar este estudio con el fin de conocer si la presencia de los SNPs de riesgo de los genes *TCF7L2*, *SLC16A11* y *ABCA1* se asocian a un incremento en la incidencia de complicaciones microvasculares en la población pediátrica mexicana. La identificación de los factores genéticos asociados con el desarrollo de complicaciones nos permitirá identificar la población de mayor riesgo que requiere de un control metabólico más estrecho para así evitar la progresión a complicaciones.

Además, el conocer los factores genéticos involucrados con el desarrollo de complicaciones crónicas nos permitirá en un futuro conocer más acerca de la fisiopatología de estas y así encontrar nuevas estrategias de prevención.



## 7. OBJETIVOS

**General.** Evaluar la asociación de los SNPs rs7903146 y rs12255372 del gen *TCF7L2*, rs9282541 del gen *ABCA1* y rs13342232 del gen *SLC16A11* con complicaciones microvasculares (nefropatía y neuropatía) en niños con DM2

Secundarios:

- Describir la frecuencia de neuropatía y nefropatía diabética en población pediátrica con DM2.
- Describir la frecuencia de otras comorbilidades (dislipidemia, obesidad central e hipertensión arterial) en población pediátrica con DM2

### Hipótesis

**Hipótesis alterna.** Los SNPs rs7903146, rs12255372, rs9282541 y rs13342232 se asocian con un OR>3.2 con la presencia de complicaciones crónicas microvasculares (nefropatía y neuropatía) en niños con DM2

## 8. MÉTODOS

Se realizó un estudio de casos y controles en el Departamento de Endocrinología del Hospital Infantil de México “Federico Gómez” durante el periodo de diciembre 2015 a mayo del 2016.

Se incluyeron niños y adolescentes con DM2 que asistían a la Clínica de Diabetes (CANDI) del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Se consideraron como criterios de inclusión:

- Diagnóstico de DM2 de acuerdo con los criterios de la Asociación Americana de Diabetes
- Edad entre 8 y 17 años, ambos sexos
- Duración de la enfermedad mayor a 1 año

Criterios de exclusión:

- Pacientes que no cuenten con los estudios de abordaje necesarios para la detección de nefropatía o neuropatía diabética (al menos dos recolecciones de orina de 24 horas para la búsqueda de microalbuminuria y un estudio de velocidad de conducción nerviosa).

### **Procedimientos realizados:**

Se realizó la genotipificación de todos los pacientes para la búsqueda de los siguientes SNPs: rs7903146 y rs12255372 del gen *TCF7L2*, rs9282541 del gen *ABCA1* y rs13342232 del gen *SLC16A11*. Se comparó la presencia de nefropatía y neuropatía diabética, entre los portadores y no portadores de estos polimorfismos.

- Revisión de expedientes clínicos:

Se registró a partir del expediente clínico de los pacientes los siguientes datos clínicos y demográficos: edad y sexo; duración de la enfermedad; antecedentes heredofamiliares de 1º y 2º grado con obesidad, diabetes, hipertensión arterial y cardiopatía isquémica; peso al nacer; IMC al diagnóstico; tipo de debut (cetoacidosis diabética, estado hiperosmolar diabético, síntomas clásicos o hallazgo de laboratorio) y HbA1c inicial.

Se registraron a partir de la última consulta los siguientes datos clínicos: peso (kg), talla (cm), IMC ( $\text{kg}/\text{cm}^2$ ), cintura (cm), estadio de Tanner (I-V), cifra de tensión arterial (mmHg), presencia de acantosis nigricans, promedio de las 3 últimas hemoglobinas glicadas (HbA1c) (%), cifras de colesterol, triglicéridos, HDL y LDL (mg/dl), tipo de tratamiento y dosis (insulina y/o metformina), creatinina sérica (mg/dl), diagnóstico previo de hipertensión arterial, microalbuminuria o nefropatía diabética en tratamiento, promedio de las últimas 3 microalbuminurias realizadas en orina de 24 horas y presencia de neuropatía diabética demostrada por estudio de conducción nerviosa.

- Genotipificación:

El ADN genómico fue aislado de sangre periférica mediante un kit comercial (método QIAmp96 DNA Blood, Mini/Kit, Qiagen, Alemania). La pureza y la concentración fueron evaluados mediante espectrofotometría a 260/280 nm (Epoch, Biotek), y la integridad fue verificada siguiendo el método de electroforesis en gel de agarosa al 0.8%.

Los SNPs fueron genotipificados utilizando ensayos 5'Taqman® (Applied Biosystems, Foster City, CA) con un sistema rápido de PCR en tiempo real Applied Biosystems 7900 HT, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La tasa de genotipificación superó el 90% en todos los SNPs probados. Las muestras se analizaron por duplicado y se obtuvo una concordancia mayor al 98%

## **Consideraciones éticas**

El protocolo de estudio fue aprobado por los comités de Ética, Investigación y Bioseguridad del Hospital Infantil de México “Federico Gómez” con registro HIM 2009-017/HIM 2013-014. Se obtuvo consentimiento informado de los padres y asentimiento de los menores por escrito previo a la genotipificación.

## **Plan de análisis estadístico**

Se realizó estadística descriptiva de las variables demográficas, clínicas y bioquímicas. Los resultados fueron expresados como medias y desviación estándar (SD) para variables continuas y cuenta numérica y porcentaje (%) para variables categóricas. La comparación entre las características clínicas y bioquímicas entre pacientes con y sin complicaciones (neuropatía y nefropatía diabética) se realizó mediante las prueba de T de Student o  $\chi^2$  de Pearson según se tratara de variables continuas o categóricas.

Utilizando el programa STATA 11, se realizó un análisis de regresión logística para identificar la asociación de cada uno de los SNPs con la presencia de nefropatía y neuropatía, ajustando para edad, sexo, tiempo de evolución y control glucémico. Se considero una significancia estadística valores de  $\alpha = 0.05$ .

## **Poder estadístico**

Para identificar un OR  $\geq 3.2$  se obtuvo un poder de 50, 70 y 70% para variantes con frecuencias del alelo menor de 10,30 y 50% respectivamente.

## Descripción operacional de variables

Se definió la presencia de nefropatía y neuropatía según las guías de la ISPAD 2015. Las principales variables dependientes a evaluar fueron:

- Nefropatía diabética: excreción urinaria de albúmina entre 30-300 mg en recolección de orina de 24 horas en dos o más ocasiones. Se trata de una variable dicotómica.
- Neuropatía diabética: bloqueo o retraso en la conducción motora o sensorial de nervios periféricos en cualquiera de las 4 extremidades identificado mediante estudio de velocidad de conducción nerviosa. Se trata de una variable dicotómica.
- Hipertensión: presencia de 3 o más cifras de TA por arriba del percentil 95 para edad, género y talla del paciente. Se trata de una variable dicotómica (anexo 1)
- Dislipidemia: Presencia de cifra de triglicéridos o colesterol total mayor a percentil 90, LDL > 100 mg/dl o HDL menor a percentil 5. Se trata de una variable dicotómica. (anexos 2-4).

## 9. RESULTADOS

Se revisaron un total 127 expedientes clínicos de pacientes pediátricos con diagnóstico de DM2 de más de un año de evolución, 56 fueron excluidos por reunir con criterios de exclusión descritos previamente. Se incluyeron un total de 71 pacientes para el análisis estadístico (38 hombres y 33 mujeres), las características clínicas y bioquímicas de los pacientes se muestran en las Tablas 1 y 2. Todos los pacientes incluidos se encontraban en etapa puberal o post-puberal, en los siguientes estadios de la clasificación de Tanner: 9.9% en estadio II, 14.1% en estadio III, 28.2% estadio IV y 47.8% en estadio V. El 26.8% presentó cetoacidosis diabética (19/71) como debut de la enfermedad, 12.7% estado hiperosmolar diabético (9/71), 53.5% síntomas clásicos como poliuria, polidipsia, polifagia y pérdida de peso (38/71) y 7% (5/71) fueron diagnosticados de manera incidental con exámenes de laboratorios solicitados por otros motivos. Solo el 38% de los pacientes presentaban un buen control glucémico definido como un promedio de HbA1c <7.5% durante el último año.

**Tabla 1. Características clínicas de pacientes pediátricos con DM2**

Variable	Media	DE
Edad(años)	15.3	±2.4
Peso (kg)	66.6	± 18.1
Talla (cm)	160.22	± 11.3
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	27.9	± 2.12
Cintura (cm)	88.2	± 15.5
TA sistólica (mmHg)	113	± 14.4
TA diastólica (mmHg)	71.6	± 11.65

DE: Desviación estándar

**Tabla 2. Parametros bioquímicos de pacientes pediátricos con DM2**

Variable	Media	DE
Colesterol total (mg/dl)	174.0	±44.4
C-HDL (mg/dl)	44.2	± 13.3
C-LDL (mg/dl)	106.9	± 38.0
Triglicéridos	139.6	± 82.4
HbA1c (%)	8.61	± 2.5

DE: Desviación estándar

Como comorbilidades el 31% de los pacientes presentaban hipertensión arterial (HTA), el 52.1% obesidad central (perímetro abdominal >p95), el 52.1% hipertrigliceridemia (triglicéridos >p90), el 21% hipoalfalipoproteinemia (colesterol HDL <p5) y el 54.9% hipercolesterolemia (LDL > 100 mg/dl).

Se encontró una incidencia del 21.1% (n=15) de nefropatía y del 29.6% (n=21) de neuropatía diabética. No se observaron diferencias entre género, edad, tiempo de evolución, cifras de TA y control glucémico entre los pacientes con y sin complicaciones, los niveles de LDL fueron discretamente mayores en aquellos sin nefropatía diabética (Tablas 3 y 4). No se encontró asociación entre los polimorfismos rs7903146 y rs12255372 del gen *TCF7L2*, rs9282541 de *ABCA1* y rs13342232 de *SLC16A11* y el desarrollo de nefropatía y neuropatía diabética (Tablas 5 y 6).

**Tabla 3. Características clínicas de los pacientes con y sin nefropatía diabética**

Variables	Nefropatía (n=15)	Sin nefropatía (n =46)	Valor de <i>p</i>
Sexo masculino, n (%)	9 (60)	26 (56.5)	0.81
Edad, años	15.3 ± 2.3	15.7 ± 2.4	0.59
Tiempo evolución, años	2.8 ± 1.3	3.5 ± 1.2	0.23
IMC, kg/m <sup>2</sup>	27.1 ± 5.2	25.1 ± 5.0	0.19
TAS, mmHg	117.0 ± 16.1	113.2 ± 14.33	0.39
TAD mmHg	75.3 ± 14.9	71.7 ± 10.1	0.29
HTA, n (%)	6 (40)	14 (30.4)	0.49
Control glucémico, n (%)	5 (33.3)	16 (34)	0.23
Colesterol Total, mg/dl	182.6 ± 64.2	162 ± 34.1	0.19
Triglicéridos, mg/dl	170.5 ± 91.3	124.0 ± 76.3	0.056
Albuminuria, mg	57.4 ± 2.3	9.9 ± 7.2	<b>0.0001</b>

IMC = Índice de masa corporal. TAS = Presión arterial sistólica. TAD = Presión arterial diastólica. HTA = Hipertensión arterial. Los valores se encuentran en medias ± SD a menos que se especifique otra medida  
Prueba de T de Student o  $\chi^2$  de Pearson.

**Tabla 4. Características clínicas de los pacientes con y sin Neuropatía diabética**

Variables	Neuropatía (n=21)	Sin Neuropatía (n =50)	Valor de <i>p</i>
Sexo masculino, n (%)	10 (47.6)	22 (56)	0.51
Edad, años	15.1 ± 2.5	15.3 ± 2.4	0.77
Tiempo evolución, años	3.3 ± 2.1	2.9 ± 1.9	0.52
IMC, kg/m <sup>2</sup>	25.2 ± 6.2	29.1 ± 2.5	0.49
TAS, mmHg	111.6 ± 14.6	114 ± 14.4	0.46
TAD mmHg	72.7 ± 14	71.2 ± 10.6	0.71
HTA, n (%)	6 (28.6)	16 (32)	0.77
Control glucémico, n (%)	7 (33.3)	20 (40)	0.59
HbA1c, %	9.1 ± 2.7	8.3 ± 2.3	0.15
C-LDL, mg/dl	104.7 ± 21.7	108.0 ± 43.2	0.038

IMC = Índice de masa corporal. TAS = Presión arterial sistólica. TAD = Presión arterial diastólica. HTA = Hipertensión arterial. Los valores se encuentran en medias ± SD a menos que se especifique otra medida  
Prueba de T de Student o  $\chi^2$  de Pearson.

**Tabla 5. Asociación de polimorfismos con la presencia de Nefropatía diabética**

Gen	A/a	FAM	SNP	OR (IC al 95%)	OR ajustado (IC al 95%)
<b>TCF7L2</b>	G/T	0.146	12255372	1.17 (0.95-4.06)	1.32 (0.97-5.8)
	C/T	0.136	7903146	0.91 (0.54-1.72)	0.79(0.45-1.39)
<b>ABCA1</b>	C/T	0.123	9282541	1.38 (0.91-2.09)	1.43 (0.97-2.31)
<b>SLC16A11</b>	A/G	0.456	13342232	0.86 (0.53-1.46)	0.89 (0.76-1.54)

Regresión Logística. OR ajustado por tiempo de evolución, sexo y control glucémico.

A = Alelo mayor. a = alelo menor. FAM = frecuencia del alelo menor. SNP = polimorfismo de un solo nucleótido.

OR = Odds ratio o razón de momios. IC = Intervalo de confianza.

**Tabla 6. Asociación de polimorfismos con la presencia de Neuropatía diabética**

Gen	A/a	FAM	SNP	OR (IC al 95%)	OR ajustado (IC al 95%)
<b>TCF7L2</b>	G/T	0.146	12255372	2.10 (0.98-4.06)	2.4 (0.99-4.6)
	C/T	0.136	7903146	2.7 (0.95-4.9)	2.9 (0.98-5.3)
<b>ABCA1</b>	C/T	0.123	9282541	1.9 (0.95-2.9)	2.1 (0.98-3.0)
<b>SLC16A11</b>	A/G	0.456	13342232	0.78 (0.8-1.9)	0.95 (0.8-2.1)

Regresión Logística. OR ajustado por tiempo de evolución, sexo y control glucémico.

A = Alelo mayor. a = alelo menor. FAM = frecuencia del alelo menor. SNP = polimorfismo de un solo nucleótido.

OR = Odds ratio o razón de momios. IC = Intervalo de confianza.



## 10. DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio no encontraron asociación significativa entre los SNPs de los genes *TCF7L2*, *ABCA1* y *SLC16A11* con el desarrollo de complicaciones diabéticas. Los portadores de los SNPs rs12255372 y rs7903146 (*TCF7L2*) y rs9282541 (*ABCA1*) mostraron mayor prevalencia de neuropatía diabética y los portadores de los SNPs rs12255372 y rs9282541 mayor prevalencia de nefropatía, sin alcanzar esta significancia estadística (tablas 5 y 6).

Contrario a estos resultados, otros estudios en adultos con mayor número de pacientes muestran una asociación significativa entre la presencia de los SNPs del gen *TCF7L2* con el desarrollo de complicaciones crónicas. Un estudio realizado en 810 pacientes coreanos con DM2 encontró una prevalencia mayor de infarto cerebral entre los portadores del SNP rs7903146 con un evolución de la enfermedad mayor a 10 años, sin embargo, al igual que en nuestro estudio no se encontró una asociación entre este SNP y el desarrollo de nefropatía o neuropatía diabética [8]. Otro estudio que incluyó 1065 pacientes con enfermedad renal terminal y 924 controles con una promedio de edad superior a los 50 años, si logró encontrar una asociación entre el SNP rs7903146 y el desarrollo de nefropatía diabética y enfermedad cardiovascular.

En base a la frecuencia del alelo menor en la población estudiada y a los OR obtenidos, se calculó que se requieren al menos 70 pacientes con complicaciones crónicas y 70 controles para lograr detectar una asociación estadísticamente significativa entre los SNPs de los genes *TCF7L2* y *ABCA1* y el desarrollo de complicaciones.

Hasta el momento no existen estudios publicados que busquen la asociación entre los SNPs de los genes *ABCA1* y *SLC16A11* y el desarrollo de complicaciones diabéticas, sin embargo, ambos se relacionan con el inicio de DM2 a edad temprana por lo que pudieran estar asociados con la aparición temprana de complicaciones. El presente estudio no encontró una asociación entre el SNP 13342232 (*SLC16A11*) y el desarrollo de nefropatía o neuropatía diabética.

A pesar de los avances realizados en la búsqueda de variantes genéticas relacionadas con el incremento en el riesgo de DM2, el efecto individual de cada SNPs identificado hasta el momento es pequeño y probablemente también su efecto en el desarrollo de complicaciones, lo anterior

disminuye el poder del estudio y requiere una muestra mayor para identificar una asociación significativa.

Se reconoce que los pacientes con DM2J muestran mayor riesgo de complicaciones y un desarrollo más temprano de las mismas con respecto a aquellos con DM1, el grupo TODAY reporto una prevalencia de microalbuminuria al diagnóstico del 6.6% y del 16.6% a los 36 meses, otros estudios transversales reportan prevalencias de entre 18-72% dentro de los primeros 10 años de evolución [27,28]. El presente estudio encontró una prevalencia del 21.1% de nefropatía diabética definida como la presencia de albuminuria >30 mg/día en dos o más ocasiones, el tiempo promedio de evolución de los pacientes evaluados fue de 3 años, siendo la prevalencia encontrada de nefropatía mayor a la reportada por el grupo TODAY a los 3 años.

La prevalencia de neuropatía diabética identificada mediante estudio de velocidad de conducción nerviosa fue del 29.6%, la cuál también es mayor al 12-15% reportada en otros estudios y similar al 25.2% reportada recientemente por el grupo de estudio SEARCH [29,30]. La mayor prevalencia de complicaciones observada en nuestra población pudiera estar explicada por un peor control glucémico en nuestra población, observándose un promedio de HbA1c de 8.6%, mayor a la reportada en otros estudios [31]

Los principales factores descritos relacionados con el desarrollo de complicaciones son la edad del diagnóstico, el grado de control glucémico y el tiempo de evolución de la enfermedad. En el presente estudio no se encontraron diferencias en ninguna de estas variables entre los pacientes con y sin complicaciones microvasculares.

## 11. CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio sugieren que los SNPs de los genes *TCF7L2* y *ABCA1* pudieran estar asociados con el desarrollo de complicaciones crónicas, sin embargo, no se alcanzó el poder estadístico necesario para identificar una asociación significativa. Se requieren estudios con mayor número de pacientes y un seguimiento más prolongado para corroborar estos resultados.

Se encontró una incidencia del 21.1% de nefropatía diabética y de 29.6% de neuropatía diabética, mayor a la reportada en otros estudios.

La identificación de los factores genéticos asociados al desarrollo temprano de complicaciones diabéticas nos permitirá en un futuro conocer más acerca de la fisiopatología de estas complicaciones para así poder encontrar nuevas estrategias de prevención y reconocer a la población mas vulnerable para el desarrollo de las mismas.

## 12. LIMITACIÓN DEL ESTUDIO

La principal limitante de nuestro estudio fue el tamaño de la muestra, la cuál pudo ser la causa de que no tuviera poder estadístico suficiente para detectar una asociación entre la presencia de los SNPs estudiados y el desarrollo de complicaciones diabéticas.

Uno de los problemas a los que nos enfrentamos y que limitaron el tamaño de nuestra muestra fue que no todos los pacientes evaluados contaban con un abordaje completo de complicaciones y muchos habían perdido seguimiento en nuestra clínica antes del año por lo que tuvieron que ser excluidos. Además el tiempo promedio de evolución de la enfermedad de los pacientes evaluados fue corto (3 años en promedio).

Creemos que un estudio multicéntrico con una población mayor sería de utilidad para incrementar el tamaño de la muestra y así poder conocer si estos SNPs están relacionados con el desarrollo de complicaciones.

### 13. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

<b>Actividad</b>	<b>Inicio</b>	<b>Termino</b>
Revisión de la bibliografía	Diciembre 2015	Enero 2016
Recolección datos historia clínica	Enero 2016	Abril 2016
Análisis estadístico	Mayo 2016	Mayo 2016
Reporte de resultados	Mayo 2016	Junio 2016
Corrección de resultados	Junio 2016	Junio 2016
Presentación de tesis terminada	Junio 2016	Junio 2016

## 14. BIBLIOGRAFÍA

1. Rutter GA. Understanding genes identified by genome-wide association studies for Type 2 diabetes. *Diabet. Med.* 2014; 31:1480–87.
2. Yisahak SF, Beagley J, Hambleton IR, Venkat-Narayan KM. IDF Diabetes Atlas: Diabetes in North America and The Caribbean: An update. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014 Feb;103(2):223-30
3. Pettitt DJ, Talton J, Dabelea D, Divers J, Imperatore G, Lawrence JM, et al. Prevalence of Diabetes in U.S. Youth in 2009: The SEARCH for Diabetes in Youth Study. *Diabetes Care.* 2014;37:402-8.
4. Cameron FJ, Wherrett DK. Care of diabetes in children and adolescents: controversies, changes, and consensus. *Lancet* 2015; 385: 2096–106
5. Dabelea D, Mayer-Davis EJ, Saydah S, et al. Prevalence of type 1 and type 2 diabetes among children and adolescents from 2001 to 2009. *JAMA* 2014; 311: 1778–86.
6. Wong J, Constantino M, Yue DK. Morbidity and Mortality in Young-Onset Type 2 Diabetes in Comparison to Type 1 Diabetes: Where Are We Now?. *Curr Diab Rep* (2015) 15:566
7. Dart AB, Sellers EA, Martens PJ, Rigatto C, Brownell MD, Dean HJ. High burden of kidney disease in youth-onset type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2012;35(6):1265–71.
8. Dart AB, Martens PJ, Rigatto C, Brownell MD, Dean HJ, Sellers EA. Earlier Onset of Complications in Youth With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care.* 2014 Feb;37(2):436-43.
9. Choi HJ, Lee DH, Jeon HJ, Kim DS, Lee YH, Oh T. Transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene polymorphism rs7903146 is associated with stroke in type 2 diabetes patients with long disease duration. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014 Mar;103(3):e3-6
10. Tanaka N, Babazono T. Assessing genetic susceptibility to diabetic nephropathy. *Nephrology (Carlton).* 2005 Oct;10 Suppl:S17-21
11. Sudchada P, Scarpace K. Transcription factor 7-like 2 polymorphisms and diabetic retinopathy: a systematic review. *Genet Mol Res.* 2014 Aug 7;13(3):5865-72.
12. Buraczynska M, Zukowski P, Ksiazek P, Kuczmarszewska A, Janicka J, Zaluska W. Transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene polymorphism and clinical phenotype in end stage renal disease patients. *Mol Biol Rep.* 2014 Jun;41(6):4063-8.
13. Hara K, Shojima N, Hosoe J, Kadowaki T. Genetic architecture of type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014 Sep 19;452(2):213-20

14. Lara-Riegos A, Ortiz-López M, Peña-Espinoza B, Montúfar-Robles I, Peña-Rico M, Sánchez-Pozos K, et al. Diabetes susceptibility in Mayas: Evidence for the involvement of polymorphisms in HHEX, HNF4 $\alpha$ , KCNJ11, PPAR $\gamma$ , CDKN2A/2B, SLC30A8, CDC123/CAMK1D, TCF7L2, ABCA1 and SLC16A11 genes J.C. Gene. 2015; 565:68–75
15. Marie-France Hivert, Jason L. Vassy and James B. Meigs Susceptibility to type 2 diabetes mellitus —from genes to prevention Nat. Rev. Endocrinol. 2014;10:198–205
16. Morris, A. P. et al. Large-scale association analysis provides insights into the genetic architecture and pathophysiology of type 2 diabetes. Nat. Genet. 2012;44:981–90.
17. Wang J, Zhang J, Li L, Wang Y, Wang Q, Zhai Y, et al. Association of rs12255372 in the TCF7L2 gene with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis. Braz J Med Biol Res. 2013 Apr;46(4):382-93.
18. Gloyn AL1, Braun M, Rorsman P. Type 2 Diabetes Susceptibility Gene TCF7L2 and Its Role in B-Cell Function. Diabetes. 2009 Apr;58(4):800-2
19. Pang DX1, Smith AJ, Humphries SE. Functional analysis of TCF7L2 genetic variants associated with type 2 diabetes. Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2013 Jun;23(6):550-6
20. Zhou Y, Park SY, Su J, Bailey K, Ottosson-Laakso E, Shcherbina L. TCF7L2 is a master regulator of insulin production and processing. Hum Mol Genet. 2014 Dec 15;23(24):6419-31
21. Schou J1, Tybjærg-Hansen A, Møller HJ, Nordestgaard BG, Frikke-Schmidt R. ABC Transporter Genes and Risk of Type 2 Diabetes. Diabetes Care. 2012 Dec;35(12):2600
22. Brunham LR1, Kruit JK, Verchere CB, Hayden MR. Cholesterol in islet dysfunction and type 2 diabetes. Liam R. J Clin Invest. 2008 Feb;118(2):403-8
23. Villarreal-Molina MT, Flores-Dorantes MT, Arellano-Campos O, et al.; 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; 57:509–513
24. SIGMA Type 2 Diabetes Consortium, Williams AL, Jacobs SB, Moreno-Macías H, Huerta-Chagoya A, Churchhouse C, et al. Sequence variants in SLC16A11 are a common risk factor for type 2 diabetes in Mexico. Nature. 2014 Feb 6;506(7486):97-101.
25. TODAY Study Group. Effects of metformin, metformin plus rosiglitazone, and metformin plus lifestyle on insulin sensitivity and  $\beta$ -cell function in TODAY. Diabetes Care 2013; 36: 1749–57.

26. Donaghue KC, Wadwa RP, Dimeglio LA, Wong TY, Chiarelli F, Marcovecchio ML, Salem M, Raza J, Hofman PL, Craig ME. Microvascular and macro-vascular complications in children and adolescents. *Pediatric Diabetes* 2014; 15 (Suppl. 20): 257–269.
27. TODAY Study Group. Rapid Rise in Hypertension and Nephropathy in Youth With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care*. 2013 Jun;36(6):1735-41
28. Bogdanovic R. Diabetic nephropathy in children and adolescents. *Pediatr Nephrol* 2008;23:507–525.
29. Song SH. Complication characteristics between young-onset type 2 versus type 1 diabetes in a UK population. *BMJ Open Diabetes Res Care*. 2015 Feb 17;3(1):e000044
30. Jaiswal M1, Lauer A, Martin CL, Bell RA, Divers J, Dabelea D, et al. Peripheral neuropathy in adolescents and young adults with type 1 and type 2 diabetes from the SEARCH for Diabetes in Youth follow-up cohort: a pilot study. *Diabetes Care*. 2013;36(12):3903-8.
31. SEARCH for Diabetes in Youth Study Group. Glycemic control in youth with diabetes: the SEARCH for diabetes in Youth Study. *J Pediatr*. 2009 Nov;155(5):668-72.e1-3.



## 15. ANEXOS

### Anexo 1: Percentiles de presión arterial de acuerdo a género, edad y talla

**Cuadro 3. Tablas de referencia internacional para percentilar presión arterial de acuerdo a edad y sexo**

Edad (años)	Percentila de talla	Niños						Niñas					
		(sistólica)			(diastólica)			(sistólica)			(diastólica)		
		50	90	95	50	90	95	50	90	95	50	90	95
3	25	89	103	107	45	60	64	88	102	105	48	62	66
	50	91	105	109	46	61	65	89	103	107	49	63	67
	75	93	107	110	47	62	66	91	104	108	50	64	68
5	25	93	108	112	48	63	67	92	106	109	50	64	68
	50	95	108	112	53	68	72	93	106	110	54	68	72
	75	96	110	114	54	69	73	94	107	111	55	69	73
7	25	98	111	115	55	69	74	95	109	112	55	69	73
	50	97	111	115	57	72	76	96	109	113	57	71	75
	75	99	113	117	58	73	77	97	111	115	58	72	76
9	25	100	114	118	59	74	78	99	112	116	58	72	76
	50	98	112	116	59	74	78	98	112	115	58	72	76
	75	100	114	118	60	75	79	100	113	117	59	73	77
11	25	102	115	119	61	76	80	101	114	118	60	74	78
	50	103	117	121	61	76	81	102	116	119	61	75	79
	75	104	117	121	61	76	80	103	117	121	61	75	79
13	25	105	119	123	62	77	81	105	118	122	62	76	80
	50	107	120	124	63	78	82	106	119	123	63	77	81
	75	106	120	124	61	76	80	106	119	123	62	76	80
15	25	108	122	126	62	77	81	107	121	124	63	77	81
	50	110	124	128	63	78	82	109	122	126	64	78	82
	75	111	125	129	64	79	83	110	123	127	65	79	83
17	25	112	125	129	63	78	82	109	122	126	64	78	82
	50	113	127	131	64	79	83	110	123	127	65	79	83
	75	115	129	133	65	80	84	111	125	129	66	80	84
19	25	117	130	134	66	80	85	113	126	130	67	81	85
	50	116	130	134	66	81	86	110	123	127	65	79	83
	75	118	132	136	67	82	87	111	125	129	66	80	84
21	25	120	134	138	68	83	87	113	126	130	67	81	85
	50	121	135	139	69	84	88	114	127	131	67	81	85

### Anexo 2 : Percentiles de cifras de colesterol HDL de acuerdo a género y edad

**Cuadro 4. Percentilas de cifras de colesterol HDL (mg/dL) de acuerdo al sexo en población pediátrica de 5 a 19 años**

Años (niños)	p5	p10	p25	p50	p75	p90	p95
5-9	39	43	50	56	65	72	76
10-14	38	41	47	57	63	73	76
15-19	31	35	40	47	54	61	65
<b>(niñas)</b>							
5-9	37	39	48	54	63	69	75
10-14	38	41	46	54	60	66	72
15-19	36	39	44	53	63	70	76

### Anexo 3: Percentiles de cifras de triglicéridos de acuerdo a género y edad

**Cuadro 5. Percentilas de cifras de triglicéridos (mg/dL) de acuerdo al sexo en población pediátrica de 0 a 19 años**

Años (niños)	p5	p10	p25	p50	p75	p90	p95
0-4	30	34	41	53	69	87	102
5-9	31	34	41	53	6	88	14
10-14	33	38	46	61	80	105	129
15-19	38	44	56	71	94	124	152
<b>(niñas)</b>							
0-4	35	39	46	61	79	99	115
5-9	33	37	45	57	73	93	108
10-14	38	45	56	72	93	117	135
15-19	40	45	55	70	90	117	136

### Anexo 4: Percentiles de colesterol total de acuerdo a género y edad

Table IV, A. Sample size and percentage values of percentiles of weighted Total Cholesterol by age and sex NHANES III and NHANES 1999–2004.

Age	Percentiles						ATP cut points	
	10th	25th	50th	75th	90th	95th	88th	84th
<b>Males</b>								
6	131.2	144.8	161.4	179.7	197.7	209.3	194.5	
7	133.4	147.6	164.9	184.1	203.1	215.4	199.7	
8	134.9	149.5	167.4	187.3	207.1	220.0	203.6	
9	135.2	149.9	168.1	188.4	208.7	221.8	205.1	
10	135.2	149.9	168.1	188.5	208.8	221.9	205.1	
11	134.4	149.3	167.6	188.2	208.9	222.3	205.2	
12	130.5	145.2	163.5	184.3	205.3	219.1	201.5	
13	125.5	139.9	158.1	178.9	200.3	214.4	196.4	
14	122.3	136.6	154.8	175.9	197.6	212.1	193.7	
15	121.7	136.1	154.4	175.7	197.7	212.5	193.7	
16	121.6	136.1	154.4	175.8	197.9	212.7	193.9	
17	122.0	136.6	155.3	177.0	199.6	214.7	195.5	
18	123.8	139.0	158.3	180.8	204.3	220.0	<b>200.0</b>	
<b>Females</b>								
6	132.8	147.1	165.1	185.7	206.8	220.8		196.8
7	133.0	147.3	165.4	186.0	207.2	221.3		197.3
8	133.0	147.3	165.4	186.1	207.3	221.4		197.3
9	132.9	147.3	165.3	186.0	207.2	221.3		197.2
10	132.2	146.5	164.5	185.2	206.4	220.4		196.4
11	130.5	144.7	162.6	183.2	204.3	218.3		194.4
12	128.6	142.7	160.5	181.0	202.1	216.1		192.2
13	127.6	141.7	159.6	180.1	201.3	215.4		191.3
14	127.4	141.5	159.5	180.1	201.3	215.5		191.3
15	127.3	141.5	159.5	180.2	201.5	215.7		191.5
16	127.4	141.7	160.0	181.0	202.7	217.1		192.5
17	128.4	143.2	161.9	183.5	206.0	220.9		195.4
18	130.5	145.8	165.2	187.7	211.0	226.6		<b>200.0</b>

Table IV, B. Values of percentiles of unweighted Total Cholesterol by age/sex NHANES III, NHANES 1999–2004, Bogalusa, Muscatine, Fels, and Princeton.