



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA
SALUD**

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

**HEREDABILIDAD, TRANSMISIÓN PARENTAL Y POLIMORFISMOS DE UN SOLO
NUCLEÓTIDO ASOCIADOS A DIABETES MELLITUS TIPO 2 DE INICIO EN LA EDAD
PEDIÁTRICA EN FAMILIAS MEXICANAS**

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTORA EN CIENCIAS MÉDICAS

PRESENTA

M. en C. América Liliana Miranda Lora

TUTORES

Dr. Onofre Muñoz Hernández

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

Dr. Miguel Klünder

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

Cd. de México a 24 de noviembre de 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.

DEDICATORIA

Con todo mi amor para Alberto[†], Doris, Eduardo y Mirtha.

CONTENIDO

RESUMEN.....	5
ABREVIATURAS.....	8
ANTECEDENTES	9
Factores de riesgo.....	9
Factores de riesgo ambiental	9
Factores de riesgo genético	10
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	15
PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....	16
JUSTIFICACIÓN	16
OBJETIVOS	17
Objetivo general	17
Objetivos específicos	17
Objetivos secundarios	17
HIPÓTESIS	17
METODOLOGÍA.....	18
Tipo de estudio.....	18
Participantes.....	19
Procedimientos.....	19
Antropometría y presión arterial	20
Pruebas bioquímicas	21
Clasificación de alteraciones metabólicas.....	21
Hábitos de alimentación y actividad física.....	22
Prueba de condición física (Harvard).....	22
Genotipificación	23
Tamaño de muestra y poder estadístico.....	24
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	25
CONSIDERACIONES ÉTICAS	28
RESULTADOS	29
DISCUSIÓN.....	42
CONCLUSIONES.....	52
PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN	52
Trabajos libres.....	52
Publicaciones	53
Premios	53
AGRADECIMIENTOS	54

REFERENCIAS	55
ANEXOS.....	64
ANEXO 1. Definición de variables	65
ANEXO 2. Carta de consentimiento informado.....	67
ANEXO 3. Carta de asentimiento.....	69
ANEXO 4. Consentimiento informado para la realización de estudio genético.	70
ANEXO 5. Formato de Identificación y antecedentes.....	72
ANEXO 6. Exploración física y prueba de Harvard.....	75
ANEXO 8. Cuestionario de actividad física.	80
ANEXO 9. SNPs incluidos en el análisis.....	82
ANEXO 10. Constancias presentación de trabajos libres.....	84
ANEXO 11. Publicaciones.....	93
ANEXO 12. Constancias de premios	119

RESUMEN

Antecedentes. La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) afecta al 9.1% de la población adulta en México y cada vez se presenta con mayor frecuencia a edades más tempranas. Se trata de una enfermedad en la que interactúan factores genéticos y ambientales de riesgo mediante mecanismos complejos. Los factores ambientales identificados, principalmente aquellos asociados con la obesidad, han mostrado una adecuada capacidad predictiva para el desarrollo de la DM2; sin embargo, no todos los individuos expuestos a los agresores ambientales la desarrollan. Por otro lado, los factores genéticos identificados al momento explican solamente entre el 10 y 20% de la variabilidad fenotípica de la enfermedad.

La mayoría de los estudios genéticos han asociado polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) con la presencia de DM2 en grupos étnicos distintos a la población mexicana, la cual parece tener genotipos de susceptibilidad propios que no han sido completamente identificados. Asimismo, un número reducido de estudios involucran pacientes pediátricos, en quienes el inicio temprano de la enfermedad podría deberse en parte a una mayor susceptibilidad genética que los hace menos tolerantes a los agresores ambientales. Adicionalmente, se ha propuesto que la integración de los factores de riesgo genético a los factores de riesgo ambiental puede mejorar la predicción de la enfermedad, lo que permitiría identificar población susceptible de desarrollar DM2, de ahí la importancia de su estudio.

Objetivo general. Identificar factores genéticos relacionados con la presencia de DM2 de inicio en la edad pediátrica en familias niños y adolescentes mexicanos.

Metodología. Se incluyeron 184 familias con un total de 1,160 individuos en tres generaciones (99 familias con un caso índice de DM2 de inicio antes de los 19 años y 85 familias sin DM2 de base poblacional). La historia familiar de DM2 se obtuvo en tres generaciones mediante interrogatorio directo. Los datos antropométricos, presión arterial, pruebas bioquímicas (*curva de tolerancia oral a la glucosa, insulina basal y de 2 horas, hemoglobina glucosilada A1c, perfil de lípidos y péptido C*), estilos de vida (*frecuencia de consumo de alimentos, actividad física y prueba de condición física*) y la genotipificación de 68 SNPs fueron corroborados únicamente en las dos últimas generaciones (n=562). Se analizaron 64 SNPs previamente asociados con obesidad u otras alteraciones metabólicas mediante un microarreglo y 4 SNPs previamente asociados con DM2 mediante sondas individuales (tecnología Open Array/sondas TaqMan®). Adicionalmente, se evaluaron antecedentes perinatales en la última generación. El estudio permitió analizar la asociación de los 68 SNPs en 99 casos con DM2 de inicio en la edad pediátrica, 101 hermanos sin DM2, 57 padres/madres con DM2, 85 padres/madres sin DM2, 85 controles pediátricos y 137 controles adultos.

Análisis estadístico. Se realizó un análisis descriptivo de las variables fenotípicas. Se estimaron correlaciones familiares, heredabilidad (h^2) y correlaciones ambientales (r_e) para DM2 y otras variables

metabólicas. Mediante regresión logística se identificó la asociación de los SNPs con DM2 (casos-contróles y pares de hermanos) en los modelos aditivo, dominante y recesivo. Adicionalmente, se analizó el desequilibrio de transmisión en los tríos (padres-hijos) y se utilizó un modelo para la integración de los resultados con los obtenidos en el análisis de casos-contróles. Se realizó un análisis de regresión lineal robusta para identificar la asociación de los SNPs con variables cuantitativas relacionadas con el metabolismo de la glucosa. Finalmente, se construyó una puntuación del riesgo genético (GRS por sus siglas en inglés) con la suma de los alelos de riesgo de los SNPs identificados como asociados a DM2 y se integraron en un modelo de regresión logística que consideró además los factores de riesgo habituales para el desarrollo de la enfermedad. Se determinó el área bajo la curva para evaluar la capacidad discriminadora de integrar el GRS a los factores de riesgo habituales para predecir la presencia de la enfermedad.

Resultados. La heredabilidad para DM2 de inicio en la edad pediátrica fue de $h^2=0.5$ ($p<1.0E-7$). Para el caso de hipertensión, hipoalfalipoproteinemia, índice de masa corporal (IMC), hipercolesterolemia, circunferencia de cintura, presión arterial, insulina de 2 horas y colesterol total fue de $h^2\geq 0.5$ ($p<0.001$). Por otro lado, se observó una alta correlación ambiental ($r_e>0.50$) para presión arterial, hemoglobina glucosilada A1c y colesterol HDL ($p<0.05$). La resistencia a la insulina y la DM2 se correlacionó de forma significativa solamente con la madre, mientras que la hipertrigliceridemia únicamente con el padre.

5 SNPs del microarreglo se asociaron con DM2 de inicio en la edad pediátrica en el análisis de casos-contróles: *ADORA1/rs903361* (OR=1.9, IC95% 1.2;3.0); *CADM2/rs13078807* (OR=2.2, IC95% 1.2;4.0); *GNPDA2/rs10938397* (OR=2.2, IC95% 1.4;3.7); *VEGFA/rs6905288* (OR=1.4, IC95% 1.1;2.1) y *FTO/rs9939609* (OR=1.8, IC95% 1.0;3.2). En el análisis combinado de casos-contróles y tríos se corroboró la asociación de los SNPs *GNPDA2/rs10938397* (OR=1.6, IC95% 1.3;2.0) y *VEGFA/rs6905288* (OR=1.5, IC95% 1.2-1.8), y se identificó la asociación de otras 4 variantes: *LINGO/rs10968576* (OR=2.0, IC95% 1.6;2.3), *POC5/rs2112347* (OR=1.7, IC95% 1.4;2.0), *GLIS/rs7034200* (OR=2.0, IC95% 1.8;2.4) y *RPS10/rs206936* (OR=1.5, IC95% 1.2;1.8). Los SNPs *POC5/rs2112347* y *RPS10/rs206936* estuvieron asociados con el alelo materno y *GLIS/rs7034200* con el alelo paterno. Adicionalmente, se identificaron 16 SNPs asociados con variables cuantitativas relacionadas al metabolismo de la glucosa en los participantes sin diabetes, independientemente del IMC.

De los 4 SNPs genotificados individualmente, el alelo G del gen *SLC16A11/rs13342232* se asoció a DM2 de inicio en la edad pediátrica en el análisis combinado de caso-control y tríos (OR=1.4, IC95% 1.1;1.7). Por su parte, la variante *TCF7L2/rs12255372* se asoció con los niveles de péptido C en pacientes con diabetes ($\beta=-0.76$, $p=0.005$) y con glucosa en ayuno ($\beta=2.05$, $p=0.039$) y HOMA-B ($\beta=-32.14$, $p=0.025$) en participantes sin diabetes.

Con el total de los 10 SNPs que se identificaron asociados a DM2 de inicio en la edad pediátrica, se construyó un GRS el cual tuvo una asociación significativa con DM2 (OR=1.3 por alelo de riesgo, $p=0.008$). Por su parte, el Z-score del IMC y el antecedente de DM2 en la madre también se asociaron con la presencia de la enfermedad (OR=1.7, $p=0.004$ y OR=6.4, $p<0.001$ respectivamente). No identificamos asociación con ninguna de las otras variables ambientales analizadas. El área bajo la curva del modelo incluyendo edad, sexo, Z-score del IMC, historia materna de DM2 y el GRS fue significativamente mayor que el modelo sin esta última variable (0.78 vs 0.71 respectivamente, $p=0.020$).

Conclusiones. La DM2, así como otras alteraciones cardiometabólicas, tienen una fuerte heredabilidad y/o contribución ambiental en niños y adolescentes mexicanos, lo que resalta la complejidad de estos trastornos. La heredabilidad de la DM2 de inicio en la edad pediátrica se estimó en 50%, con una mayor transmisión por rama materna. Este estudio permitió además identificar 10 SNPs asociados a la presencia de DM2 de inicio en la edad pediátrica en familias de niños y adolescentes mexicanos con diferencias en la transmisión parental en algunos de ellos. Algunos de estos SNPs no habían sido relacionados con la enfermedad y otros se habían reportado en grupos étnicos diferentes al nuestro o únicamente en presentaciones tardías. La inclusión de estos 10 SNPs en un GRS, en conjunto con factores de riesgo habituales para la enfermedad, parece mejorar la predicción de DM2 de inicio en la edad pediátrica en nuestra población; sin embargo, se requiere de otros estudios para confirmar estas observaciones.

ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
CTOG	Curva de tolerancia oral a la glucosa
CC	Circunferencia de cintura
DE	Desviación estándar
c-HDL	Colesterol HDL (<i>high density lipoprotein</i>)
c-LDL	Colesterol LDL (<i>low density lipoprotein</i>)
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
GRS	Puntaje de riesgo genético (<i>Genetic risk score</i>)
IC	Intervalo de confianza
h^2	Heredabilidad
IMC	Índice de masa corporal
MODY	Diabetes tipo MODY (<i>Maturity-onset diabetes of the young</i>)
r_e	Correlación ambiental
OR	Odds ratio (razón de momios)
ORadj	Odds ratio ajustado
SAGE	Análisis estadístico para epidemiología genética (<i>Statistical Analysis for Genetic Epidemiology</i>)
SNPs	Polimorfismos de un solo nucleótido
PAS	Presión arterial sistólica
PAD	Presión arterial diastólica
TDT	Prueba de desequilibrio de transmisión (<i>Transmission disequilibrium test</i>)

ANTECEDENTES

En las últimas décadas, la prevalencia de obesidad, síndrome metabólico y diabetes mellitus tipo 2 (DM2) ha incrementado en todo el mundo.^{1,2} En México, aproximadamente 70% de los adultos y 34.4% de los niños (5-11 años) tienen sobrepeso u obesidad, de los cuales 26.6% y 20% tienen síndrome metabólico, respectivamente, mientras que el 9.1% de los adultos tienen diabetes, siendo la DM2 la forma más prevalente.³⁻⁵

Por mucho tiempo, la DM2 se consideró una enfermedad exclusiva de adultos, sin embargo, el perfil epidemiológico ha cambiado. En México, la enfermedad se está presentando a edades tempranas (antes de los 45 años)^{6, 7} e inclusive en etapas que podríamos considerar como “ultra tempranas” (antes de los 19 años).⁸ Hasta hace dos décadas, de todos los casos de diabetes en pacientes pediátricos, la DM2 comprendía sólo el 3%, pero el cambio en los estilos de vida que favorecen el desarrollo de obesidad, ha ocasionado un incremento en el porcentaje de casos, reportándose 45% en Norteamérica y 80% en Japón.⁹ Aunque la prevalencia de DM2 en niños y adolescentes continúa siendo baja, el sobrepeso y la obesidad han incrementado,¹⁰ por lo que se espera que llegue a ser el principal tipo de diabetes en las siguientes décadas como se ha observado en algunas poblaciones.^{11, 12}

Se ha señalado que la DM2 de inicio temprano corresponde a un fenotipo más agresivo, los pacientes suelen ser más obesos, tienen mayores alteraciones lipídicas, peor control metabólico, mayores complicaciones crónicas, así como un alto riesgo de infarto y muerte cardiovascular.¹³⁻¹⁶ Sin embargo, estas aseveraciones provienen de estudios que involucran pacientes mayores de 20 años y es de esperar que la presentación de la enfermedad en la edad pediátrica se relacione con un fenotipo aún más adverso.¹⁷

Factores de riesgo

La DM2 es producto de un mecanismo dual de resistencia a la insulina y disfunción de la célula beta pancreática.¹⁸ Se trata de una enfermedad multifactorial en la cual participan factores genéticos y ambientales que interactúan predisponiendo o protegiendo a los individuos para desarrollarla. Cuando los factores genéticos de susceptibilidad se combinan con factores ambientales nocivos, se desencadena la expresión de la enfermedad.

Factores de riesgo ambiental

El tiempo en el que ha incrementado la incidencia de DM2 no ha sido suficiente para que se hayan presentado cambios significativos en el genoma humano que por sí mismos expliquen este aumento, por lo

que los factores ambientales son en gran parte los responsables del incremento de la enfermedad en personas susceptibles.^{19, 20}

Se considera que la obesidad es el principal factor de riesgo adquirido para el desarrollo de DM2, esto apoyado por un incremento paralelo entre la obesidad y la incidencia de la enfermedad en diversos grupos poblacionales. Aproximadamente el 85% de los niños con DM2 son obesos a consecuencia de estilos de vida poco saludables relacionados con el sedentarismo y los malos hábitos de alimentación.^{9, 21} La presencia de obesidad, sobre todo aquella que se localiza a nivel visceral, ocasiona cambios metabólicos diversos (resistencia a la insulina, alteraciones en el metabolismo de los lípidos, estados pro-inflamatorios crónicos, etc.) que se asocian con mayor riesgo de enfermedades metabólicas y cardiovasculares.²²

Entre los factores de riesgo ambiental, también se han señalado los que influyen desde la etapa perinatal y que son capaces de programar alteraciones metabólicas que repercutirán en la vida adulta predisponiendo al desarrollo de DM2 como son: la exposición a diabetes gestacional, peso al nacimiento ≤ 2500 gr ó ≥ 4000 gr, así como el crecimiento acelerado durante los primeros meses de vida.^{23, 24}

Factores de riesgo genético

Los factores de riesgo genético permiten explicar por qué existe una mayor incidencia de la enfermedad en algunos grupos étnicos así como en familiares de pacientes afectados, la diferencia en la concordancia entre gemelos monocigotos y dicigotos y el por qué la enfermedad se presenta solamente en algunos de todos los individuos expuestos a factores ambientales adversos.²⁵

Grupos étnicos de riesgo. Estudios multiétnicos han descrito que las poblaciones asiática, hispana, afro-americana e indígena de Norteamérica tienen un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad, siendo los indios Pima la población más susceptible.²⁶⁻²⁸ La Federación Internacional de Diabetes señala que la prevalencia de la enfermedad en México es una de las más altas a nivel mundial.²⁹

Agregación familiar. Se ha observado que los familiares de pacientes con DM2 tienen un riesgo 2 a 6 veces mayor de desarrollar la enfermedad en comparación con aquellos sin antecedentes familiares. Los datos sugieren que aproximadamente 85% de los niños con DM2 cuentan con un familiar afectado y se ha estimado que cuando uno de los padres tiene DM2, la probabilidad de que sus hijos desarrollen la enfermedad es de 40%; mientras que si ambos padres la presentan la probabilidad incrementa al 70%.³⁰ En un estudio previo realizado por nuestro equipo de investigación, se encontró una prevalencia de la enfermedad en familiares de niños y adolescentes del 23.7%, lo que resultó mayor al 14.6% reportado como la prevalencia nacional al tiempo que se hizo el estudio.³¹

Transmisión parental. En diversos estudios se ha reportado una mayor transmisión de la enfermedad por rama materna, así como un mayor número de mujeres afectadas. En un estudio en niños México-americanos con DM2, se reportó el antecedente de la enfermedad en el padre en 15.9%, en la madre en 38.6% y en ambos en el 6.8%.³² Datos similares fueron observados en nuestra población con afectación del 18.9% de los padres de pacientes pediátricos con DM2 y el 36.5% de las madres, encontrándose además un mayor número de familiares de segundo grado del sexo femenino afectadas.³¹

Heredabilidad. Las familias además de compartir factores genéticos también comparten factores ambientales que pudieran explicar la mayor frecuencia de la enfermedad en sus integrantes, pero la concordancia observada de DM2 en gemelos monocigotos (50 a 80%) vs en gemelos dicigotos (37%) apoya el papel de los factores genéticos en el riesgo familiar.³³ La heredabilidad es una medida para establecer el componente genético de una condición y hace referencia a la variabilidad fenotípica que puede ser explicada por factores genéticos. El grado de susceptibilidad genética para las alteraciones cardiometabólicas varía entre distintos grupos étnicos³⁴ y se han reportado para el caso de DM2 heredabilidades que van de 0.20 a 0.80.³⁵ La mayoría de esta información deriva de estudios en adultos y la heredabilidad no necesariamente puede extrapolarse a niños, debido a que la contribución de los factores genéticos y ambientales puede ser diferente a lo largo de la vida. Específicamente, la participación de los factores genéticos puede ser mayor cuando enfermedades complejas como la DM2 afectan a población joven.³⁶ Uno de los problemas encontrados cuando se evalúa la importancia de los factores genéticos, como ya se mencionó, es que las familias también comparten factores ambientales, por lo que cualquier correlación observada entre los integrantes de una familia puede ser debida a factores de riesgo ambiental en común. Por lo anterior, es importante incluir a los factores ambientales en la estimación de la heredabilidad, lo cual ha sido una debilidad en varios de los estudios previos.

Variantes genéticas. Se han realizado múltiples estudios en búsqueda de factores genéticos relacionados con la DM2 y se han propuesto una gran cantidad de genes candidatos en diversos estudios familiares y poblacionales.^{37, 38} Sólo entre el 5 y 10% de los casos de DM2 son causados por alteraciones monogénicas y la mayoría parece ser el resultado de la participación de diversos genes, cada uno con diferentes aspectos de susceptibilidad o de protección, con efectos parciales y aditivos, que interactúan entre sí en distintas combinaciones y en donde cada uno de los factores ambientales involucrados pueden modificar su expresión y acelerar o retrasar el inicio de la enfermedad; por lo anterior, el patrón de susceptibilidad de cada individuo puede resultar difícil de identificar.^{25, 39, 40}

Con los resultados del proyecto del genoma humano se han podido detectar secuencias particulares de riesgo para DM2 que corresponden en su mayoría a variaciones en la secuencia del ADN que afectan a un solo nucleótido y que son conocidas como SNPs, las cuales se presentan en más del 1% de la población.⁴¹

⁴² Los SNPs comprenden hasta el 90% de las variantes genómicas y pueden modificar secuencias de transcripción o traducción y por lo tanto alterar diversas vías metabólicas.^{43, 44}

En la actualidad, aproximadamente 153 variantes en >120 loci han sido asociadas a DM2 en adultos, las cuales explican menos del 20% de la heredabilidad de la enfermedad.⁴⁵ Estos estudios genéticos se han realizado casi exclusivamente en adultos y los hallazgos se han replicado en su mayoría en población europea y asiática, mientras que los estudios en población de descendencia hispana, incluyendo la mexicana no ha sido tan extensa. Uno de los meta-análisis más recientes es el de Saxena y cols., que incluyó mapeos amplios del genoma (~50,000 SNP) en población europea, identificando los *loci* más asociados a DM2 en esta población (Tabla 1).⁴⁶

Debido a las diferencias genéticas entre los distintos grupos étnicos, se requiere la identificación del perfil de riesgo en escenarios particulares. En población México-americana se han señalado regiones de susceptibilidad en los cromosomas 2, 3, 4, 9, 10 y 15^{47, 48} y entre los genes con mayor asociación se encuentran: *TCF7L2*, *CAPN10*, *HNF4*, *UBQLNL*, *OR52H1*, *RALGPS2*, *MGEA5*, *IRS-1*, *EGR2*.⁴⁹⁻⁵² Asimismo, en población mexicana se han descrito SNPs asociados a la enfermedad en los genes *CAPN10*, *CNR1*, *SLC30A8*, *GCK*, *PCSKA*, *IL6*, *HNF1*, *ABCA1*, *SLC16A11*, *PPAR*, *LOC100507205*, entre otros.⁵³⁻⁵⁹ SNPs del gen *TCF7L2* (rs7903146 y rs12255372), han sido los que con mayor consistencia se han asociado a DM2 en distintas poblaciones, incluyendo la mexicana.^{46, 60, 61}

Tabla 1. SNPs asociados a DM2 en un meta-análisis de estudios con ancestría europea (modificado de la referencia ⁴⁶).

Cromosoma	Gen	SNP	Alelo de riesgo	FAR	OR (IC95%)	p
1	<i>NOTCH2</i>	rs10923931	T	0.10	1.06 (1.01;1.12)	3.23E-2
1	<i>NOTCH2</i>	rs2641348	G	0.11	1.06 (1.01;1.12)	1.95E-2
2	<i>GCKR</i>	rs780094*	C	0.59	1.09 (1.05;1.12)	2.12E-7
2	<i>THADA</i>	rs7578597	T	0.90	1.16 (1.10;1.22)	2.91E-7
2	<i>RBMS1</i>	rs6718526	C	0.79	1.16 (1.10–1.22)	1.20E-1
3	<i>PPARG</i>	rs1801282	C	0.88	1.11 (1.10–1.16)	2.15E-5
3	<i>PPARG</i>	rs7649970	C	0.88	1.11 (1.06–1.16)	7.87E-6
3	<i>ADAMTS9</i>	rs4607103	C	0.74	1.05 (1.02–1.10)	4.11E-3
3	<i>ADAMTS9</i>	rs9860730	A	0.68	1.05 (1.02–1.09)	1.243-3
3	<i>IGF2BP2</i>	rs1470579	C	0.32	1.14 (1.10–1.18)	9.19E-16
4	<i>VFS1</i>	rs10010131	G	0.60	1.14 (1.10–1.18)	3.37E-2
4	<i>WFS1</i>	rs4688985	G	0.73	1.10 (1.05–1.14)	2.88E-7
6	<i>CDKAL1</i>	rs7754840	C	0.32	1.16 (1.12–1.20)	4.58E-19
6	<i>CDKAL1</i>	rs9368222	A	0.27	1.18 (1.14–1.22)	5.37E-21
7	<i>DGKB-TMEM195</i>	rs10244051	G	0.54	1.04 (0.95–1.14)	4.02E-1
7	<i>JAZF1</i>	rs864745	T	0.50	1.11 (1.08–1.14)	2.22E-9
7	<i>GCK</i>	rs4607517	A	0.18	1.10 (0.98–1.23)	1.07E-1

Cromosoma	Gen	SNP	Alelo de riesgo	FAR	OR (IC95%)	p
7	GCK	rs1990458	C	0.59	1.08 (1.04–1.11)	1.67E-6
8	SLC30A8	rs13266634	C	0.70	1.11 (1.08–1.15)	2.49E-9
9	CDKN2A/B	rs10811661	T	0.82	1.19 (1.14–1.23)	4.83E-16
10	CDC123/CAMK1D	rs12779790	G	0.18	1.07 (0.99–1.15)	7.28E-2
10	HHEX/IDE	rs5015480	C	0.60	1.12 (1.10–1.16)	2.68E-14
10	TCF7L2	rs7903146	T	0.30	1.44 (1.40–1.49)	1.21E-109
11	KCNQ1	rs163184	G	0.48	1.08 (1.05–1.11)	6.08E-7
11	KCNQ1	rs2237892	C	0.94	1.11 (0.92–1.37)	2.61E-1
11	KCNQ1	rs231362	G	0.52	1.08 (1.04–1.11)	5.90E-6
11	KCNJ11	rs5215	C	0.37	1.09 (1.06–1.13)	1.65E-8
11	CENTD2 region	rs613937	A	0.81	1.08 (1.04–1.13)	1.17E-4
11	MTNR1B	rs10830963	G	0.30	1.05 (1.01–1.08)	8.07E-3
11	IRS1 region	rs2943634	C	0.67	1.05 (1.01–1.08)	4.32E-7
12	TSPAN8/LGR5	rs7961581	G	0.71	1.06 (1.01–1.10)	1.57E-2
12	HMGA2	rs17179453	C	0.09	1.10 (1.05–1.16)	3.73E-4
12	HNF1A	rs12427353	G	0.77	1.07 (1.03–1.12)	4.76E-4
15	ZFAND6	rs2903265	G	0.72	1.01 (0.98–1.05)	4.62E-1
16	FTO	rs11642841	A	0.41	1.06 (1.03–1.09)	1.78E-4
17	HNF1B	rs4430796	G	0.51	1.08 (1.05–1.12)	2.48E-7
X	DUSP9	rs5945326	A	0.77	1.09 (1.03–1.15)	2.53E-3

FAR: frecuencia del alelo de riesgo, OR: odds ratio.

En el 2011, se publicaron los resultados de un estudio amplio del genoma en mexicanos (967 casos y 343 controles) en conjunto con un meta-análisis de la muestra de México-americanos del estudio Starr County TX, USA, así como de los genes más asociados del Diabetes Genetics Replication and Meta-analysis Consortium (DIAGRAM).⁵³ Las principales variantes genéticas asociadas a DM2 en esta población se muestran en las Tablas 2 y 3.

Tabla 2. Resultados del meta-análisis de los datos de la Ciudad de México y el Starr County Study (modificado de la referencia⁵³).

Cromosoma	Gen	SNP	Otro alelo	Alelo efecto	OR (IC 95%)	P
Sin índice de masa corporal como covariable						
1	RP11-354K1.1	rs7516189	G	A	1.46 (1.24-1.72)	7.5E-6
3	LSAMP	rs938911	G	A	2.05 (1.50-2.82)	8.6E-6
3	FGF12	rs9831045	T	A	1.41 (1.22-1.62)	2.4E-6
8	CSMD1	rs9773092	T	G	1.42 (1.23-1.63)	9.4E-7
8	NIIPAL2	rs896416	C	T	1.37 (1.19-1.57)	7.7E-6
9	RP11-74C3.1	rs10809674	A	G	1.47 (1.25-1.74)	5.6E-6
12	CIT	rs202983	A	G	1.52 (1.26-1.82)	8.9E-6
12	HNF1A	rs7305618	T	C	1.69 (1.3-2.06)	2.8E-7

Cromosoma	Gen	SNP	Otro alelo	Alelo efecto	OR (IC 95%)	P
22	<i>DEPDC5</i>	rs5998144	T	C	1.56 (1.29-1.89)	4.5E-6
Con índice de masa corporal como covariable						
1E-6	<i>EPHB2</i>	rs10465543	G	A	1.52 (1.26-1.83)	9.4E-6
1E-6	<i>RP11-354K1.1</i>	rs7516189	G	A	1.48 (1.25-1.75)	5.73E-6
3E-6	<i>FGF12</i>	rs9831045	T	A	1.39 (1.20-1.61)	9.16E-6
4E-6	<i>ANK2</i>	rs413019	G	A	1.41 (1.21-1.64)	6.71E-6
8E-7	<i>CSMD1</i>	rs9773092	T	G	1.43 (1.24-1.65)	6.11E-7
8E-6	<i>MCPH1</i>	rs4841333	A	G	1.50 (1.26-1.78)	3.70E-6
9E-	<i>RP11-74C3.1</i>	rs10809674	A	G	1.52 (1.28-1.80)	1.93E-6
11	<i>KCNQ</i>	rs2237892	T	C	1.47 (1.24-1.74)	6.75E-6
12	<i>CIT</i>	rs202983	A	G	1.57 (1.30-1.90)	2.71E-6
12	<i>HNF1A</i>	rs7305618	T	C	1.69 (1.38-2.08)	3.91E-7
22	<i>DEPDC5</i>	rs5998144	T	C	1.61 (1.32-1.96)	1.68E-6

FAR: frecuencia del alelo de riesgo, OR: odds ratio.

Tabla 3. Resultados del meta-análisis de estudios de la Ciudad de México y el estudio DIAGRAM (modificado de la referencia⁵³).

Cr	Gen	SNP	Otro alelo	Alelo efecto	OR (IC 95%)	p	OR (IC 95%) seguimiento	p seguimiento
3	<i>IFG2BP2</i>	rs1374910	C	T	1.3 (1.16-1.45)	9.5E-6	1.30 (1.16-1.45)	9.5E-6
9	<i>PTPRD</i>	rs1544056	C	A	1.18 (1.11-1.26)	4.4E-7	1.18 (1.11-1.26)	4.4E-7
9	<i>CDKN2A/CDKN2B</i>	rs1333051	T	A	1.32 (1.21-1.44)	9.6E-10	1.32 (1.21-1.44)	9.6E-10
11	<i>KCNQ1</i>	rs2237892	T	C	1.26 (1.14-1.40)	5.6E-6	1.26 (1.14-1.40)	5.6E-6
12	<i>HNF1A</i>	rs7305618	T	C	1.16 (1.08-1.24)	4.4E-5	1.16 (1.08-1.24)	4.4E-5
14	<i>C14orf70</i>	rs730570	A	G	1.21 (1.12-1.31)	4.0E-6	1.21 (1.12-1.31)	4.0E-6

Cr: cromosoma

SNPs de los genes *SLC16A11* (rs13342232) y *ABCA1* (rs9282541) se han identificado como marcadores genéticos para DM2 casi exclusivamente en población mexicana, con una mayor fuerza de asociación en presentaciones tempranas de la enfermedad (<40 años), aunque no habían sido explorados en presentaciones “ultratemporanas” (<19 años).^{55, 62}

La mayoría de los estudios de genes de susceptibilidad para DM2 incluyen adultos mayores de 50 años, mientras que los estudios en niños y adolescentes son escasos. A pesar de que se considera que la susceptibilidad genética es mayor cuando estas enfermedades complejas afectan a individuos de menor edad, haciéndolos menos tolerantes a los factores de riesgo ambiental,³⁶ los SNPs asociados con el riesgo de DM2 de presentación en la edad adulta no siempre se observan en presentaciones tempranas de la enfermedad o viceversa.^{63, 64} Estas diferencias pueden ser debidas a distintos perfiles genéticos, interacciones con otros factores ambientales que modifican la expresión de la enfermedad a diferentes

edades o bien puede ser solamente cuestión de tiempo para que los individuos susceptibles desarrollen DM2.

De los genes de riesgo descritos en adultos, el gen *TCF7L2* ha mostrado tener alguna asociación en estados pre diabéticos en niños, mientras que el gen *HNF1* G319S ha sido confirmado como gen de susceptibilidad en niños con DM2.⁶⁵ Por su parte, Dabalea y cols., identificaron variantes del gen *TCF7L2* asociados con un incremento en el riesgo de DM2 en adolescentes afro-americanos pero no así en blancos no hispanos.⁶⁴ En México, se realizó un estudio en familias de pacientes pediátricos con DM2, en el cual se investigó el papel de los genes relacionados con la diabetes tipo MODY (*maturity-onset diabetes of the young*), sin encontrarse asociación.^{66, 67} Hasta nuestro conocimiento, estos son los únicos estudios que han evaluado la asociación de variantes genéticas con la presencia de DM2 de inicio en la edad pediátrica, por lo que se requiere de mayor investigación para identificar variantes de susceptibilidad para DM2 en estas presentaciones “ultratempranas” de la enfermedad.

Los marcadores de riesgo genético para DM2 también se han asociado con los niveles de glucosa, función de la célula beta pancreática, así como con la sensibilidad y resistencia a la insulina en adultos sin DM2, esto independiente de su índice de masa corporal (IMC).^{68, 69} También se han observado asociaciones similares en niños.⁷⁰

La mayoría de los SNPs relacionados con DM2 se asocian con un riesgo relativamente bajo, sin embargo, un riesgo mayor se puede obtener mediante la combinación de diversos marcadores juntos.⁴⁴ Se ha señalado que por cada alelo de riesgo (puntuación de riesgo genético o GRS por sus siglas en inglés) el OR puede ser de 1.06 (IC95% 1.03-1.08), el cual se mantiene al ajustar por edad, sexo, IMC, tabaquismo, actividad física y alimentación.⁷¹ En población hispana, una evaluación de GRS que consideró 27 SNPs, mostró una asociación significativa con el riesgo de DM2 (OR=1.07 por alelo de riesgo, IC95% 1.03-1.12, p=0.0021).⁴⁶ La integración de estos factores genéticos a los factores de riesgo clásicos para el desarrollo de DM2, podría mejorar los modelos de predicción de la enfermedad en población susceptible.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México la DM2 representa un problema de salud pública debido a que su prevalencia ha ido en aumento y se está extendiendo a edades cada vez más tempranas. Se sabe que existe una mayor incidencia de DM2 en grupos familiares en donde sus integrantes comparten factores genéticos y ambientales; sin embargo, se desconoce el por qué no todos los familiares desarrollan la enfermedad y de los que la presentan no se sabe por qué lo hacen de forma distinta. Se ha postulado que los factores genéticos pueden contribuir a las diferencias en la susceptibilidad para presentar la enfermedad entre los individuos, pero a pesar de lo

anterior, la interacción de los factores genéticos con los factores ambientales de riesgo para el desarrollo de DM2 así como de otras alteraciones metabólicas no está completamente delineada.

A pesar de que existe una gran cantidad de estudios que han identificado variantes genéticas asociadas a DM2 en distintos grupos étnicos, la información es menor en población mexicana, la cual parece tener genotipos de susceptibilidad propios que hasta la fecha no están completamente identificados. Aunado a lo anterior, a pesar de que se considera que puede existir una mayor participación de factores genéticos en las enfermedades complejas cuando afectan a población de menor edad, la información sobre variantes génicas en las presentaciones pediátricas de DM2 es todavía escasa. Otra interrogante que ha sido poco explorada, es si la mayor correlación de la enfermedad por rama materna puede ser explicada por una diferencia en la transmisión parental de variantes genéticas de susceptibilidad.

Por lo anterior, se requieren estudios que permitan identificar los factores genéticos que contribuyen al riesgo de DM2 de inicio en la edad pediátrica en población mexicana y analizar su posible contribución al incluirlos junto con los factores de riesgo ya descritos para la enfermedad en los modelos de predicción de riesgo.

PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

- ¿Cuál es la heredabilidad de la DM2 y variables metabólicas relacionadas en familias mexicanas?
- ¿Existen diferencias en la transmisión parental de la DM2 y otras variables metabólicas relacionadas en familias mexicanas?
- ¿Cuáles son los SNPs que contribuyen al riesgo de DM2 en pacientes pediátricos mexicanos?
- ¿Cuál es el patrón de transmisión parental de los SNPs asociados a DM2 en familias mexicanas con pacientes pediátricos afectados?
- ¿Existe asociación de los SNPs identificados de riesgo para DM2 con otras variables metabólicas relacionadas con la enfermedad?
- ¿La suma de los alelos de los SNPs identificados puede mejorar la predicción que se tiene con los factores de riesgo clásicos para el desarrollo de DM2 de inicio en la edad pediátrica?

JUSTIFICACIÓN

El aumento en la prevalencia e incidencia de la DM2 en todos los grupos etarios de nuestro país y el alto costo que conlleva la atención de la enfermedad y sus comorbilidades, llevan a la necesidad de contar con modelos de predicción diagnóstica y prevención desde etapas tempranas de la vida. Dado que se trata de una enfermedad multifactorial, además de los factores de riesgo clásicos para la enfermedad (*ej. obesidad, antecedentes familiares, peso bajo o alto al nacimiento, etc.*), se deben de incorporar factores de riesgo genético a los modelos de predicción. Por lo anterior, es importante identificar las variantes genéticas que

pudieran ser propias de la población mexicana, lo cual podría favorecer la detección de población en riesgo. Adicionalmente, la identificación de variantes genéticas asociadas al riesgo de DM2 de inicio en la edad pediátrica, contribuirá a un mejor entendimiento de los mecanismos moleculares involucrados en el desarrollo de la enfermedad.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Identificar factores genéticos relacionados con la presencia de DM2 de inicio en la edad pediátrica en familias niños y adolescentes mexicanos.

Objetivos específicos

- Estimar la heredabilidad y contribución ambiental de la variación fenotípica de la DM2 en familias de niños y adolescentes mexicanos.
- Identificar diferencias en la transmisión parental de la DM2.
- Evaluar la asociación de 64 SNPs previamente asociados con obesidad y otras alteraciones metabólicas con la presencia de DM2 de inicio en la edad pediátrica.
- Evaluar la asociación de 4 SNPs previamente asociados con DM2 (2 SNPs del gen *TCF7L2*, 1 SNP del *SLC16A11* y 1 SNP del *ABCA1*) con la presencia de DM2 de inicio en la edad pediátrica.
- Identificar el patrón de transmisión parental de los SNPs de riesgo.
- Identificar la asociación de los SNPs estudiados con otras variables metabólicas relacionadas a la DM2 en individuos con y sin DM2.
- Construir un GRS con los SNPs identificados asociados con la presencia de la DM2 de inicio en la edad pediátrica y evaluar su asociación con la enfermedad.

Objetivos secundarios

- Estimar la heredabilidad y contribución ambiental de variables metabólicas relacionadas con la DM2 en familias de niños y adolescentes mexicanos.
- Identificar diferencias en la transmisión parental de alteraciones metabólicas relacionadas con la DM2.
- Evaluar la utilidad de la integración del GRS a los factores de riesgo habituales para la predicción de DM2 de inicio en la edad pediátrica.

HIPÓTESIS

Con el presente estudio se planteaba corroborar las siguientes hipótesis:

- La heredabilidad para DM2 será $\geq 50\%$ para DM2 y otras variables metabólicas relacionadas, siendo esta heredabilidad mayor en presentaciones más tempranas de la enfermedad.
- Existiría una mayor transmisión de la DM2, variables metabólicas y SNPs asociados a DM2, por la rama materna.
- Se identificarían al menos 5 SNPs de riesgo para DM2 de inicio temprano con un OR ≥ 1.3 .
- Los SNPs evaluados se podrían asociar con otras variables metabólicas relacionadas en individuos con y sin diabetes.
- Se podría integrar una puntuación de riesgo genético con un OR ≥ 1.07 por alelo de riesgo con los SNPs identificados asociados a la enfermedad.

METODOLOGÍA

Tipo de estudio

El presente estudio parte de un diseño transversal analítico en el que se incluyeron tres generaciones de familias de 99 pacientes pediátricos con DM2 y 85 familias de niños y adolescentes sin la enfermedad. Lo anterior, permitió analizar la heredabilidad, correlación ambiental y transmisión parental de las variables analizadas.

A partir de estas familias se pudieron identificar casos con DM2 y controles sin la enfermedad (niños y adultos) para el análisis de la asociación de las variantes genéticas con la presencia de la enfermedad. La inclusión de controles adultos además de los controles pediátricos, permitió reducir la posibilidad de una mala clasificación de la enfermedad, ya que los controles pediátricos podrían desarrollar la enfermedad con el paso del tiempo.

Se construyó un diseño “híbrido” en el que se pudieron realizar análisis de casos-contróles, casos-tríos y pares de hermanos, con el objetivo de identificar asociaciones entre las variantes genéticas y la presencia de DM2. Los estudios de tipo casos-contróles son utilizados para probar asociaciones entre enfermedades y genes candidatos, teniendo como alternativas los estudios de base familiar. Para incrementar el poder estadístico de estos estudios se han propuesto abordajes “híbridos” en los cuales se combinan diseños de casos-contróles y casos-tríos con el objetivo de enriquecer el análisis genético sobre todo en aquellas enfermedades de baja prevalencia y alelos de poca frecuencia como es el caso de la DM2. Los modelos híbridos permiten estimar riesgos relativos del genotipo incluyendo tríos de casos y sujetos no familiares. Además, estos modelos tienen la ventaja de poder analizar datos de ligamiento parental y análisis de datos con valores ausentes.

Participantes

Familias con un caso de DM2 de inicio en la edad pediátrica. Se consideraron como casos índices a pacientes de cualquier sexo, con diagnóstico reciente de DM2 (menos de un mes), con inicio de la enfermedad antes de los 18 años. Los pacientes fueron reclutados entre enero de 2011 y junio de 2014 en la Clínica de Diabetes del Hospital Infantil de México Federico Gómez. A partir de estos casos índices se incluyó a sus padres y hermanos, así como información de sus abuelos.

La presencia de DM2 fue determinada de acuerdo a los siguientes criterios:

- Diagnóstico previo de DM2 y/o resultados positivos en una curva de tolerancia oral a la glucosa (CTOG) de acuerdo a los criterios de la Asociación Americana de Diabetes.^{1,2}
- Ausencia de anticuerpos anti-descarboxilasa del ácido glutámico y anti-insulina.
- Sin características clínicas para considerar diabetes tipo MODY como:
 - Elevación leve y estable de la glucosa.
 - Múltiples miembros en la familia con diabetes sin características de tipo 1 (sin auto-anticuerpos pancreáticos, sin requerimientos o pocos requerimientos de insulina 5 años posteriores al diagnóstico) o de tipo 2 (obesidad marcada, acantosis nigricans).^{1,2}
- Niveles de péptido C ≥ 0.45 ng/mL.

Familias control. Fueron contactadas solicitando a las familias caso que invitaran amigos, vecinos o conocidos, con algún integrante de edad similar a los casos índices y que no tuvieran el diagnóstico de diabetes para que fungieran como controles poblaciones. La ausencia de la enfermedad fue corroborada al momento del estudio mediante una CTOG. Estas familias no tenían relación familiar con los casos.

Todas las familias habitaban en la zona metropolitana del Valle de México y las tres generaciones a partir del caso índice eran nacidas en México. Nuestro grupo de investigación ha observado que la proporción de ancestría de la cual proviene nuestra muestra consiste en 65% nativo americano, 30% europeo y 5% africano.^{53, 72, 73}

Para las mediciones bioquímicas no se incluyeron a menores de 8 años, mujeres embarazadas, pacientes con enfermedades crónicas que podían modificar las variables de estudio (enfermedades autoinmunes, oncológicas, etc.), exceptuando síndrome metabólico, diabetes mellitus y enfermedades cardiovasculares.

Procedimientos

Las mediciones se realizaron en el Hospital Infantil de México Federico Gómez. Se incluyó información tri-generacional de las familias y se realizaron las mismas mediciones fenotípicas tanto en los integrantes de

las familias caso como en las familias control. Mediante interrogatorio directo a los padres se obtuvo información de los abuelos (edad, sexo e historia de DM2 y otras enfermedades crónicas). Las mediciones antropométricas, pruebas bioquímicas, aplicación de cuestionarios de actividad física y frecuencia de consumo de alimentos, evaluación de la condición física, así como la genotipificación fue obtenida en las generaciones de padres e hijos. Adicionalmente se obtuvo información sobre antecedentes perinatales en la última generación.

Se invitó a los participantes y se les explicaron las características del estudio, objetivos, procedimientos, riesgos y beneficios. Se solicitó la firma de las cartas de consentimiento informado, asentimiento y autorización para guardar muestras de sangre en un banco de ADN a cada uno de los participantes (Anexos 2, 3 y 4). Los integrantes de las familias acudieron en dos ocasiones para la realización del estudio.

En la primera visita se obtuvieron los antecedentes heredofamiliares y perinatales de los participantes y se realizaron las mediciones de presión arterial y antropometría (Anexos 5 y 6). Los pacientes acudieron con ayuno de 12 horas y se tomó una muestra de glucemia capilar, así como muestras de sangre venosa para la determinación de las pruebas bioquímicas y los estudios genéticos. Adicionalmente, se aplicaron los cuestionarios de frecuencia de consumo de alimentos y actividad física (Anexos 7 y 8).

En una segunda visita programada 1 a 2 semanas después, se realizó la prueba de Harvard para evaluar la condición física de los participantes. Se entregó por escrito un resumen de la valoración de su condición nutricia y de los exámenes de laboratorio. Asimismo, los pacientes recibieron asesoría sobre los estilos de vida para disminuir el riesgo de enfermedades metabólicas y cardiovasculares. En los casos en los que se encontraron alteraciones que requerían de atención médica, los pacientes fueron referidos a su servicio de salud correspondiente.

Antropometría y presión arterial

Los participantes fueron medidos sin zapatos y utilizando ropa ligera. El peso fue determinado en una báscula digital (Seca® 884, Hamburgo, Alemania) con una exactitud de 0.1 kg. La talla fue determinada mediante un estadímetro (Seca® 225, Hamburgo, Alemania) con una exactitud de de 0.1 cm. Se calculó el IMC utilizando estas dos mediciones. La circunferencia de cintura (CC) fue medida al final de la espiración con una cinta flexible no elástica con un exactitud de 0.1 cm (Seca® 200, Hamburgo, Alemania) en posición de pie, en el punto medio entre el borde costal inferior y la cresta iliaca.

La presión arterial se midió con un esfigmomanómetro de mercurio en el brazo derecho sostenido a nivel del corazón posterior a un reposo de 5 minutos en sedestación, con un brazalete de tamaño adecuado el paciente. Se realizaron tres mediciones utilizando el primero y quinto ruido de Korotkoff con la lectura más cercana cada 2 mmHg y finalmente se calculó el promedio de las mediciones.

Pruebas bioquímicas

Los participantes acudieron con un ayuno de 12 horas y se obtuvieron muestras de sangre periférica (10 mL en total) para la medición de: glucosa (mg/dL, hexocinasa Dimension RXL.MAX, Siemens®), insulina (mU/mL, quimioluminiscencia IMMULITE 1000, Siemens®, Euro, DPC, Llanberis, Reino Unido), péptido-C (ng/dL, quimioluminiscencia IMMULITE 1000, Siemens®, Euro, DPC, Llanberis, Reino Unido), hemoglobina A1c (HbA1c % y mmol/mol, Dimension RXL.MAX Siemens® inmunoensayo), colesterol total, colesterol HDL (c-HDL) y triglicéridos (Hitachi 902 analyzer®, Hitachi, LTD., Tokio, Japón).

En los participantes sin el diagnóstico de diabetes y en quienes la glucemia en ayuno fue ≤ 126 mg/dL, se realizó una CTOG con 1.75 g/kg de glucosa anhidra con un máximo de 75 g). Se realizaron mediciones de glucosa e insulina a las 2 horas posteriores a la administración de la glucosa (2 mL).

Para valorar la resistencia a la insulina se calculó el índice de HOMA-IR ($[\text{glucosa de ayuno en mg/dL} \times \text{insulina en ayuno en mU/mL}] / 405$),^{74, 75} y para la evaluación de la capacidad secretora de la célula beta pancreática se determinó el índice HOMA-B ($[\text{insulina de ayuno en mU/mL} \times 20] / [\text{glucosa de ayuno en mmol/L} - 3.5]$).⁷⁵ Adicionalmente se evaluó la sensibilidad a la insulina mediante el índice QUICKI ($1 / [\log \text{insulina de ayuno en } \mu\text{U/mL}] + [\log \text{glucosa de ayuno en mg/dL}]$).⁷⁶ La determinación de colesterol-LDL (c-LDL) se obtuvo mediante la fórmula de Friedewald (c-LDL = colesterol total en mg/dL – c-HDL en mg/dL – triglicéridos en mg/dL/5).

Clasificación de alteraciones metabólicas

- Diabetes. Antecedente de la enfermedad bajo tratamiento médico, o glucosa en ayuno ≥ 126 mg/dL, o ≥ 200 mg/dL en la determinación a las 2 horas de una CTOG.
- Glucosa en ayuno alterada. Glucosa en ayuno ≥ 100 mg/dL (únicamente en participantes sin diabetes).
- Hipercolesterolemia. Colesterol total ≥ 200 mg/dL.
- Hipertrigliceridemia. Triglicéridos ≥ 150 mg/dL.
- Hipertensión. En los adultos se consideró con una presión $\geq 130/\geq 85$ mmHg o diagnóstico de hipertensión bajo tratamiento médico. En niños y adolescentes se definió como una presión sistólica o diastólica > percentil 90 para edad, sexo y estatura.
- Hipoalfalipoproteinemia. c-HDL <40 mg/dL en hombres, <50 mg/dL en mujeres y <40 mg/dL en niños y adolescentes.
- Obesidad/sobrepeso. Se consideró como sobrepeso un IMC ≥ 25 kg/m² y <30 kg/m² en adultos y \geq percentil 85 y < percentil 95 en niños y adolescentes. Obesidad fue considerada con un IMC ≥ 30 kg/m² en adultos y > percentil 95 en niños y adolescentes.

- Obesidad abdominal. CC >90 cm en hombres, >80 cm en mujeres y \geq percentil 90 en niños y adolescentes de acuerdo a referencia nacional.⁷⁷
- Resistencia a la insulina. HOMA-IR >3.16 (únicamente en participantes sin DM2).
- Síndrome metabólico. Presencia de 2 o más de los siguientes criterios: obesidad abdominal, hipertensión, glucosa en ayuno alterada, hipertrigliceridemia e hipoalfalipoproteinemia.

Hábitos de alimentación y actividad física

La aplicación de los cuestionarios sobre hábitos de alimentación y actividad física fueron realizados por personal capacitado y cegado a la condición del participante. La ingesta de alimentos fue evaluada utilizando una versión adaptada de un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos con una evaluación semi-cuantitativa considerando el mes previo a la evaluación (Anexo 7). Como material de apoyo, se utilizaron réplicas de alimentos para estandarizar el tipo y cantidad de los principales alimentos consumidos por los participantes. El cuestionario consta de 111 alimentos clasificados en 13 grupos. Se estimó la ingesta por día calculando la cantidad de alimento en relación a unidades de medida (ej. pieza, taza, plato, cucharada), así como el tamaño (chico, mediano o grande). Para el análisis de la frecuencia de consumo se calcularon los gramos o mililitros de la ingesta por día de cada uno de los alimentos. El análisis nutrimental se realizó mediante el programa Food Processor® (version 10.10, 2012, ESHA Research Inc., Salem, OR), que incluye alimentos de la dieta mexicana. Se calcularon los porcentajes de adecuación de energía e ingesta de macronutrientes de acuerdo a las recomendaciones para la población mexicana.

La actividad física se estimó mediante un cuestionario (Anexo 8). Los participantes contestaron preguntas acerca de la intensidad, frecuencia y duración de sus actividades físicas por semana. Se utilizó un procedimiento estandarizado utilizando una escala continua para medir el gasto energético como equivalentes metabólicos (MET/minutos/día). Un MET corresponde a $3.5 \text{ mL O}_2/\text{kg}^{-1}/\text{min}^{-1}$.⁷⁸

Prueba de condición física (Harvard)

Se evaluó la condición física utilizando la prueba del escalón de Harvard modificada, la cual consiste en subir y bajar un escalón de 30 cm de altura, 42 cm de ancho y 38 cm de profundidad durante 5 minutos a una velocidad de 30 ciclos por minuto con ambos pies. Se registró la frecuencia cardiaca a los 0, 1 y 2 minutos posteriores a que los participantes completaran la prueba o ellos mismos detuvieran el ejercicio prematuramente. El índice de condición física se calculó mediante el total de segundos multiplicado por 100 y dividido por la suma de las 3 frecuencias cardiacas registradas.⁷⁹

Genotipificación

Se obtuvieron 10 mL de sangre periférica para la obtención del material genético a partir de leucocitos en sangre periférica. El aislamiento de ADN y la identificación de los SNPs se realizó en la Unidad de Investigación Médica en Bioquímica de la UMAE del Hospital de Especialidades Bernardo Sepúlveda del Centro Médico Nacional siglo XXI. El aislamiento del ADN se realizó por el método basado en la separación en columnas utilizando una herramienta comercial (QIAamp DNA Blood Mini/ Kit, Qiagen®, Alemania). La pureza y concentración se evaluó por espectrofotometría a 260/280 nm (Epoch® spectrophotometer, BioTek Instruments, Winooski, VT, EUA) considerando un cociente de pureza entre 1.7 y 1.9. La integridad del ADN se confirmó mediante electroforesis con geles de agarosa al 0.8%. El análisis de los SNPs se realizó mediante dos técnicas:

- Un microarreglo que incluyó 64 SNPs (Anexo 9) previamente asociados con obesidad u otras alteraciones metabólicas. Se utilizó la plataforma TaqMan® OpenArray® system (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA), en la cual cada ensayo prediseñado incluye dos sondas TaqMan alelo específicas que contienen señales fluorescentes distintas y un par de cebadores de PCR para detectar objetivos SNPs específicos. La mayoría de estos SNPs previamente habían sido asociados a obesidad o IMC⁶⁹ y dos de estos habían sido reportados por nuestro grupo de investigación.⁸⁰ Otros SNPs habían sido previamente reportados asociados a variables relacionadas con el metabolismo de la glucosa o los lípidos.⁶⁹ Por lo anterior, todas estas variantes podrían estar relacionadas directa o indirectamente con las vías que intervienen en el metabolismo de la glucosa y por ende con la DM2, por lo que uno de nuestros propósitos era identificar su asociación con presentaciones pediátricas de la enfermedad.
- Identificación de 4 SNPs (Anexo 9) previamente asociados con diabetes mediante sondas individuales 5'-Taqman® utilizando PCR en tiempo real de la plataforma Applied Biosystems® 7900HT de acuerdo a las instrucciones del fabricante (Applied Biosystems®, Foster City, CA, Estados Unidos). Dos de estas variantes (*TCF7L2*/rs7903146 y *TCF7L2*/rs12255372) fueron escogidas debido a su consistente asociación con DM2 en estudios amplios del genoma y en estudios de meta-análisis,^{46, 81} y se han reportado frecuencias del alelo menor de 21% y 53% respectivamente en población con ancestría mexicana de acuerdo al proyecto de los 1000 Genomas.⁸² Los otros dos SNPs fueron seleccionados debido a que previamente habían sido asociados con DM2 en población mexicana adulta (*SLC16A11*/rs13342232 y *ABCA11*/rs9282541) y con un mayor riesgo en presentaciones tempranas de la enfermedad.^{55, 83}

El total de los 68 SNPs analizados, su localización génica, las variantes alélicas y las asociaciones previas reportadas por otros investigadores con la DM2 u otras alteraciones metabólicas se presentan en el Anexo

9. La genotipificación fue mayor al 90% para todos los SNPs analizados. Para evaluar la reproducibilidad se analizaron por duplicado 180 muestras del microarreglo y 70 muestras de las sondas individuales, obteniendo una concordancia mayor al 95%.

Tamaño de muestra y poder estadístico

El cálculo de tamaño de muestra se realizó para estudios de asociación génica, considerando de forma individual cada uno de los SNPs incluidos. La estimación se realizó mediante el programa Quanto v2.1 que utiliza un modelo logístico basado en la siguiente fórmula:

$$\Pr(D = 1 | G, E) = \frac{e^{\alpha + \gamma_g G + \gamma_e E + \gamma_{ge} GE}}{1 + e^{\alpha + \gamma_g G + \gamma_e E + \gamma_{ge} GE}}$$

En este modelo logístico se consideró un tipo de herencia multifactorial, una prevalencia de la enfermedad de 14.5%, alfa de 0.05, poder de 0.8 y la frecuencia de la variante génica reportada en el Hapmap. Se consideraron los diseños de estudios de tríos, casos y controles independientes y pares de hermanos. Se identificó además la estimación del riesgo (OR) de cada uno de los polimorfismos reportado en la literatura ya sea para DM2 o para alteraciones metabólicas relacionadas.

Los cálculos estimaron tamaños de muestra entre 20 y 3,385 siendo el tamaño mayor para aquellos SNPs con menor frecuencia, menor asociación y en el diseño de pares de hermanos. Para los polimorfismos *rs9939609*, *rs10938397*, *rs6905288*, *rs4607517* y *rs13342232* se obtuvieron tamaños de muestra menores a 100. De acuerdo a lo anterior y a la factibilidad de alcanzar el tamaño de la muestra se planteó estudiar 100 familias caso y 100 familias control, con lo cual esperábamos identificar al menos 5 SNPs con un riesgo ≥ 1.3 .

A pesar de que el número de casos de pacientes con DM2 en la edad pediátrica ha incrementado, no era factible incluir a un número mayor de participantes debido a que la prevalencia de la enfermedad en estas edades continúa siendo baja. Considerado el tamaño de muestra propuesto, se realizó el cálculo del poder utilizando el programa Quanto (v 1.2.4).

El poder que tenía nuestra muestra para detectar marcadores en el análisis de casos-controles, asumiendo un modelo aditivo y una probabilidad de error tipo 1 de 0.05 considerando un $OR \geq 1.4$ fue de 19, 29 y 38% para marcadores con 10, 20 y 50% de frecuencia del alelo menor respectivamente; para un $OR \geq 1.6$, el poder fue de 34, 51 y 63% para frecuencias de 10, 20 y 50% del alelo menor respectivamente; y para un $OR \geq 1.9$, el poder de detección fue de 58, 79 y 87% para marcadores con 10, 20 y 50% de frecuencia del alelo menor respectivamente.

En el caso del análisis de los tríos, para un $OR \geq 1.4$ se obtuvo un poder de 13, 29 y 38% para marcadores con 10, 20 y 50% de frecuencia del alelo menor respectivamente; con $OR \geq 1.6$, el poder fue de 21, 33 y 41% para marcadores con 10, 20 y 50% de frecuencia del alelo menor respectivamente; y para un $OR \geq 1.9$, el poder que se obtuvo fue 37, 55 y 65% para marcadores con 10, 20 y 50% de frecuencia del alelo menor respectivamente.

El cálculo del poder para variables cuantitativas relacionadas con DM2 (glucosa, insulina basal, insulina de 2 horas, péptido C, HOMA-1r y HOMA-B) se estimó de 0.10 a 0.80 con un $\alpha = 0.05$ en participantes sin DM2 y de 0.10 a 0.99 para aquellos participantes con DM2.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se determinó la distribución de las variables cuantitativas utilizando pruebas de asimetría y curtosis. Se realizó un análisis descriptivo de las variables sociodemográficas, clínicas y bioquímicas mediante la determinación de frecuencias, media y desviación estándar (DE) o medianas y rango intercuartílico de acuerdo al tipo y distribución de las variables. El manejo de la base de datos se realizó en el programa STATA (version 11.0; STATA Corp, College Station, TX). Se utilizó el programa Food Processor SQL (versión 10.9.0, 2011, ESHA Research, Salem, Oregon) para el análisis del aporte calórico así como de macro y micronutrientes. Las diferencias entre los integrantes de las familias caso y control se evaluaron mediante la prueba t de Student para las variables continuas de distribución normal, U de Mann-Whitney para diferencias de medianas y chi-cuadrada para las variables categóricas.

Para establecer las correlaciones familiares, heredabilidad (h^2) y correlaciones ambientales (r_e) de la DM2 y variables metabólicas relacionadas, se utilizaron los comandos FCOR y ASSOC del programa Statistical Analysis for Genetic Epidemiology (S.A.G.E. por sus siglas en inglés).⁸⁴ Para las características fenotípicas metabólicas se consideraron tanto variables cuantitativas como dicotómicas.

El comando FCOR calcula las correlaciones ambientales de todos los pares relacionados disponibles en los familiogramas. Presenta la covarianza entre cualquiera de las correlaciones evaluando si existe diferencia significativa entre ellas.⁸⁴

La heredabilidad de la DM2 se estimó utilizando el índice h^2 , el cual representa la proporción de la variación fenotípica que es atribuible a los factores genéticos. La estimación fue realizada mediante el comando ASSOC para analizar la asociación entre variables continuas o binarias, así como covariables, con la información de los familiogramas en presencia de correlaciones familiares. ASSOC se basa en un modelo lineal mixto y estima los parámetros mediante el método de máxima verosimilitud. La varianza se fracciona en la suma del componente aditivo poligénico (h^2), un componente de hermano/marital (proporción ambiental

de la varianza) y un componente individual aleatorio. ASSOC también calcula correlaciones ambientales intraclase (r_e) el cual puede interpretarse como cualquier otro coeficiente de correlación.⁸⁴ La heredabilidad se estimó ajustando por edad, sexo, IMC, presencia de DM2, condición física, actividad física, % de adecuación en la dieta, % de carbohidratos y % de lípidos como covariables dependiendo del fenotipo evaluado. El nivel de significancia estadística se estableció en $p < 0.05$.

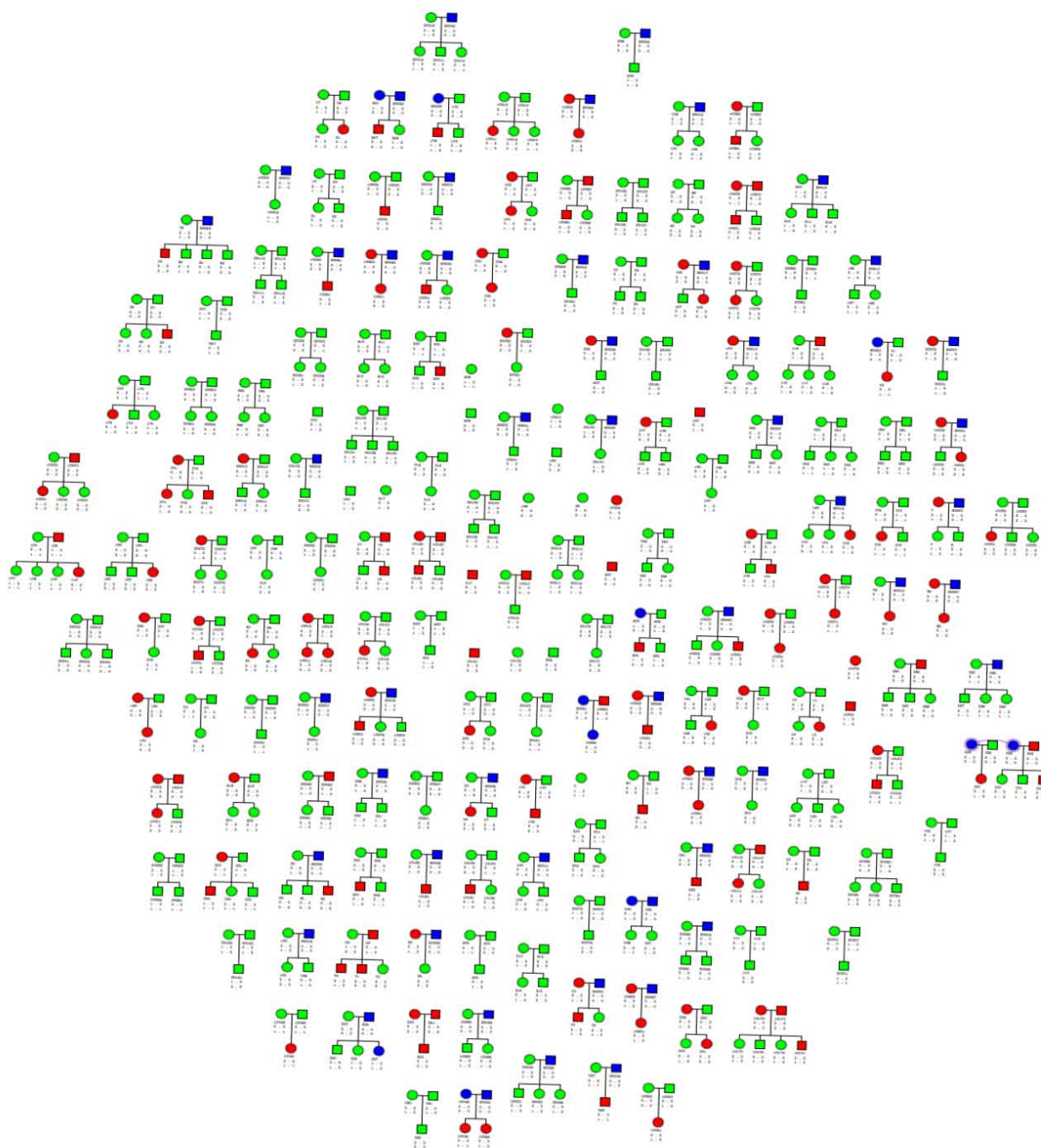
Para el análisis de la asociación de los SNPs, se determinaron las frecuencias alélicas y genotípicas. Para evitar falsos positivos por la distribución diferencial de los genotipos se eliminaron aquellos con genotipificación menor al 95%, así como aquellos con una reproducibilidad menor al 95% en las muestras analizadas por duplicado. También se eliminaron aquellas muestras que tuvieron menos del 90% de los SNPs genotipificados para evitar errores debidos a la baja calidad del material genético o problemas en el proceso de genotipificación. Por último se eliminaron aquellos SNPs en los que los resultados faltantes tuvieran una distribución diferencial entre casos y controles para evitar falsos positivos (Plink v1.07).

Se evaluaron los familiogramas y las inconsistencias de la genotipificación, para lo cual se utilizó el programa PedCheck 1.2 para identificar datos faltantes o erróneos en la información de los familiogramas y evaluar la consistencia de genotipificación dentro de las familias (Figura 1). No se encontraron inconsistencias en los familiogramas pero sí en los genotipos y se detectó una familia en la que no correspondía una relación biológica con los padres.

Adicionalmente, en la limpieza de la base de datos se excluyeron aquellos SNPs con una frecuencia del alelo menor a 0.08 debido al pequeño tamaño de muestra con el que contamos, así como aquellos que se desviaron del equilibrio de Hardy-Weinberg en los controles ($p < 0.05$). Los SNPs que se excluyeron finalmente en el análisis se encuentran señalados en el Anexo 9. En el análisis de la asociación de los SNPs se estableció un nivel de significancia estadística de $p < 0.05$ y además debido a las comparaciones múltiples se realizó corrección de Bonferroni con los SNPs analizados posterior al filtrado por la frecuencia del alelo menor y el equilibrio de Hardy-Weinberg.

Para incrementar el poder estadístico, se calculó el valor de p combinando del análisis de la regresión de casos-controles pediátricos, casos-controles adultos y casos-hermanos. Se estimaron razones de momios e intervalos de confianza al 95% considerando los modelos aditivo, dominante y recesivos calculando el menor valor de p para los tres modelos evaluados. En el modelo aditivo, un valor numérico (0, 1 o 2) fue asignado en base al número de alelos de referencia. Estos análisis se realizaron en el programa STATA versión 11.0 (STATA Corp., College Station, TX).

Figura 1. Familiogramas e inconsistencias de genotipificación (PedCheck 1.2).



En rojo representan se los casos, en verde lo controles y en azul los desconocidos. Los hombres se encuentran representados por un cuadrado y las mujeres en círculos.

Para realizar el análisis de desequilibrio de transmisión (TDT por sus siglas en inglés) en los tríos, se utilizó el comando TDTEX del programa S.A.G.E. Este comando compara el número de alelos transmitidos con los alelos no transmitidos e implementa varias versiones para probar la vinculación entre un marcador y una enfermedad en presencia de asociación alélica o desequilibrio de ligamiento.⁸⁴

Para incrementar el poder estadístico, se calculó el valor de p combinando el análisis de casos-controles y de TDT de acuerdo con el modelo propuesto por Kazeem y Farral.⁸⁵

Se realizó un análisis de regresión lineal robusta ajustando por edad, sexo y clasificación del IMC para identificar la asociación de cada uno de los SNPs con las variables cuantitativas relacionadas con DM2 ajustando por edad, sexo e IMC. El análisis se realizó utilizando el modelo aditivo calculando el coeficiente beta por alelo de riesgo. Este análisis incluyó un cribado inicial basado en la distancia de Cook > 1 para eliminar los valores extremos gruesos, un cálculo posterior de los valores iniciales y la implementación de las iteraciones de Huber seguidas de iteraciones de “biweight” (STATA version 11.0; STATA Corp., College Station, TX).

Finalmente se identificó la asociación de los factores conocidos para presentar la enfermedad entre casos y controles (*IMC, antecedente familiar de la enfermedad, factores de riesgo perinatales, condición física, etc.*) y se construyó el GRS con la suma de los alelos de riesgo identificados. Se analizaron dos modelos de regresión logística: 1. Incluyó factores de riesgo ya conocidos para la enfermedad identificados en la muestra (edad, sexo, Z-score del IMC y antecedente materno de DM2) y 2. Se agregó la variable del GRS al modelo previo. Se calcularon las áreas bajo la curva para evaluar la capacidad discriminadora para identificar la presencia de DM2 de inicio en la edad pediátrica de los dos modelos.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Se trata de un estudio con riesgo mayor al mínimo de acuerdo a la Ley General de Salud en materia de investigación, por lo que se solicitaron las cartas de asentimiento, consentimiento informado y de autorización para el resguardo de muestras en un banco de ADN de cada uno de los participantes (Anexos 2, 3 y 4). El protocolo fue aprobado por las Comisiones de Investigación, Ética y Bioseguridad del Hospital Infantil de México Federico Gómez con registros HIM 2013/014 y 2014/041.

RESULTADOS

Se incluyeron 184 familias tri-generacionales con un total de 1,160 individuos (99 familias de niños con DM2 y 85 familias de niños control). Los familiogramas generaron 2,026 pares relacionados cuya distribución se muestra en la Tabla 4. Las características demográficas, clínicas y bioquímicas de los padres y los hijos de las familias incluidas se presentan en la Tabla 5.

Tabla 4. Distribución de los pares relacionados de las familias caso y control.

Tipo de relación	Abuelos, padres e hijos			Padres e hijos solamente		
	Familias con integrantes con DM2 (n=99)	Familias sin integrantes con DM2 (n=85)	Todas las familias (n=184)	Familias con integrantes con DM2 (n=99)	Familias sin integrantes con DM2 (n=85)	Todas las familias (n=184)
Padre-Hijo	112	69	181	55	52	107
Madre-Hijo	142	89	231	53	54	107
Padre-Hija	132	83	215	71	53	124
Madre-Hija	149	100	249	70	55	125
Hermano-Hermano	27	29	56	17	17	34
Hermana-Hermano	53	42	95	37	27	64
Hermana-Hermana	40	29	69	37	21	58
Madre-Padre	157	119	276	57	55	112
Abuelo paterno-Nieto	33	34	67	-	-	-
Abuela paterna-Nieto	30	37	67	-	-	-
Abuelo materno-Nieto	54	38	92	-	-	-
Abuela materna-Nieto	48	47	95	-	-	-
Abuelo paterno-Nieta	43	32	75	-	-	-
Abuela paterna-Nieta	38	37	75	-	-	-
Abuelo materno-Nieta	56	34	90	-	-	-
Abuela materna-Nieta	43	50	93	-	-	-

Tabla 5. Características clínicas y bioquímicas de los participantes de las familias incluidas (caso y control).

	Madres (n = 173)	Padres (n = 122)	Hijas (n = 175)	Hijos (n = 174)
Edad (años)	40.4 ± 6.3	42.6 ± 7.8	13.9 ± 4.5	14.3 ± 4.2
Peso (kg)	71.1 ± 14.5	82.8 ± 16.8	56.9 ± 17.7	65.4 ± 23.7
Talla (cm)	154.7 ± 6.1	166.5 ± 7.2	150.5 ± 12.0	159.8 ± 13.8
IMC (kg/m ²)	29.8 ± 5.8	30.0 ± 5.7	24.7 ± 5.5	25.2 ± 6.5
CC (cm)	93.9 ± 12.7	99.1 ± 12.4	81.5 ± 14.8	85.2 ± 17.0
PAS (mmHg)	69.2 ± 11.3	74.2 ± 13.2	60.6 ± 10.1	63.0 ± 11.4
PAD (mmHg)	105.7 ± 15.8	111.3 ± 19.1	94.0 ± 13.6	96.9 ± 16.1
Glucosa de ayuno (mg/dL)	121.3 ± 68.3	111.6 ± 57.5	107.4 ± 53.3	104.6 ± 46.7
Glucosa 2 horas (mg/d) ^a	116.8 ± 38.4	112.1 ± 47.1	101.3 ± 33.6	98.3 ± 22.4

	Madres (n = 173)	Padres (n = 122)	Hijas (n = 175)	Hijos (n = 174)
HbA1c (%)	6.9 ± 2.3	6.6 ± 2.5	6.8 ± 2.7	7.1 ± 4.4
Insulina de ayuno (mUI/mL)	8.8 ± 6.3	8.9 ± 7.5	11.6 ± 14.9	11.0 ± 10.7
Insulina 2 horas (mUI/mL) ^a	64.5 ± 53.9	56.3 ± 55.0	63.2 ± 51.5	49.3 ± 55.5
Péptido C (ng/dL)	2.6 ± 1.2	3.0 ± 2.3	2.5 ± 1.7	2.6 ± 2.1
HOMA-IR	2.5 ± 2.2	2.3 ± 1.8	3.1 ± 4.2	3.0 ± 3.7
Colesterol total (mg/dL)	196.3 ± 40.8	197.8 ± 36.9	165.4 ± 35.3	158.8 ± 34.8
Colesterol-HDL (mg/dL)	47.1 ± 12.2	41.0 ± 10.9	44.5 ± 10.8	43.9 ± 11.7
Colesterol-LDL (mg/dL)	120.0 ± 34.7	118.6 ± 30.3	99.2 ± 28.9	94.0 ± 27.0
Triglicéridos (mg/dL)	179.0 ± 171.6	239.4 ± 182.8	126.1 ± 84.0	138.8 ± 116.2
% de adecuación de la dieta	101.0 ± 50.2	111.1 ± 57.2	109.0 ± 59.8	112.4 ± 71.2
% Proteínas	16.2 ± 2.7	15.4 ± 3.2	15.8 ± 3.2	15.7 ± 3.8
% Lípidos	27.2 ± 7.4	26.9 ± 6.9	29.9 ± 8.3	29.2 ± 8.3
% Carbohidratos	57.6 ± 7.8	58.6 ± 8.4	55.0 ± 8.9	53.2 ± 9.3
Condición física	65.2 ± 29.2	80.1 ± 27.9	68.2 ± 21.4	78.8 ± 22.8
Alteraciones metabólicas (%)				
DM2	31.0	18.2	29.3	32.2
Glucosa en ayuno alterada	24.6	23.5	5.7	16.1
Obesidad	43.4	38.8	31.4	37.9
Obesidad abdominal	68.4	43.5	29.9	27.3
Hipertrigliceridemia	43.4	67.2	26.1	28.2
Hipercolesterolemia	35.8	50.8	17.6	14.4
Hipoalfalipoproteinemia	25.4	49.2	35.2	38.5
Resistencia a la insulina	17.1	23.5	18.4	25.9
Hipertensión	7.5	13.9	8.0	10.9
Síndrome metabólico	13.9	31.4	13.8	16.1

IMC: índice de masa corporal, CC: circunferencia de cintura, PAS: presión arterial sistólica, PAD: presión arterial diastólica, DM2 diabetes mellitus tipo 2. Valores en media (DE) o % según se especifica. ^aSolamente en participantes sin diabetes.

Como se observa en la Tabla 6, en el análisis de correlación de las variables metabólicas entre padres e hijos, pares de hermanos y esposos, se observaron correlaciones significativas (débiles a moderadas) entre pares genéticamente relacionados, pero no entre individuos sin relación genética (esposos) en: IMC, glucosa de 2 horas, insulina de ayuno, HOMA-IR, colesterol total, c-HDL, triglicéridos, resistencia a la insulina, obesidad, hipercolesterolemia, hipoalfalipoproteinemia, DM2 y síndrome metabólico ($p < 0.05$). Para variables como glucosa de 2 horas, triglicéridos, DM2 y resistencia a la insulina, las correlaciones fueron significativas únicamente con la madre, mientras que para hipertrigliceridemia la correlación fue significativa únicamente con el padre. Con excepción de los niveles de péptido-C, la mayoría de las demás variables tuvieron correlación en individuos relacionados y no relacionados genéticamente, incluyendo variables ambientales (% de adecuación de la dieta y condición física). Cuando se analizó la correlación de la DM2 incluyendo la

información de los abuelos, ésta resultó significativa únicamente entre la abuela materna-nieto/a ($r=0.383$, $p<0.001$).

Tabla 6. Correlación de DM2 y otras variables metabólicas entre pares relacionados.

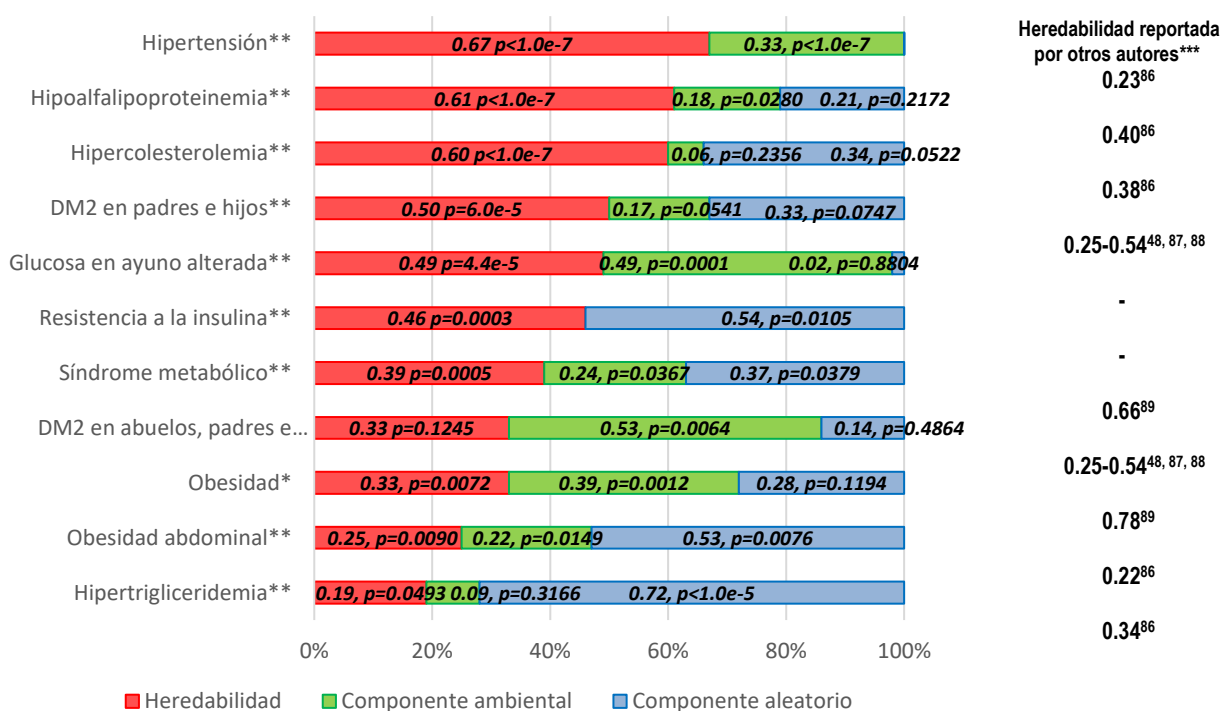
Variable metabólica	Padre/Madre-Hijo(a) 463 pares	Madre-Hija 125 Pares	Madre-Hijo 107 pares	Padre-Hija 124 pares	Padre-Hijo 107 pares	Hermano(a)-Hermano(a) 156 pares	Esposos 112 pares
IMC (kg/m ²)	0.356 ^c	0.330 ^b	0.357 ^b	0.250 ^a	0.402 ^c	0.449 ^c	0.126
CC (cm)	0.251 ^c	0.309 ^b	0.305 ^b	0.114	0.236 ^a	0.382 ^c	0.203 ^a
PAS (mmHg)	0.402 ^c	0.507 ^c	0.518 ^c	0.286 ^b	0.385 ^b	0.513 ^c	0.324 ^c
PAD (mmHg)	0.516 ^c	0.557 ^c	0.580 ^c	0.472 ^c	0.510 ^c	0.423 ^c	0.610 ^c
Glucosa de ayuno (mg/dL)	0.214 ^c	0.072	0.400 ^c	0.069	0.340 ^b	-0.032	0.229 ^a
Glucosa 2 horas (mg/dL) ^d	0.071	0.314 ^a	0.189	0.005	0.241	0.239 ^a	0.098
HbA1c (%)	0.182 ^b	0.110	0.142 ^a	0.267 ^a	0.221	-0.058	0.293 ^b
Insulina de ayuno (mUI/mL)	0.216 ^c	0.270	0.147	0.415 ^c	-0.080	0.132	0.028
Insulina 2 horas ^d	0.215 ^a	0.109	0.220 ^a	0.287 ^b	0.131	-0.008	0.389 ^b
Péptido-C (ng/dL)	0.106	0.007	0.108	0.068	0.085	0.153	-0.077
HOMA-IR	0.162 ^b	0.184	0.048	0.106	0.229	0.020	0.022
Colesterol total (mg/dL)	0.305 ^c	0.311 ^b	0.427 ^c	0.185	0.367 ^c	0.200	0.166
Colesterol HDL (mg/dL)	0.385 ^c	0.330 ^b	0.405 ^c	0.426 ^c	0.459 ^c	0.373 ^c	0.310 ^c
Colesterol LDL (mg/dL)	0.284 ^c	0.228 ^a	0.433 ^c	0.129	0.365 ^c	0.303 ^c	0.088
Triglicéridos (mg/dL)	0.160 ^b	0.233 ^a	0.180	0.049	0.188	0.086	0.044
% Adecuación de la dieta	0.186 ^b	0.161	0.151	0.272 ^b	0.197	0.082	0.193 ^a
% Lípidos en la dieta	0.563 ^c	0.598 ^c	0.576 ^c	0.519 ^c	0.538 ^c	0.583 ^c	0.485 ^c
% Carbohidratos en la dieta	0.438 ^c	0.539 ^c	0.487 ^c	0.373 ^c	0.413 ^c	0.491 ^c	0.347 ^c
Condición física	0.410 ^c	0.531 ^c	0.468 ^c	0.456 ^c	0.413 ^c	0.286 ^b	0.421 ^c
DM2 (%)	0.193 ^c	0.234 ^a	0.347 ^c	-0.004	0.143	-0.183 ^a	0.059
Glucosa en ayuno alterada (%) ^d	0.196 ^c	0.207 ^a	0.195	0.157	0.243 ^a	0.346 ^a	0.278 ^b
Obesidad (%)	0.076	0.209 ^a	0.102 ^a	0.269 ^b	0.098 ^b	0.256 ^b	0.060
Obesidad abdominal (%)	0.149 ^a	0.088	0.004	0.171	0.115	0.168	0.257 ^b
Hipertrigliceridemia (%)	0.087	-0.016	0.141	0.141	0.243 ^a	0.106	0.050
Hipercolesterolemia (%)	0.259 ^c	0.196 ^a	0.264 ^a	0.208 ^a	0.324 ^b	0.247 ^a	0.055
Hipoalfalipoproteinemia (%)	0.302 ^c	0.271 ^b	0.252 ^a	0.372 ^c	0.336 ^b	0.275 ^b	0.182
Resistencia a la insulina (%)	0.179 ^b	0.306 ^a	0.115	0.039	0.169	0.101	-0.016
Hipertensión (%)	0.330 ^c	0.281 ^b	0.410 ^c	0.329 ^c	0.321 ^b	0.095	0.263 ^b
Síndrome metabólico (%)	0.214 ^b	0.151	0.268 ^a	0.288 ^a	0.316 ^a	0.278 ^b	0.196

IMC: índice de masa corporal, CC: circunferencia de cintura, PAS: presión arterial sistólica, PAD: presión arterial diastólica, DM2 diabetes mellitus tipo 2. ^a $p<0.05$, ^b $p<0.01$, ^c $p<0.001$, ^dúnicamente en participantes sin diabetes.

En la Figura 2, se observa la proporción de la varianza para variables dicotómicas que puede ser explicada por la heredabilidad (efecto poligénico), por el componente ambiental y por un efecto aleatorio. Se observaron heredabilidades significativas entre $h^2=0.19$ y 0.67 para las distintas variables metabólicas ($p<0.05$), con la mayor magnitud para hipertensión. La heredabilidad para DM2 no fue significativa cuando se incluyó a los abuelos en el análisis ($h^2=0.33$, $p=0.13$), en contraste con lo observado cuando únicamente se analizaron las generaciones de padres e hijos ($h^2=0.50$, $p<6.0E-5$). Por el contrario, la proporción de la varianza explicada por factores ambientales fue mayor cuando se incluyen a los abuelos en el análisis (0.53 , $p=0.006$), contrario a la proporción observada cuando éstos se excluyen del análisis (0.17 , $p=0.05$).

En relación al efecto ambiental, se identificó una proporción de la varianza significativa atribuida a este factor para hipertensión, hipoalfalipoproteinemia, glucosa en ayuno alterada, síndrome metabólico, obesidad y obesidad abdominal ($p<0.05$) como se observa en la Figura 2.

Figura 2. Componentes de la varianza para DM2 y variables metabólicas relacionadas.



DM2: diabetes mellitus 2 tipo 2. *Ajustado por edad y sexo. **Ajustado por edad, sexo e IMC (excepto obesidad, obesidad abdominal y síndrome metabólico), condición física, % de adecuación de la dieta, % carbohidratos en la dieta, % de lípidos, actividad física y presencia de DM2 (excepto DM2). ***Estudios que incluyeron participantes menores de 19 años y/o estudios en hispanos.

La estimación de la heredabilidad y la correlación ambiental para las variables cuantitativas se muestran en la Tabla 7. La heredabilidad fue alta ($h^2 > 0.5$) para variables como IMC, circunferencia de cintura, presión arterial sistólica, presión arterial diastólica, colesterol total, c-HDL y c-LDL, lo cual indica que más de la mitad de la variación fenotípica es explicada por factores genéticos. La heredabilidad fue moderada ($h^2 \geq 0.3$ a < 0.5) para glucosa de ayuno, insulina de ayuno e insulina de 2 horas y una baja heredabilidad ($h^2 < 0.3$) para triglicéridos. La heredabilidad para glucosa de 2 horas, HbA1c, péptido C y HOMA-IR no fue significativa. Correlaciones ambientales significativas ($r_e > 0.41$, $p < 0.05$) se observaron para presión arterial, glucosa de 2 horas, HbA1c y c-HDL.

Tabla 7. Heredabilidad y correlación ambiental para variables metabólicas cuantitativas.

Variable metabólica	h^2 ^a	p	r_e	p	h^2 reportada por otros autores ^b
IMC (kg/m ²)	0.679	< 1.0E-7	0.567	0.16	0.22–0.72 ^{87, 89-97}
CC (cm)	0.557	< 1.0E-6	0.418	0.15	0.17–0.74 ^{87, 89-92, 94-99}
PAS (mmHg)	0.774	< 1.0E-7	0.689	0.02	0.18–0.66 ^{86, 87, 89-98}
PAD (mmHg)	0.647	< 1.0E-7	0.983	< 1.0E-7	0.17–0.64 ^{86, 87, 89-98}
Glucosa de ayuno (mg/dL)	0.328	0.01	0.375	0.12	0.17–0.52 ^{86, 87, 89-98}
Glucosa 2 horas (mg/dL) ^c	0.244	0.05	0.419	0.02	0.16–0.24 ^{87, 89, 93}
HbA1c (%)	0.088	0.18	0.845	< 1.0E-7	0.10–0.59 ^{87, 96, 98}
Insulina de ayuno (mUI/mL)	0.420	< 0.003	0.096	0.72	0.26–0.65 ^{87, 89, 91-93, 95-98}
Insulina 2 horas (mUI/mL) ^c	0.585	1.7E-4	0.100	0.78	0.14–0.34 ^{87, 89, 93}
Péptido-C (ng/dL)	0.198	0.18	0.346	0.08	0.72 ⁸⁹
HOMA-IR	0.045	0.40	0.017	0.92	0.26–0.61 ^{87, 89, 90, 95, 96}
Colesterol total (mg/dL)	0.607	< 1.0E-7	0.401	0.19	0.33–0.73 ^{34, 87, 89-94, 96, 98, 100}
Colesterol HDL (mg/dL)	0.754	< 1.0E-7	0.779	0.008	0.30–0.83 ^{34, 86, 87, 89-98, 100}
Colesterol LDL (mg/dL)	0.563	< 1.0E-6	0.199	0.41	0.40–0.61 ^{34, 87, 89, 90, 92-94, 96, 98, 100}
Triglicéridos (mg/dL)	0.269	0.02	0.060	0.60	0.27–0.77 ^{34, 86, 87, 89-98, 100}

h²: heredabilidad; r_e: correlación ambiental; CC: circunferencia de cintura, DM2: diabetes mellitus tipo 2. ^aAjustado por edad, sexo, IMC (excepto IMC y CC), presencia de DM2, condición física, actividad física, % de adecuación en la dieta, % de carbohidratos en la dieta y % de lípidos en la dieta. ^bEstudios en los que se incluyeron algunos participantes menores de 19 años y/o estudios en población hispana. ^cSolamente en participantes sin DM2.

Se detectaron 22 casos nuevos de DM2 en los padres de niños con diabetes y tanto los niños como los padres con DM2 presentaron un inicio temprano de la enfermedad (<45 años). Además de las diferencias esperadas en los niveles de glucosa, insulina, HOMA-IR y hemoglobina glucosilada entre los casos y los individuos no diabéticos, se observaron algunas diferencias en el perfil de lípidos (Tabla 8). El índice de condición física medido por la prueba de Harvard fue similar entre los integrantes de las familias caso y control; sin embargo, se observaron diferencias en las variables relacionadas con la alimentación (aparentemente más saludable en los integrantes de las familias caso).

Tabla 8. Características antropométricas, presión arterial, perfil bioquímico, condición física y de alimentación en los integrantes de las familias caso y control.

Variables fenotípicas	Niños caso (n=99)	Padres (n=147)	Hermanos (n=101)	Niños controles (n=85)	Adultos controles (n=137)
Edad (años)	12.9 ± 2.6	42.1 ± 7.3	16.4 ± ±5.4	12.5 ± 2.9	41.0 ± 6.5
Sexo masculino n (%)	45 (45.4)	65 (31.6)	47 (44.3)	44 (51)	57 42.6
Peso (kg)	63.7 ± 20.4	73.9 ± 14.8*	64.1 ± 20.8	57.3 ± 21.3*	74.7 ± 16.0*
Talla (cm)	156.9 ± 13.5	156.6 ± 15.2	156.9 ± 11.9	150.0 ± 21.7*	156.5 ± 15.3
IMC (kg/m ²)	25.3 ± 5.3	29.3 ± 5.4*	25.5 ± 6.0	24.4 ± 6.7	29.6 ± 5.6*
CC (cm)	86.2 ± 15.0	97.1 ± 18.4*	85.5 ± 16.6	83.0 ± 19.4	97.8 ± 18.8*
PAS (mmHg)	96.7 ± 12.9	102.8 ± 15.7*	98.6 ± 13.6	91.7 ± 14.7*	104.5 ± 17.8*
PAD (mmHg)	61.7 ± 9.0	69.5 ± 12.9*	62.1 ± 9.5	59.5 ± 11.1	70.9 ± 14.4*
DM2 n (%)	99 (100)	57 (38.7)	0 (0)*	0 (0)*	0 (0)*
Glucosa (mg/dL)	149.6 ± 77.2	90.7 ± 10.5*	89.8 ± 14.8*	89.0 ± 8.5*	95.7 ± 25.1*
Glucosa 2h (mg/dL)	- -	105.4 ± 28.6	103.1 ± 34.2	97.4 ± 19.7	112.6 ± 46.1
HbA1c (%)	9.6 ± 3.4	5.8 ± 0.9*	5.8 ± 0.9*	5.6 ± 0.5*	6.0 ± 1.5*
Insulina (mUI/mL)	15.0 ± 19.6	8.7 ± 7.8*	8.0 ± 6.1*	10.3 ± 9.1	9.1 ± 7.8*
Insulina 2h (mUI/mL)	- -	54.8 ± 48.1	54.7 ± 49.4	65.0 ± 63.7	54.2 ± 46.8
HOMA-IR	5.0 ± 6.0	2.0 ± 1.8*	1.7 ± 1.4*	2.3 ± 2.2*	2.2 ± 2.0*
HOMA-B	78.3 ± 43.5	61.2 ± 34.0	114.1 ± 63.3*	117.6 ± 64.3*	88.6 ± 49.2*
QUICKI	0.3 ± 0.2	0.3 ± 0.2	0.4 ± 0.2*	0.4 ± 0.2*	0.4 ± 0.2*
Péptido C (ng/dL)	2.4 ± 2.2	2.7 ± 1.4	2.2 ± 1.0	2.8 ± 2.3	2.7 ± 1.4
c-Total (mg/dL)	169 ± 34.6	193 ± 34.6*	160.4 ± 38.1	156.5 ± 29.6*	193.4 ± 34.8*
c-HDL (mg/dL)	42.6 ± 10.5	47.4 ± 2.5*	42.1 ± 10.5	47.4 ± 11.1*	46.5 ± 12.5*
c-LDL (mg/dL)	105.5 ± 28.7	118.2 ± 29.0*	97.3 ± 28.9*	88.7 ± 27.2*	117.4 ± 29.8*
Triglicéridos (mg/dL)	141.5 ± 84.6	174.0 ± 154.7	134.0 ± 122.6	118.8 ± 99.5	185.1 ± 154.3*
Prueba de Harvard	72.3 ± 28.8	73.0 ± 27.8	74.7 ± 21.1	73.7 ± 23.6	72.1 ± 27.9
Kcal/día	1783.0 ± 910.1	1997.3 ± 958.6	2406.7 ± 1275.2*	2316.1 ± 1152.4*	2495.0 ± 1190.9*
% de adecuación	84.3 ± 43.8	93.5 ± 46.2	112.3 ± 56.7*	114.7 ± 55.7*	117.2 ± 52.4*
% proteínas	17.6 ± 3.1	16.3 ± 3.1*	14.5 ± 2.9*	15.4 ± 3.4*	15.3 ± 2.5*
% carbohidratos	54.5 ± 8.2	58.1 ± 7.9*	57.5 ± 9.5*	54.6 ± 8.6	57.8 ± 8.2*
% lípidos	28.8 ± 7.9	26.5 ± 7.2*	28.8 ± 8.8	30.6 ± 6.8	27.7 ± 7.3
Calcio (mg)	1093.7 ± 577.8	1007.4 ± 682.8	1128.6 ± 657.1	1165.7 ± 602.8	1079.7 ± 546.1
Magnesio (mg)	313.5 ± 186.2	362.1 ± 200.4	361.5 ± 213.3	304.5 ± 156.1	420.3 ± 218.8*
Zinc (mg)	10.7 ± 11.9	11.9 ± 20.3	12.8 ± 10.6	10.9 ± 6.1	11.6 ± 5.6
Cafeína (g)	80.4 ± 280.3	287.2 ± 489.3*	147.6 ± 274.1	127.1 ± 374.3	396.0 ± 640.7*

* $p < 0.05$ en comparación con los controles. Lo valores se encuentran expresados en n (%), media ± D.E. (sin embargo, para aquellas variables con distribución diferente a la normal se realizó la transformación logarítmica previo al análisis). IMC: índice de masa corporal, CC: circunferencia de cintura, PAS: presión arterial sistólica, PAD: presión arterial diastólica, c-Total: colesterol Total, c-HDL: colesterol de alta densidad, c-LDL: colesterol de baja densidad, DM2: diabetes mellitus tipo 2.

En relación a los antecedentes perinatales, se observó una mayor frecuencia de exposición a diabetes gestacional en los niños con DM2 en comparación a sus hermanos y los niños control. Los demás parámetros de riesgo perinatal estudiados no mostraron diferencias entre los grupos (Tabla 9).

Tabla 9. Factores perinatales en los niños caso, sus hermanos y niños control.

Características perinatales	Niños caso (n=99)		Hermanos (n=101)		Niños control (n=83)	
Peso al nacimiento (kg) ^a	3.2	± 0.6	3.1	± 0.5	3.1	± 0.5
Exposición DG (n/%) ^b	13	13.8	3	3.0*	1	1.2*
Alimentación SM (meses) ^a	9.5	± 9.7	8.8	± 7.8	7.4	± ±5.7
Edad ablactación (meses) ^a	5.8	± 5.0	5.1	± 2.2	6.2	± ±5.8
Exposición preeclampsia (n/%) ^b	5	± 11.9	2	± 4.8	4	± 11.4

^a Valores expresados en media ± D.E. ^b Valores expresados en número y porcentaje. *p<0.05

DG: diabetes gestacional, SM: seno materno.

Se compararon las frecuencias alélicas y genotípicas entre los pacientes pediátricos con DM2 y los participantes sin diabetes. En la Tabla 10 se muestran los 5 SNPs que mostraron una asociación significativa ajustando por edad, sexo e IMC (*ADORA*/rs903361, *CADM2*/rs13078807, *GNPDA2*/rs10938397, *VEGFA*/rs6905288 y *FTO*/rs9939609; p<0.05). En el análisis de casos-hermanos, únicamente el SNP *CADM2*/rs13078807 alcanzó significancia estadística (OR=2.5, IC95% 1.2;4.9, p=0.009). En el análisis combinado (caso-control pediátrico, caso-control adulto y caso-hermano), solamente el *GNPDA2*/rs10938397 mostró significancia estadística posterior a la corrección por Bonferroni en el modelo dominante (OR 2.2, IC95% 1.4; 3.7, p≤0.001).

Tabla 10. SNPs determinados mediante el microarreglo que mostraron una asociación significativa con DM2 de inicio en la edad pediátrica.

Gen cromosoma	rs OA/AR	Modelo de riesgo ^c	Caso-control pediátrico n=99/83				Caso-control adulto n=99/137			Caso-hermano n=99/101			Combinado 99/321		
			FAM	OR ^a	p	IC95%	FAM	OR ^b	P	FAM	OR ^a	p	OR ^a	p	
			Ca Co	Ca Co			Ca Co	IC95%		IC95%	IC95%				
<i>ADORA1</i> 1	rs903361 A/G	Dom	34.8	2.4	0.009*	1.2;4.7	34.8	1.8	0.033*	1.0;3.2	33.9	1.0	0.983	1.9	0.010*
			20.8	2.6			27.1	2.8			35.8	0.6;1.7		1.2;3.0	
<i>CADM2</i> 3	rs13078807 A/G	Dom	12.6	2.6	0.048*	1.1;6.7	12.6	2.8	0.012*	1.2;6.3	13.1	2.5	0.009*	2.2	0.009*
			5.9	2.7			5.7	2.5			5.6	1.2;4.9		1.2;4.0	
<i>GNPDA2</i> 4	rs10938397 A/G	Dom	41.4	2.7	0.005*	1.4;5.5	41.4	2.5	0.003*	1.4;4.6	40.1	1.6	0.057	2.2	<0.001**
			23.3	1.6			25.9	1.6			35.5	1.0;2.6		1.4;3.7	
<i>VEGFA</i> 6	rs6905288 G/A	Add	41.1	1.6	0.032*	1.0;2.5	41.1	1.6	0.037*	1.0;2.5	41.8	1.3	0.255	1.4	0.044*
			29.9	2.5			28.7	1.9			39.5	0.8;2.3		1.1;2.1	
<i>FTO</i> 16	rs9939609 T/A	Add	27.3	2.5	0.003*	1.4;4.6	27.3	1.9	0.032*	1.1;3.5	14.4	1.3	0.512	1.8	0.039*
			13.9	1.3			14.4	1.3			11.2	0.6;2.7		1.0;3.2	

*p<0.05, ** valor de p significativo posterior a corrección de Bonferroni. OA: otro alelo, AR: alelo de riesgo, Ca: caso, Co: control FAM: frecuencia del alelo menor, Dom: dominante, Add: aditivo. ^aAjustado por edad, sexo; ^bAjustado por sexo e IMC, ^cModelo de riesgo con menor valor de p.

En la Tabla 11 se muestra el análisis de los tríos mediante la prueba de TDT. Se identificaron 4 SNPs asociados a DM2: *GNPDA2/rs10938397*, *VEGFA/rs6905288*, *LINGO/rs10968576* y *GLIS3/rs7034200* (la asociación de los dos primeros también se observó en el análisis de casos-controles). Al combinar los resultados del análisis de TDT con el análisis de casos-controles adultos, se observó la asociación de otros dos SNPs: *POC5/rs2112347* y *RPS10/rs206936*. Las variantes *POC5/rs2112347* y *RPS10/rs206936* se asociaron con el alelo materno y *GLIS3/rs7034200* con el alelo paterno.

Tabla 11. SNPs genotificados en el microarreglo asociados con DM2 en el análisis de tríos y casos-controles adultos.

SNP	Tríos				Casos- controles		Análisis combinado			Alelo paterno	Alelo materno	Asociaciones previas ⁶⁹
	T	NT	OR	IC 95%	OR	IC 95%	OR	IC 95%	P	p	p	
<i>LINGO</i> <i>rs10968576</i>	17	8	2.13	1.61-2.64	1.84	1.27-2.41	1.99	1.61-2.38	4.3E-4*	0.057	0.365	IMC, obesidad
<i>POC5</i> <i>rs2112347</i>	32	12	2.67	2.26-3.07	0.92	0.45-1.40	1.70	1.39-2.01	6.9E-4*	0.225	0.004*	IMC, obesidad
<i>GLIS3</i> <i>rs7034200</i>	12	32	2.67	2.26-3.07	1.53	1.07-1.98	2.08	1.78-2.38	1.9E-6*	0.004*	0.108	Glucosa de ayuno, HOMA-B
<i>GNPDA2</i> <i>rs10938397</i>	23	19	1.21	0.75-1.67	2.28	1.78-2.77	1.62	1.29-1.96	0.005*	0.808	0.393	IMC, obesidad, inicio de la menarca
<i>VEGFA</i> <i>rs6905288</i>	32	22	1.45	1.05-1.86	1.65	1.19-2.10	1.54	1.23-1.84	0.005*	0.414	0.491	Índice cintura/cadera, síndrome metabólico
<i>RPS10</i> <i>rs206936</i>	31	17	1.82	1.41-2.23	1.24	0.78-1.70	1.54	1.23-1.84	0.006*	0.414	0.038*	IMC

* $p \leq 0.05$ T: transmitidos, NT: no transmitidos.

Debido que la prueba de TDT no permite incluir variables de ajuste y considerando que la mayoría de estas variantes habían estado asociadas a obesidad y otras alteraciones metabólicas en diversos estudios, se realizó un análisis para evaluar si estas variantes también se asociaban en la prueba TDT con sobrepeso u obesidad en nuestra muestra. Como se observa en la Tabla 12, las variantes *LINGO/rs10968576* y *POC5/rs2112347* también se asociaron a la presencia de sobrepeso u obesidad.

Adicionalmente se evaluó la asociación entre los SNPs incluidos en el microarreglo y las variables cuantitativas relacionadas con el metabolismo de la glucosa en los participantes sin DM2 (Tabla 13). Observamos que 16 de los SNPs se asociaron con uno o más de las siguientes variables: glucosa de ayuno, glucosa de 2 horas, HbA1c, péptido C, insulina de ayuno, HOMA-IR, HOMA-B y QUICKI. De los SNPs que se asociaron con DM2 de inicio en la edad pediátrica, *CADM2/rs13078807* se asoció con los niveles de HbA1c ($\beta=0.25$ por alelo de riesgo, $p=0.032$) y *VEGFA/rs6905288* con los niveles de glucosa de ayuno ($\beta=4.59$ por alelo de riesgo, $p=0.034$) así como con la glucosa de 2 horas ($\beta=2.07$ por alelo de riesgo, $p=0.012$). Solamente dos SNPs alcanzaron significancia estadística posterior a la corrección por Bonferroni ($p \leq 0.001$) para las asociaciones con insulina de ayuno, HOMA-IR y QUICKI en el caso de la variante *SLC2A2/rs11920090* y con QUICKI para la variante *PCSK1/rs6232*.

Tabla 12. SNPs genotificados en el microarreglo asociados con sobrepeso u obesidad en el análisis de tríos y casos-controles adultos.

SNP	Tríos				Casos – controles				Análisis combinado		Alelo paterno	Alelo materno
	T	NT	OR	IC 95%	OR	IC 95%	OR	IC 95%	p	p		
LINGO/rs10968576	8	15	1.88	1.33-2.42	1.46	0.82-2.11	1.69*	1.27-2.11	0.563	0.095		
POC5/rs2112347	13	27	2.08	1.65-2.51	0.86	0.25-1.48	1.56*	1.21-1.91	0.251	0.049*		
GLIS3/rs7034200	27	15	0.56	0.01-1.10	1.29	0.68-1.90	0.81	0.40-1.22	0.010*	0.617		
GNPDA2/rs10938397	18	22	1.22	0.76-1.769	0.91	0.17-1.65	1.12	0.73-1.2	0.808	0.275		
VEGFA/rs6905288	24	25	1.04	0.60-1.49	1.12	0.50-1.74	1.07	0.70-1.43	1.000	0.818		
RPS10/rs206936	16	28	1.75	1.32-2.18	0.73	0.14-1.33	1.30	0.96-1.65	0.371	0.032*		

*p≤0.05 T: transmitidos, NT: no transmitidos

Tabla 13. SNPs determinados mediante el microarreglo con asociación significativa con variables metabólicas cuantitativas en participantes sin diabetes.

SNP	Variable	Coefficiente beta	p	IC95%	Asociaciones previas ⁶⁹
rs13078807	HbA1c (%)	0.25	0.032	0.02 ; 0.49	Obesidad e IMC
rs7138803	Insulina de ayuno (mg/dL)	1.57	0.028	0.17 ; 2.98	Obesidad, IMC, peso, índice cintura/cadera
	HOMA-IR	0.33	0.046	0.01 ; 0.66	
rs206936	Péptido-C (ng/dL)	-0.35	0.041	-0.68 ; -0.01	IMC
rs2890652	QUICKI	-0.01	0.027	-0.02 ; 0.00	IMC
rs1555543	Insulina de ayuno (mU/mL)	1.54	0.050	0.00 ; 3.08	IMC
	Péptido-C (ng/dL)	0.38	0.044	0.01 ; 0.74	
rs151475	HOMA-B	-27.70	0.020	-51.16 ; -4.39	IMC
rs10195252	Glucosa de ayuno (mg/dL)	1.76	0.038	0.10 ; 3.43	Índice cintura/cadera y triglicéridos
	QUICKI	-0.01	0.005	-0.02 ; 0.00	
rs1443512	HOMA-B	-27.03	0.012	-47.97 ; -6.08	Índice cintura/cadera
rs1294421	HOMA-B	-18.90	0.040	-36.96 ; -0.84	Índice cintura/cadera
rs9491696	HOMA-B	-24.17	0.033	-46.34 ; -2.00	Índice cintura/cadera
rs6905288	Glucosa 2 horas (mg/dL)	4.59	0.034	0.36 ; 8.81	Índice cintura/cadera y enfermedad coronaria
	Glucosa de ayuno (mg/dL)	2.07	0.012	0.47 ; 3.67	
rs10885122	HOMA-B	-38.46	0.014	-69.14 ; -7.79	Glucosa de ayuno y HOMA-B
rs2191349	Insulina de ayuno (mU/mL)	-1.89	0.003	-3.14 ; -0.64	Glucosa de ayuno y HOMA-B
	HOMA-B	-21.75	0.023	-40.50 ; -3.01	
rs10830963	Glucosa de ayuno (mg/dL)	1.95	0.034	0.14 ; 3.76	Glucosa de ayuno, HOMA-B, índice de disposición, respuesta aguda de la insulina y DM2
	Insulina de ayuno (mU/mL)	2.76	0.001	1.18 ; 4.33	
rs11920090	Péptido-C (ng/dL)	0.35	0.007	0.10 ; 0.61	Glucosa en ayuno y HOMA-B
	HOMA-IR	0.63	0.001	0.26 ; 0.99	
	QUICKI	-0.02	<0.001	-0.03 ; -0.01	

SNP	Variable	Coefficiente beta	p	IC95%	Asociaciones previas ⁶⁹
rs6232	Glucosa de ayuno (mg/dL)	3.07	0.008	0.82 ; 5.31	
	Insulina de ayuno (mU/mL)	2.67	0.006	0.76 ; 4.58	
	Péptido-C (ng/dL)	0.57	0.015	0.11 ; 1.02	Obesidad e IMC
	HOMA-IR	0.63	0.006	0.18 ; 1.07	
	QUICKI	-0.02	<0.001	-0.03 ; -0.01	

IMC: índice de masa corporal, DM2: diabetes mellitus tipo 2. Coeficiente beta: unidad de cambio por alelo de riesgo.

Las frecuencias alélicas y genotípicas de los 4 SNPs previamente asociados con DM2 y que fueron identificados mediante sondas individuales se presentan en la Tabla 14.

Tabla 14. Frecuencias alélicas y genotípicas de los 4 SNPs previamente asociados con DM2 (rs13342232, rs7903146, rs12255372 y rs9282541).

Genotipo/Alelo	Familias caso				Familias control	
	Niños con DM2	Padres DM2	Padres sin DM2	Hermanos sin DM2	Niños sin DM2	Padres sin DM2
	(n=99)	(n=57)	(n=85)	(n=86)	(n=83)	(n=129)
TCF7L2/rs7903146						
CC	72.7	75.8	78.1	75.3	75.7	72.7
CT	25.0	22.5	19.2	19.8	20.3	26.4
TT	2.3	1.6	2.7	4.9	4.1	0.9
T	14.8	12	12.3	14.8	14.2	14.1
TCF7L2/rs12255372						
GG	80.2	81.1	74.1	77.7	72.4	75
GT	18.7	18.9	24.7	21.3	23.7	21.6
TT	1.1	0	1.2	1.1	4.0	3.5
T	10.4	9.4	13.5	11.7	15.7	14.2
SLC16A11/rs13342232						
AA	31.9	26.9	36.1	23.4	41.3	35.7
AG	38.5	48.1	48.8	50	49.3	57.4
GG	29.7	25	15.1	26.6	9.3	7
G	48.9	49	39.5	51.6	34.0	35.7
ABCA1/rs9282541						
CC	75.8	74.1	73.3	74.5	77.3	78.3
CT	23.1	25.9	25.6	24.5	22.7	20.9
TT	1.1	0	1.2	1.1	0	0.9
T	12.6	12.9	13.9	13.4	11.3	11.3

En adultos y niños, el alelo G del gen *SLC16A11/rs13342232* se encontró asociado con la presencia de DM2 después de ajustar por edad, sexo, clasificación del IMC y grupo familiar (OR ajustado [ORadj] 1.89, p=0.009 y ORadj 1.94, p=0.003, respectivamente). Observamos un mayor efecto en el modelo recesivo (ORadj 3.24,

p=4.8E-3 en adultos y ORadj 5.53, p=3.6E-04 en niños). Los otros tres SNPs analizados no mostraron asociación significativa con la enfermedad en estas familias (Tabla 15). De igual forma, no se observaron diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas entre pares de hermanos (datos no mostrados).

Tabla 15. Asociación de los SNPs rs7903146, rs12255372, rs13342232 y rs9282541 con DM2.

Gen rs	AR /OA	Modelo	Participantes con diabetes vs sin diabetes (n=539)		Adultos (≥ 19 años) (n=271)		Niños/adolescentes (<19 años) (n=182)		Niños con diabetes vs hermanos sin diabetes (n=185)	
			ORadj IC95%	P	ORadj IC95%	p	ORadj IC95%	P	ORadj IC95%	P
TCF7L2 rs7903146	C/T	Add	1.13 0.79; 1.61	0.519	0.92 0.49; 1.74	0.801	1.16 0.60; 2.24	0.650	0.96 0.46; 2.00	0.925
TCF7L2 rs12255372	G/T	Add	0.77 0.51; 1.17	0.222	0.65 0.35; 1.22	0.181	0.74 0.39; 1.43	0.377	0.88 0.43; 1.80	0.733
SLC16A11 rs13342232	G/A	Add	1.52 1.16; 2.00	0.002	1.89 1.18; 3.06	0.009	1.94 1.25; 3.00	0.003	0.81 0.56; 1.17	0.263
		Rec	2.3 1.45; 3.64	4.00E-04	3.24 1.42; 7.35	4.80E-03	5.53 2.16; 14.16	3.60E-04	1.02 0.50; 2.09	0.941
ABCA1 rs9282541	C/T	Add	0.98 0.65; 1.48	0.938	1.34 0.72; 2.48	0.351	1.05 0.52; 2.14	0.887	0.83 0.45; 1.53	0.555

Add: aditivo; Rec: recesivo, AR: alelo de riesgo; OA: otro alelo, ORadj: OR ajustado por edad, sexo y clasificación del IMC.

No se observó asociación entre estos 4 SNPs y DM2 en la prueba de TDT en los tríos. Como se observa en la Tabla 16, el análisis combinado de casos-controles y tríos identificó un OR=1.43 para la asociación del SLC16A11/rs13342232 con DM2 (p=0.023).

Tabla 16. Análisis combinado de TDT y casos-controles de los SNPs rs7903146, rs12255372, rs13342232 y rs9282541

SNPs	AR	T	NT	p	TDT		Caso-Control		Resultados combinados		p	p*
					OR	IC95%	OR	IC95%	OR	IC95%		
rs7903146	C	18	0	0.865	0.94	0.43 - 1.46	1.07	0.58 - 1.97	1.03	0.62 - 1.43	0.898	0.611
rs12255372	G	15	1	0.852	0.93	0.37 - 1.50	0.67	0.36 - 1.25	0.80	0.38 - 1.23	0.307	0.422
rs13342232	G	26	21	0.890	1.04	0.61 - 1.47	1.91	1.24 - 2.93	1.43	1.12 - 1.74	0.023	0.036
rs9282541	C	10	2	0.818	0.90	0.21 - 1.59	1.07	0.53 - 2.13	0.98	0.50 - 1.46	0.940	0.729

AR: alelo de riesgo; T: transmitidos, NT: no transmitidos, p* valor de p de la prueba de homogeneidad de ORs.

El análisis de regresión lineal robusta señaló que en pacientes con DM2, el gen TCF7L2/rs12255372 se asoció con los niveles de péptido-C después de ajustar por edad, sexo y clasificación del IMC ($\beta = -0.76$, p=0.005). Por otra parte, en participantes sin DM2, esta variante no se asoció con los niveles de péptido-C,

pero sí con los niveles de glucosa en ayuno ($\beta=2.05$, $p=0.039$) y HOMA-B ($\beta=-32.14$, $p=0.025$) después de ajustar por edad, sexo e IMC (Tabla 17).

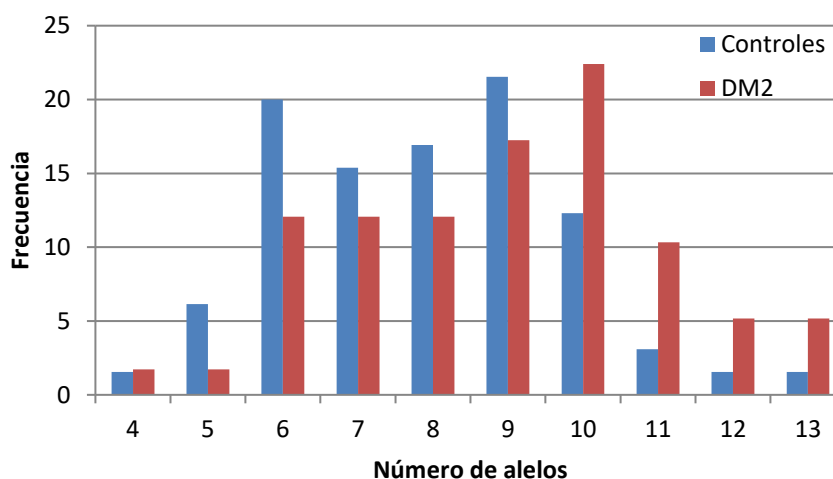
Tabla 17. Asociación de los SNPs rs7903146, rs12255372, rs13342232 y rs9282541 con variables relacionadas al metabolismo de la glucosa en participantes con y sin DM2.

	rs7903146		rs12255372		rs13342232		rs9282541	
	Coefficiente Beta	p	Coefficiente beta	p	Coefficiente beta	p	Coefficiente beta	p
Participantes con DM2 (n=156)								
Glucosa de ayuno (mg/dL)	-0.24	0.984	2.00	0.903	6.66	0.487	3.59	0.826
HbA1c (%)	1.0	0.051	0.34	0.560	-0.13	0.732	-0.02	0.973
Insulina de ayuno (mUI/mL)	-1.65	0.434	-3.88	0.098	-3.08	0.162	-0.27	0.921
Péptido-C (ng/dL)	-0.16	0.540	-0.76	0.005 ^a	-0.30	0.175	-0.21	0.502
HOMA-IR	-0.02	0.977	-1.03	0.189	-0.85	0.189	-0.04	0.957
HOMA-B	-69.49	0.052	-94.47	0.090	-52.34	0.081	25.84	0.496
QUICKI	0.01	0.538	0.01	0.583	0.01	0.421	-0.01	0.064
Participantes sin DM2 (n=383)								
Glucosa de ayuno (mg/dL)	-0.72	0.424	2.05	0.039	0.77	0.316	-0.22	0.831
Glucosa de 2 horas (mg/dL)	0.83	0.765	-3.91	0.108	-1.07	0.575	5.24	0.071
HbA1c (%)	0.11	0.291	-0.06	0.229	-0.05	0.348	-0.03	0.569
Insulina de ayuno (mUI/mL)	-0.03	0.973	-0.73	0.563	-0.20	0.793	0.68	0.397
Insulina de 2 horas (mUI/mL)	4.54	0.454	-2.03	0.768	-5.58	0.262	10.17	0.130
Péptido C (ng/dL)	-0.22	0.151	0.02	0.905	-0.10	0.401	-0.02	0.865
HOMA-IR	0.01	0.991	-0.08	0.790	-0.05	0.747	0.19	0.328
HOMA-B	-13.11	0.338	-32.14	0.025	-6.48	0.655	-0.10	0.993
QUICKI	0.01	0.236	0.01	0.320	0.01	0.625	0.01	0.899

Los datos están expresados como coeficientes beta en el modelo aditivo (cambio por alelo de riesgo), ajustado por edad, sexo y clasificación de IMC. ^aAsociación significativa después de corrección de Bonferroni.

En resumen, los resultados del análisis de casos-contróles y tríos, identificaron 10 SNPs asociados con la presencia de DM2 de inicio en la edad pediátrica (*ADORA1*/rs903361, *CADM2*/rs13078807, *GNPDA2*/rs10938397, *VEGFA*/rs6905288, *FTO*/rs9939609, *LINGO*/rs10968576, *POC5*/rs2112347, *GLIS*/rs7034200, *RPS10*/rs206936 y *SLC16A11*/rs13342232). Los pacientes con DM2 de inicio en la edad pediátrica tuvieron un mayor número de alelos de riesgo de estos SNPs en comparación a los controles (Figura 3).

Figura 3. Número de alelos de riesgo en niños con DM2 y controles.



Con el propósito de evaluar si estas variantes genéticas podrían tener utilidad en la predicción de la DM2 más allá de los factores comúnmente asociados a la enfermedad, se analizaron distintos modelos de riesgo. En lo que respecta a los factores de riesgo habituales para DM2, se identificó que el Z-score del IMC y el antecedente de DM2 en la madre, fueron los factores asociados a la enfermedad de inicio en la edad pediátrica en la muestra evaluada (OR=1.7, p=0.004 y OR=6.48, p<0.001 respectivamente) (Tabla 18). No se observó asociación con otros factores como exposición a diabetes gestacional, patrones de alimentación, actividad y condición física.

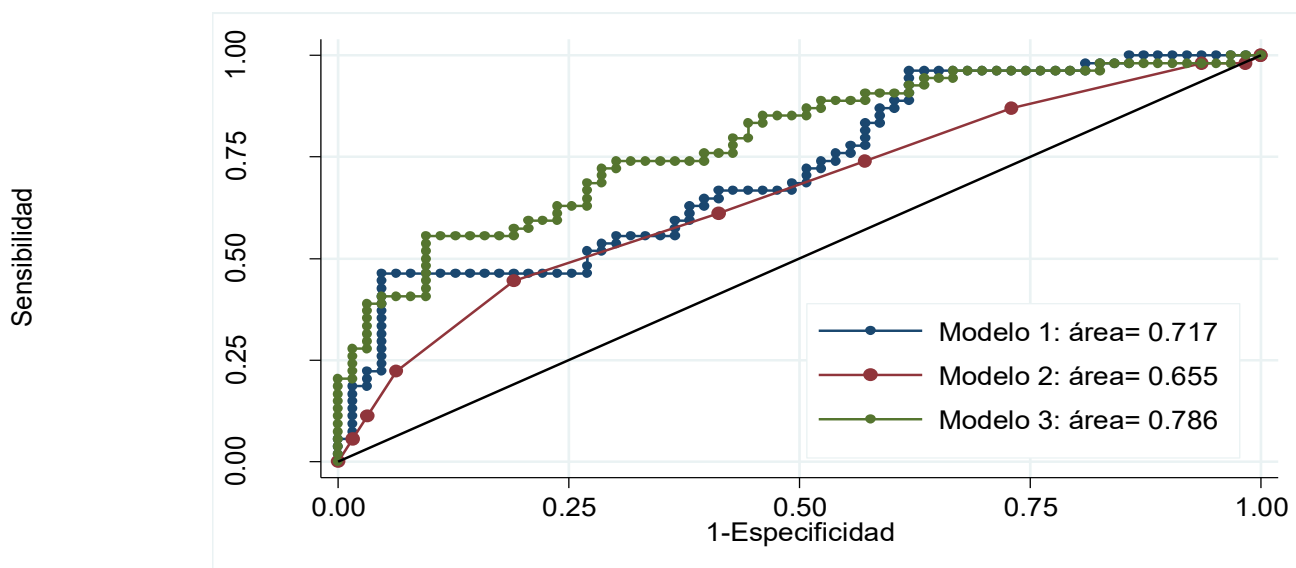
Tabla 18. Modelos de riesgo para DM2.

	OR	P	IC 95%
Modelo 1			
Z-score IMC	1.70	0.004	1.18;2.45
DM2 materna	6.48	<0.001	2.72;15.44
Edad	1.05	0.427	0.92;1.19
Sexo masculino	1.03	0.920	0.52;2.04
Modelo 2			
GRS	1.30	0.006	1.07;1.57
Modelo 3			
GRS	1.30	0.018	1.04;1.62
Z-score IMC	1.44	0.111	0.91;2.28
DM2 materna	7.28	<0.001	2.70;22.65
Edad	1.08	0.324	0.92;1.27
Sexo masculino	1.00	0.996	0.41;2.39

Como se observa en la Tabla 18, la puntuación de riesgo genético (GRS) con los 10 SNPs identificados en este estudio, mostró una asociación significativa con la presencia de DM2 (OR=1.3, p=0.006), manteniendo la asociación al ajustar por el Z-score del IMC y el antecedente materno de DM2 (OR=1.3, p=0.018).

Como se observa en la Figura 4, el área bajo la curva del Modelo 1 fue menor a la del Modelo 3 en la cual se integra el GRS (0.715 vs 0.786), siendo esta diferencia estadísticamente significativa (p<0.02).

Figura 4. Área bajo la curva de los modelos de predicción para DM2.



Modelo 1. Z-score IMC, diabetes materna, edad, sexo, prueba de Harvard.

Modelo 2. GRS.

Modelo 3. GRS + Z-score IMC, diabetes materna, edad, sexo, prueba de Harvard.

DISCUSIÓN

El presente trabajo resulta de especial interés debido a que, hasta nuestro conocimiento, se trata del primer estudio en pacientes mexicanos que involucra un diseño familiar y de casos-contróles para la identificación de factores genéticos asociados a DM2 en la edad pediátrica.

Además, es la primera vez que se estima la heredabilidad de la DM2 en niños, quienes han tenido menor tiempo de exposición a los factores de riesgo ambiental relacionados con el desarrollo de enfermedades complejas. A pesar de que se han realizado estudios genéticos sobre DM2 y síndrome metabólico basados en familias, existen pocos estudios comparables en población pediátrica.^{89, 91, 97}

En el análisis de los integrantes de las familias, observamos correlaciones significativas en la mayoría de las variables metabólicas entre familiares con y sin relación genética, lo cual ha sido reportado por otros

autores.^{90, 92, 101} Cuando un desenlace se atribuye a factores genéticos, no se espera identificar correlaciones significativas entre esposos, dado que en general no presentan relación genética. Sin embargo, en nuestro estudio identificamos que diversas correlaciones entre esposos fueron significativas con una magnitud similar a las correlaciones padre-hijo, sugiriendo la importancia de la influencia de los factores ambientales a los cuales están expuestos los integrantes de una familia.

Específicamente para DM2, encontramos una correlación significativa únicamente con la madre. Estudios previos han señalado que existe un riesgo mayor cuando la madre, y no el padre, tiene DM2,¹⁰² aunque existen reportes en los cuales no se ha demostrado una asociación parental diferencial.¹⁰³ Algunas variantes genéticas han mostrado una mayor asociación con DM2 cuando el alelo de riesgo se transmite por la madre en relación a cuando es transmitido por el padre y también se ha sugerido que el ambiente intrauterino, relacionado principalmente con la nutrición materna, puede tener un importante papel tanto en la programación fetal como en la impronta genómica, lo que apoya la hipótesis de que los cambios epigenéticos pueden tener un papel importante en el desarrollo de la DM2.⁴⁵

Uno de los aspectos que llamó la atención fue una correlación negativa para DM2 entre hermanos. Aunque esto fue inesperado, lo anterior podría tener algunas explicaciones como la sensibilización de la familia ante un miembro afectado, la falta de tiempo para el desarrollo de la enfermedad en los hermanos o bien una mayor susceptibilidad genética en los niños afectados, lo que favorece el desarrollo de la enfermedad de forma temprana en comparación a sus hermanos que podrían tener una menor susceptibilidad genética. Aproximadamente 30% de los pacientes pediátricos con DM2 en nuestro estudio no tenían un padre afectado, lo cual también pudiera contribuir a esta correlación negativa entre hermanos. Weijnen y cols., observaron que el riesgo en hermanos de casos índices sin padres afectados era similar al de la población general, sugiriendo que los factores genéticos contribuyen a la presencia de diabetes solamente en la minoría de los hermanos. Estos autores reportaron una mayor recurrencia en familias con uno o dos padres con diabetes, lo que indica que la susceptibilidad a DM2 es transmitida a través de los padres.¹⁰⁴

Encontramos una mayor proporción de la varianza atribuida a factores genéticos ($h^2 > 0.50$) para hipertensión, hipoalfalipoproteinemia, hipercolesterolemia y DM2 en sujetos jóvenes. Por otro lado observamos que, para glucosa en ayuno alterada, resistencia a la insulina, síndrome metabólico, obesidad y obesidad abdominal, la contribución de factores genéticos y ambientales era similar, mientras que se observó una mayor contribución de factores ambientales para DM2 al incluir tanto individuos jóvenes como a la generación de abuelos. La observación de una menor heredabilidad de la DM2 cuando se incluyen individuos de mayor edad había sido observada por Almgren y cols., quienes reportaron una heredabilidad para DM2 de 0.50 cuando se incluían individuos de 16 a 60 años en comparación a una heredabilidad de 0.27 cuando se incluían individuos de 16 a 75 años.⁸⁷ Estos resultados apoyan la observación de una mayor participación de factores genéticos cuando enfermedades complejas afectan a individuos de menor edad.

En variables cuantitativas, observamos una elevada heredabilidad ($h^2 > 0.50$) para IMC, circunferencia cintura, presión arterial, insulina de 2 horas, colesterol total, colesterol HDL y colesterol LDL, aunque también se observó una correlación ambiental significativa para la mayoría de ellas. Estos resultados nuevamente sugieren que tanto los factores genéticos como ambientales influyen en estos desenlaces metabólicos, aunque con diferente magnitud y posiblemente a través de mecanismos fisiopatológicos distintos, con una susceptibilidad particular en población mexicana joven.

A la fecha, se han publicado aproximadamente 75 artículos indexados en MEDLINE que han reportado la heredabilidad para DM2 y otras alteraciones metabólicas relacionadas. La comparación de las estimaciones de la heredabilidad entre distintos estudios resulta difícil debido a la heterogeneidad de los mismos, ya sea por el diseño, características de los participantes (ej. edad y grupo étnico), métodos de evaluación de los fenotipos y la inclusión de covariables (ej. factores ambientales o la presencia de DM2). Identificamos 7 artículos en los cuales se ha estimado la heredabilidad de fenotipos metabólicos que incluyen población hispana,^{48, 89, 91, 93, 105-107} 16 estudios que incluyen participantes menores de 19 años,^{34, 87, 89-100, 108, 109} y solamente 3 estudios que se enfocan en niños (pacientes prebúberes).^{89, 91, 97} De los estudios que involucran niños, solamente uno incluyó factores ambientales como covariables,⁹¹ y ninguno evaluó la heredabilidad para DM2.

En la Figura 1 y en la Tabla 8, comparamos nuestros resultados con publicaciones previas que incluyen población hispana y/o participantes menores de 19 años. La mayoría de las estimaciones de heredabilidad identificadas en nuestro estudio fueron similares a las reportadas por otros autores. Sin embargo, observamos una mayor heredabilidad para presión arterial e insulina de 2 horas, así como una menor heredabilidad para triglicéridos. En contraste con otros estudios, no identificamos una heredabilidad significativa para niveles de péptido C, HbA1c y HOMA-IR.

En estudios familiares es difícil determinar si la agregación familiar de enfermedades como la DM2 y el síndrome metabólico es explicada por predisposición genética y/o por los factores ambientales que comparten en común. La falta de control de variables ambientales cuando se analiza la heredabilidad ha sido una debilidad en estudios previos, por lo que el considerar la inclusión de variables como la actividad física, condición física y los hábitos de alimentación es una de las fortalezas del presente estudio.

Al evaluar los factores de riesgo ambiental, se observó un menor consumo calórico en los integrantes de las familias caso en comparación a los integrantes de las familias control. Esta situación fue debida a que los pacientes fueron captados para el estudio durante el primer mes de diagnóstico y aunque pudiera no ser suficiente para modificar sus hábitos, se considera que el impacto del diagnóstico contribuye a una subestimación del consumo de alimentos o a un efecto inicial de las recomendaciones por el personal de salud. A pesar de lo anterior, en la evaluación de la condición física, la cual no se ve influenciada por cambios

recientes en los estilos de vida, no se observaron diferencias entre los integrantes de las familias caso y familias control, lo que parece señalar que el riesgo ambiental de inactividad física es muy similar en ambos grupos.

Una de las variables que mostró diferencias de forma significativa fue el antecedente de exposición prenatal a diabetes gestacional, siendo mayor en los niños caso, seguida de la frecuencia en sus hermanos y por último en los niños control. Esta exposición a diabetes gestacional puede condicionar modificaciones en la programación fetal que predisponen a los individuos al desarrollo de enfermedades a lo largo de la vida.¹¹⁰

A pesar de que los factores genéticos pueden ser responsables de una gran porción de la varianza de las variables metabólicas analizadas, nuestros resultados sugieren también una importante participación de los factores ambientales, los cuales, a diferencia de los factores genéticos, pueden ser modificados con el objetivo de reducir el riesgo de enfermedades cardiometabólicas. Por lo anterior, dado que existe una importante agregación familiar de la DM2 y demás alteraciones metabólicas, intervenciones sobre los estilos de vida basadas en las familias pueden ser útiles para la promoción de la salud en nuestra población.

Debido a la alta heredabilidad de la DM2 y otras alteraciones metabólicas relacionadas en estas familias, la muestra obtenida resultó de utilidad para la identificación variantes genéticas asociadas a DM2 en población mexicana joven.

Se han asociado un gran número de SNPs con la presencia de DM2. Algunas de las asociaciones han sido heterogéneas entre distintos grupos étnicos y la mayoría de los estudios han identificado a estas variantes en población con ancestría europea. La información en población hispana y mexicana es menor y aún más escasa cuando se trata de presentaciones pediátricas de la enfermedad, por lo que los hallazgos de la asociación de SNPs con la presentación de DM2 en este grupo de pacientes, resulta de interés.

El diseño del estudio permitió confirmar, y en algunos casos reportar por primera vez, la asociación de 10 SNPs asociados a la presencia de DM2 de inicio en la edad pediátrica en familias de niños mexicanos. Por su diseño, se pudo evaluar la consistencia de las asociaciones encontradas, el ajuste de variables potencialmente confusoras y la transmisión parental de la enfermedad.

Mediante la comparación de genotipos entre casos y controles de las variantes que fueron genotipificadas en el microarreglo, se identificó la asociación de 5 SNPs con la presencia de DM2 de inicio en la edad pediátrica. Todas estas variantes habían sido previamente relacionadas con alteraciones metabólicas en estudios amplios del genoma. Los SNPs *ADORA*/rs903361,¹¹¹ *CADM2*/rs13078807,^{112, 113} *GNPDA2*/s10938397,¹¹³ y *FTO*/rs9939609¹¹⁴⁻¹¹⁶ se habían asociado previamente con IMC; *CADM2*/rs13078807^{112, 117} y *GNPDA2*/s10938397^{114, 117} con obesidad; y *VEGFA*/rs6905288 con el índice cintura-cadera,¹¹⁸ así como con enfermedad coronaria.¹¹⁹ De estas variantes, solamente

GNPDA2/rs10938397^{120, 121} y *FTO/rs9939609*¹²²⁻¹²⁴ se habían asociado previamente con DM2 en adultos y en nuestro estudio también observamos una asociación con el inicio de la enfermedad en la edad pediátrica.

Como se mencionó, la mayoría de los SNPs incluidos en el microarreglo habían sido asociados previamente con obesidad o fenotipos relacionados. Es bien sabido, que la obesidad es el principal factor de riesgo para DM2, por lo cual todos los análisis de asociación de estos polimorfismos fueron ajustados por el IMC, Z-score de IMC o la presencia de sobrepeso u obesidad. Sin embargo, también es conocido que no todos los niños con obesidad desarrollan la enfermedad y algunos pacientes sin obesidad la pueden presentar. Lo anterior indica que la grasa corporal no es el único factor involucrado en la etiología de la DM2 en la edad pediátrica.⁷⁰ Se ha observado que la predisposición genética a obesidad también incrementa el riesgo de DM2.¹²⁵ En nuestro estudio observamos que los 5 SNPs asociados en el análisis de casos-controles se encontraban asociados a la enfermedad independientemente del IMC. A pesar de que el IMC no es una medida perfecta de la adiposidad, nuestros resultados sugieren que estas variantes genéticas pueden predisponer al desarrollo de DM2 a menores niveles de IMC y adicionalmente proporcionan una explicación del por qué no todos los individuos con obesidad desarrollan la enfermedad.

En este estudio confirmamos que algunas de las variantes genotipificadas en el microarreglo, que previamente habían sido asociadas con obesidad y otras alteraciones metabólicas, también se asociaron con variables cuantitativas relacionadas con el metabolismo de la glucosa de manera independiente de edad, sexo e IMC en individuos sin diabetes (Tabla 14). A pesar de que solamente dos de los SNPs asociados con los niveles de glucosa e insulina (*CADM2/rs13078807* y *VEGFA/rs6905288*) también estuvieron asociados con DM2 de inicio en la edad pediátrica, las otras variantes podrían ser marcadores genéticos de susceptibilidad para el desarrollo futuro de la enfermedad, sin embargo, se requiere de estudios de seguimiento que corroboren esta hipótesis.

De todos los SNPs del microarreglo que estuvieron asociados con la presencia de DM2 de inicio en la edad pediátrica o con alguna de las variables relacionadas con el metabolismo de la glucosa, solamente la variante *PCKSI/rs6232* se encuentra localizada en una región codificante. *PCKSI* codifica una pro-hormona convertasa 1/3, que participa en la activación proteolítica de precursores de hormonas polipeptídicas y neuropéptidos. El polimorfismo no-sinónimo rs6232 (N221D) se ha asociado con riesgo de obesidad y los portadores de esta variante presentan una actividad enzimática 30% menor.¹²⁶

Los otros SNPs que identificamos asociados con DM2 y las otras variables metabólicas, no se localizan en regiones codificantes o no residen dentro de regiones génicas, por lo cual no afectan la función de la proteína (Anexo 8). A pesar de que se encuentran asociados, no está esclarecida la forma en que estas variantes pueden influir en la capacidad secretora de la insulina (crecimiento, sobrevivencia o función de la célula beta), en la modulación de la adiposidad y/o en los mecanismos de sensibilidad a la insulina. Por lo anterior, se

requiere de más estudios que permitan identificar los mecanismos moleculares que se afectan en los portadores de estas variantes y que condicionan a que algunos individuos sean más susceptibles a los factores de riesgo ambiental, lo que los lleva a desarrollar la enfermedad a una edad muy temprana.

Una de las asociaciones con DM2 de inicio en la edad pediátrica que más llamaron la atención fue la de la variante *rs13078807* localizado en el gen *CADM2* que codifica a un miembro de la molécula sináptica de adhesión celular (SynCAM) que pertenece a la superfamilia de las inmunoglobulinas. Este SNP fue el único que se identificó asociado a la enfermedad en el análisis de hermanos. Otros estudios lo han asociado a la presencia de obesidad en adultos jóvenes europeos y al IMC en población anglosajona.¹¹³ Sin embargo, este es el primer estudio que reporta su asociación con DM2.

Otra de las asociaciones identificadas con DM2 de inicio en la edad pediátrica fue la del *rs9939609* del gen *FTO* (fat mass and obesity associated protein), de forma independiente al IMC. Diversos estudios han reportado su asociación con la presencia de diabetes; sin embargo, en otros estudios no se ha podido identificar al controlar por variables de confusión en población del este de Asia¹²⁶ así como en un estudio realizado en población mexicana.¹²⁷ Esta variante ha sido principalmente asociada a sobrepeso y obesidad,^{123, 126, 128-130} inclusive en población mexicana¹²⁷ y en niños con ancestría amerindia.¹²¹

Los dos SNPs que mostraron consistencia en la asociación en el análisis de casos-controles y casos tríos, fueron el *rs10938397* y el *rs6905288*. El primero se encuentra cercano al gen *GNPDA2* que codifica a la glucosamina 6 fosfato deaminasa 2 y su asociación con la enfermedad también ha sido reportada por otros autores como Kong, y cols.,¹²¹ y Xi et al.¹²⁰ En contraparte, algunos autores no han identificado su asociación con la enfermedad, como lo descrito para población Sueca.¹³¹ Esta variante se ha asociado con otros desenlaces como IMC,^{113, 114, 132, 133} obesidad^{114, 134-136} (inclusive en niños mexicanos⁸⁰), presión arterial diastólica,¹³⁷ resistencia a la insulina (en niños asmáticos)¹³⁸ y síndrome metabólico.^{139, 140} Por su parte, el *rs6905288* cercano al gen *VEGFA* que codifica a un factor de crecimiento endotelial, se ha asociado de forma marginal con los niveles de presión arterial diastólica en japoneses con obesidad,¹⁴¹ y con el índice cintura/cadera en europeos, siendo mayor el efecto en el sexo femenino.¹¹⁸ Esta variante también se ha relacionado a un incremento en el índice HOMA-IR, siendo mayor su asociación en mujeres, así como con disminución en el índice de Matsuda.¹⁴² Cabe señalar que la mayoría de los estudios que reportaron asociaciones de estas variantes con desenlaces metabólicos se perdían al ajustar por IMC, sin embargo, en nuestro estudio, la asociación con DM2 de inicio en la edad pediátrica permaneció a pesar de ese ajuste.

El SNP *rs903361* cercano al gen *ADORA1* que codifica al receptor A1 de adenosina, se encontró asociado a DM2 (OR 1.5 a 2.0, $p < 0.05$). Este receptor participa en la homeostasis de energía y su bloqueo disminuye la captura de glucosa en tejido adiposo, mientras que su sobre-expresión al parecer protege de resistencia

a la insulina. Esta variante se ha asociado al IMC en pacientes con diabetes en tratamiento con tiazolidinedionas.¹¹¹

En el análisis combinado de casos-controles y tríos se identificó la asociación entre el *rs7034200* del gen *GLIS3* perteneciente a la familia de dedos de cinc. En un meta-análisis de población con ancestría europea, el alelo A de este polimorfismo se asoció al riesgo de DM2.¹⁴³ Este mismo alelo se ha asociado a HOMA-IR, HOMA-B, glucosa e insulina en europeos y coreanos.^{143, 144}

La integración del análisis combinado de casos-controles y tríos también identificó la asociación del *rs2112347* del gen *POC5* con DM2. Este gen codifica una proteína centriolar y ha sido previamente asociado a obesidad,¹³⁶ IMC¹¹³ y grasa visceral en mujeres.¹⁴⁵ Por su parte, el SNP *rs10968576* del gen *LINGO2*, el cual codifica a un dominio de inmunoglobulina rico en repeticiones de leucina, se ha asociado en otros estudios con obesidad,¹³⁶ IMC¹¹³ y colesterol total.¹⁴⁵ Estas dos variantes estuvieron asociadas en el análisis TDT tanto con DM2 como con la presencia de sobrepeso y obesidad, por lo que quizá el efecto sobre DM2 esté explicado o modulado por su efecto en la grasa corporal.

Adicionalmente a las variantes incluidas en el microarreglo, se genotipificaron 4 SNPs que consideramos importante incluir. Los SNPs *rs7903146* y *rs12255372* del gen *TCF7L2*, que fueron seleccionados debido a su consistente asociación con DM2 en estudios amplio del genoma y en estudios de meta-análisis^{46, 81} y los SNPs de los genes *SLC16A11* (*rs13342232*) y *ABCA1* (*rs9282541*) que se han identificado como marcadores genéticos para DM2 casi exclusivamente en población mexicana, con una mayor fuerza de asociación en presentaciones tempranas de la enfermedad (<40 años),^{55, 62} pero con edades promedio mayor a la de los participantes de nuestro estudio.

El análisis de estas variantes, identificó una asociación entre el *rs13342232* del gen *SLC16A11* y la presencia de DM2; sin embargo, a diferencia de estudios previos, en esta ocasión se asoció con la enfermedad cuando esta se presenta a edades “ultra-tempranas”. Hasta nuestro conocimiento, no se había identificado la asociación de este gen con la presencia de DM2 en la edad pediátrica. Como se mencionó previamente, identificamos la asociación de esta variante con DM2 en el modelo aditivo tanto en individuos adultos como pediátricos. Este modelo asume que el riesgo de la enfermedad en heterocigotos es exactamente la mitad que la de los individuos homocigotos. Sin embargo, el 18% de los participantes presentaban dos copias del alelo de riesgo, e interesantemente los niños y adolescentes homocigotos para la variante tuvieron un riesgo mayor al doble del esperado por el modelo aditivo, lo cual parece no haber sido observado previamente.

La frecuencia del alelo G del *rs13342232* se reporta en 0.16 en el proyecto de los 1000 genomas;⁸² sin embargo, frecuencias mayores han sido identificadas en población con ancestría mexicana (0.28)⁸² y una frecuencia similar a lo observado en nuestro estudio (0.43) en población mestizo-mexicana (~0.48).⁵⁵ La alta

frecuencia apoya la participación de esta variante como un importante marcador de riesgo genético en nuestra población, independientemente de covariables como edad, sexo y la presencia de sobrepeso u obesidad. Otros investigadores han descrito que haplotipos con esta variante confieren un riesgo de presentación de la enfermedad aproximadamente 2 años antes ($p=3.1 \times 10^{-4}$) y con 0.9 kg/m^2 menos de IMC ($p=5.2 \times 10^{-4}$) en comparación con los no portadores.⁵⁵ Una hipótesis biológica para esta asociación puede ser el hecho de que la expresión del gen *SLC16A11* resulta en un incremento de triglicéridos intracelulares.⁵⁵ Esta acumulación intracelular de lípidos, se ha visto envuelta en el proceso de resistencia a la insulina y lipotoxicidad de la célula beta, que a su vez predispone al desarrollo de DM2.¹⁴⁶

SNPs del gen *ABCA1* han sido asociados con una disminución en los niveles de c-HDL, lo que a su vez se ha involucrado con mecanismos de resistencia a la insulina y lipotoxicidad de la célula beta.^{147, 148} Villarreal-Molina y cols., identificaron una asociación entre el rs9282541 del gen *ABCA1* con la presencia de DM2 de inicio temprano en un modelo dominante de riesgo en individuos entre 20 y 69 años (OR 2.75, $p=9.4 \times 10^{-8}$), siendo esta asociación menor en formas tardías (OR 1.82, $p=0.010$).⁶² Resultados similares fueron reportados por Lara-Riegos y cols., en población Maya (OR 2.29, $p=0.003$); sin embargo, en ese estudio no se consideró la edad de presentación en el análisis.⁸³ En contraste con estos resultados, Campbell y cols., no identificaron asociación de esta variante en adultos con ancestría nativa americana de Colombia.¹⁴⁹ La frecuencia de esta variante en nuestro estudio fue mayor a la identificada en el Proyecto de los 1000 genomas (0.12 vs. < 0.01).⁸² A pesar de la mayor frecuencia, no identificamos una asociación de esta variante con DM2 de inicio en la edad pediátrica, aunque no podemos concluir que no existe debido al bajo poder estadístico de nuestro estudio.

En relación a los SNPs del gen *TCF7L2*, observamos una menor frecuencia de las variantes analizadas en comparación a lo reportado por el proyecto de los 1000 genomas (0.13 vs. 0.28 para el rs7903146 y 0.13 vs. 0.21 para el rs12255372).⁸² Como se ha mencionado previamente, los SNPs del gen *TCF7L2* han sido consistentemente asociados con DM2 en diferentes poblaciones (rs7903146 OR=1.39, IC95% 1.34-1.45 y rs12255372 OR=1.38, IC95% 1.34-1.42)^{60, 61} Otros estudios han descrito la asociación de estas variantes en mexicanos,¹⁵⁰⁻¹⁵² aunque también se han reportado estudios en los que no se ha identificado esta asociación.^{83, 152-155} También se ha identificado esta asociación a una menor edad de presentación en población caucásica, mexicana y México-americana.^{49, 63, 156} En población pediátrica, Dabalea y cols., identificaron asociación entre el rs7903146 y DM2 en afro-americanos (OR=1.97, IC95% 1.37-2.82, $p=0.0002$), sin embargo, esto no se observó en blancos no hispanos y no se identificó asociación con el rs12255372 en ninguno de los dos grupos étnicos.⁶⁴ Al igual que en nuestro estudio, esta falta de asociación puede ser explicada por el tamaño de muestra pequeño.

En pacientes con diabetes observamos que el SNP rs12255372 del gen *TCF7L2* se asoció con menores niveles de péptido C de manera independiente a la edad, sexo y clasificación del IMC. La DM2 es una

enfermedad progresiva caracterizada por una pérdida continua de la función de la célula beta. Esta célula sintetiza la pro hormona pro-insulina, la cual es procesada por proteasas para obtener la molécula de insulina removiendo el péptido C. Este péptido es secretado en una relación equimolar a la insulina y refleja la secreción endógena de la misma.¹⁵⁷. En este sentido, los SNPs en el gen *TCF7L2* pueden modificar el procesamiento de la pro-insulina en la célula beta¹⁵⁸ y han sido asociados con un detrimento en la función de la célula beta en casos con DM2 de reciente diagnóstico.¹⁵⁹

En individuos sin diabetes, encontramos que el rs12255372 en el gen *TCF7L2* se asoció con mayores niveles de glucosa de ayuno ($\beta=2.05$, $p=0.039$) y menores de HOMA-B ($\beta=-32.14$, $p=0.025$) independientemente de la edad, sexo y la presencia de sobrepeso u obesidad. Otros investigadores han observado resultados similares en estas y otras variables relacionadas con la glucosa y la insulina tanto en adultos,^{68, 158-167} como en niños.¹⁶⁸ La explicación biológica a esta asociación podría ser la participación del gen *TCF7L2* en el eje entero-insular, expresión genética de los islotes y secreción de la insulina¹⁶⁹ y aunque los SNPs de este gen al parecer no incrementan el riesgo de obesidad, su efecto en la DM2 puede ser modificado por el IMC.¹⁷⁰

El considerar más de un grupo control (adulto, niño o hermano), así como el análisis de los tríos, permitió incrementar el poder estadístico de nuestro estudio. A pesar de que los controles pediátricos al parecer compartían factores de riesgo ambiental similares a los casos, podría ser solamente cuestión de tiempo para que éstos desarrollaran DM2 de inicio en la edad pediátrica, sesgo que se reduce cuando se consideran controles adultos. Aunque las variantes de riesgo genético para DM2 pueden ser diferentes entre las presentaciones tempranas y tardías, la inclusión de controles adultos asegura que la enfermedad no se presentó en la etapa pediátrica (verdaderos negativos), considerando además que los SNPs no se modifican con la edad.

Si bien observamos concordancia en las asociaciones de los SNPs con DM2 en los análisis de casos- controles pediátricos y casos- controles adultos, los resultados fueron discordantes en el análisis de pares de hermanos. Dada la similitud genética de los hermanos debido a que comparten los mismos padres, es posible que para identificar diferencias se requiera de un mayor tamaño de muestra, aunque también se debe considerar que quizá en un futuro los hermanos pueden desarrollar la enfermedad lo que estaría condicionando un sesgo de clasificación al considerarlos como individuos sin diabetes.

Dos de los SNPs fueron asociados a DM2 en la edad pediátrica mediante la transmisión de alelo materno (*POC5/2112346* y *RPS10/rs206936*), mientras que uno se asoció con la transmisión del alelo paterno (*GLIS3/rs7034200*), lo cual no había sido reportado con anterioridad. A pesar de que en la literatura se ha reportado una mayor transmisión de la enfermedad por rama materna, no podemos concluir que esto se deba a una mayor transmisión del alelo materno de los SNPs de susceptibilidad. Se debe de considerar además que el mayor efecto materno también puede estar asociado a una mayor participación de mujeres

en los estudios, mayores probabilidades de detección de la enfermedad en las mujeres, mayor conocimiento de los antecedentes familiares maternos en relación a los paternos o al efecto de la diabetes durante la gestación relacionada inclusive con mecanismos epigenéticos.

La caracterización del perfil genético puede llegar a ser en un futuro una herramienta que permita la detección de individuos con alto riesgo de desarrollar DM2 de inicio temprano. A pesar de que la magnitud de la asociación de los SNPs identificados en este estudio es pequeña, estas variantes pueden formar parte de un modelo de riesgo multialélico que permita dirigir medidas de prevención específicas a la población con mayor susceptibilidad. En una primera aproximación, identificamos que un GRS construido con las 10 variantes identificadas en este estudio se asocia con la presencia de DM2 con un OR de 1.29 por cada alelo de riesgo (IC95% 1.03;1.63, $p=0.25$), siendo mayor a lo reportado por otros estudios quien han reportado GRS con una asociación entre OR=1.06 y 1.07 por alelo de riesgo, incluyendo además un mayor número de alelos de riesgo.^{46, 71} La integración de este GRS a los factores de riesgo clásicos para el desarrollo de DM2, al parecer mejora la predicción de la DM2 en población pediátrica en ~10%. Sin embargo, consideramos que se requiere un mayor número de estudios que permitan delimitar mejor el perfil genético de susceptibilidad en esta población para integrar modelos con mejor predicción.

Nuestro estudio presenta varias limitaciones. Una de ellas es la de no haber incluido a todos los miembros de las familias en el estudio y solamente corroborar las medidas antropométricas, estilos de vida, parámetros bioquímicos y estudios genéticos en la padres e hijos. Adicionalmente, la evaluación de la actividad física, la condición física y los hábitos de alimentación son una medida aproximada de la contribución ambiental. Por otra parte, los métodos utilizado para medir la resistencia, sensibilidad y secreción de la insulina se realizó mediante variables subrogadas, lo que limita su interpretación. Algunas formas de diabetes tipo MODY pueden ser compatibles con DM2 en niños y a pesar de que los participantes no presentaban características clínica para considerar este tipo de diabetes,^{1, 2} una debilidad de nuestro estudio fue la falta de confirmación genética para descartar estas formas monogénicas de la enfermedad.

La mayoría de los estudios que involucran el análisis de SNPs asociados a DM2 han incluido individuos con promedio de edad alrededor de los 50 años y aunque la incidencia de la enfermedad ha incrementado en grupos más jóvenes, la prevalencia de la DM2 en población pediátrica continúa siendo baja, por lo que el reclutamiento de pacientes resultó difícil. Sin embargo, aunque consideramos que este grupo de 99 casos de pacientes pediátricos con DM2 de inicio antes de los 19 años es de particular interés, reconocemos que la principal limitación de nuestro estudio es el tamaño de muestra. A pesar de que identificamos algunas asociaciones estadísticamente significativas, el tamaño de muestra pudo contribuir a resultados falsos negativos, ya que variables de baja frecuencia o asociaciones de magnitud pequeña pudieron no ser identificadas. Por lo anterior, se requiere de estudios futuros que validen nuestros resultados y que permitan alcanzar un poder estadístico adecuado para el análisis de las variantes genéticas.

Otras limitaciones identificadas en nuestro estudio fueron la falta de determinación de la ancestría en los participantes (aunque este punto se intentó subsanar considerando tres generaciones de origen mestizo-mexicano), así como la presencia de tríos incompletos con una menor participación de los padres con respecto a las madres. Por último, al igual que la mayoría de los estudios de asociación genética, el diseño transversal del estudio limita la interpretación de los resultados obtenidos, por lo que se requiere de estudios prospectivos que confirmen estas observaciones.

CONCLUSIONES

La DM2, así como otras alteraciones cardiometabólicas en niños y adolescentes mexicanos, tienen una importante agregación familiar ya sea debida a factores genéticos (heredabilidad) y/o a factores ambientales, lo que resalta la complejidad de estos trastornos. La heredabilidad de la DM2 de inicio en la edad pediátrica se estimó en 50%, con una mayor transmisión por rama materna. Este estudio permitió además identificar 10 SNPs asociados a la presencia de DM2 de inicio en la edad pediátrica en familias de niños y adolescentes mexicanos con diferencias en la transmisión parental en algunos de ellos (*ADORA1*/rs903361, *CADM2*/rs13078807, *GNPDA2*/rs10938397, *VEGFA*/rs6905288, *FTO*/rs9939609, *LINGO*/rs10968576, *POC5*/rs2112347, *GLIS*/rs7034200, *RPS10*/rs206936 y *SLC16A11*/rs13342232). Algunos de estos SNPs no habían sido relacionados con la enfermedad y otros se habían reportado en grupos étnicos diferentes al nuestro o únicamente en presentaciones tardías. La inclusión de estos 10 SNPs en un GRS, en conjunto con factores de riesgo habituales para la enfermedad, parece mejorar la predicción de DM2 de inicio en la edad pediátrica en nuestra población. Sin embargo, se requiere de estudios longitudinales con mayor tamaño de muestra que corroboren nuestras observaciones, así como que evalúen otros marcadores genéticos que puedan ser integrados a los modelos de predicción.

PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN

Trabajos libres

1. Agregación familiar, transmisión parenteral y heredabilidad de la diabetes mellitus tipo 2 en familiares de niños y adolescentes mexicanos. Presentado en el 13 Congreso Anual de la Sociedad Mexicana de Endocrinología Pediátrica, 2012.
2. Agregación familiar y transmisión parental de la diabetes mellitus tipo 2 de inicio en la edad pediátrica. Presentado en el XVII Encuentro Nacional de Investigadores de la Secretaría de Salud, 2012.
3. Familial aggregation, parental transmission and heritability of type 2 diabetes mellitus in families of mexican children and adolescents. Presentado en la XXIII Reunión Annual de la Sociedad Lationamericana de Endocrinología Pediátrica, 2012.

4. Agregación familiar, transmisión parental y heredabilidad de la Diabetes Mellitus tipo 2 en familias de niños y adolescentes mexicanos. Presentado en el XXV Premio Nacional de Investigación 2014 de las Fundaciones GSK y Mexicana para la salud, 2014.
5. No todos los SNPs de riesgo para DM2 se asocian a la presentación temprana de la enfermedad pero sí a la función pancreática y resistencia a la insulina ¿cuestión de tiempo? Presentado en la 9ª Reunión de Investigación pediátrica, 2015.
6. No todos los SNPs de riesgo para DM2 se asocian a la presentación temprana de la enfermedad pero sí a la función pancreática y resistencia a la insulina ¿cuestión de tiempo? Presentado en el 34º Congreso Nacional de Pediatría, 2015.
7. Association of *SLC16A11*, *TCF7L2* and *ABCA1* Polymorphism with B-Cell Function, Insulin Resistance and Early Onset of Type 2 Diabetes. Presentado en XXV Annual Meeting, SLEP, 2015.
8. Asociación del puntaje de riesgo genético y factores heredofamiliares y ambientales con diabetes mellitus tipo 2 de inicio en la edad pediátrica. Presentado en XVII Asamblea Mexicana de Pediatría, 2016.
9. Análisis de desequilibrio de transmisión de polimorfismos de un solo nucleótido asociados a diabetes mellitus tipo 2 de inicio en la edad pediátrica. Presentado en la Sociedad Mexicana de Endocrinología Pediátrica, A.C., 2016.

Publicaciones

1. Miranda-Lora AL, Vilchis-Gil J, Molina-Díaz M, Flores-Huerta S, Klünder-Klünder M. Heritability, parental transmission and environment correlation of pediatric-onset type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome-related traits. *Diabetes Res Clin Pract* 2017;126:151-9. Factor de impacto 3.3.
2. Miranda-Lora AL, Cruz M, Aguirre-Hernández J, Molina-Díaz M, Gutiérrez J, Flores-Huerta S, Klünder-Klünder M. Exploring single nucleotide polymorphisms previously related to obesity and metabolic traits. *Acta Diabetol* 2017;54:653-62. Factor de impacto 3.2.
3. Miranda-Lora AL, Cruz M, Molina-Díaz M, Gutiérrez J, Flores-Huerta S, Klünder-Klünder M. Associations of common variants in the *SLC16A11*, *TCF7L2*, and *ABCA1* genes with pediatric-onset type 2 diabetes and related glycemic traits in families: A case-control and case-parent trio study. *Pediatr Diabetes* 2017, doi: 10.1111/pedi.12497. Factor de impacto 4.3.

Premios

1. Primer lugar en la presentación oral del trabajo libre en el 13 Congreso Anual de la Sociedad Mexicana de Endocrinología Pediátrica, A.C., con el trabajo titulado: "Agregación familiar, transmisión parental y heredabilidad de la Diabetes Mellitus tipo 2 en familias de niños y adolescente mexicanos, 2012.
2. 11º Distinción Nacional de Investigación Pediátrica de la Academia Mexicana de Pediatría, A.C., por el trabajo titulado: "Agregación familiar, transmisión parental y heredabilidad de la diabetes mellitus tipo 2 de inicio en la edad pediátrica en familias de niños y adolescentes mexicanos, 2014.

3. Premio “Dr. Lázaro Benavides Vázquez” de la Academia Mexicana de Pediatría, A.C. y la Asociación Mexicana de Pediatría, A.C., por el trabajo titulado: “No todos los SNPs de riesgo para DM2 se asocian a la presentación temprana de la enfermedad pero sí a la función pancreática y resistencia a la insulina ¿cuestión de tiempo?, 2015.
4. Premio “Dr. Leopoldo Vega Franco” de la Asociación Mexicana de Pediatría, A.C., por el trabajo titulado: “Asociación del puntaje de riesgo genético y factores heredofamiliares y ambientales con diabetes mellitus tipo 2 de inicio en la edad pediátrica”, 2016.
5. 1er Lugar en la sesión de Trabajos Libres en el XVII Congreso Anual de la Sociedad Mexicana de Endocrinología Pediátrica, 2016.

AGRADECIMIENTOS

- Al programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.
- A cada uno de mis maestros y tutores que colaboraron en mi formación doctoral.
- Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca recibida durante los estudios de posgrado.
- Al Dr. Miguel Klünder Klünder por todo el tiempo de trabajo y apoyo durante cada una de las fases de este proyecto.
- Al Departamento de Salud Comunitaria del Hospital Infantil de México Federico Gómez, Dr. Samuel Flores Huerta, Dra. Jenny Vilchis Gil, Reyna, Francis, Lydia y Maricela por todo el apoyo recibido durante este proyecto.
- Al Departamento de Endocrinología del Hospital Infantil de México Federico Gómez, en especial al Dr. Mario Molina Díaz por permitir el acercamiento con los pacientes pediátricos con DM2.
- A la Dirección del Investigación del Hospital Infantil de México, en especial al Dr. Onofre Muñoz Hernández por el apoyo para el desarrollo del protocolo.
- Al Dr. Miguel Cruz López y sus colaboradores de la Unidad de Investigación Médica en Bioquímica de la UMAE del Hospital de Especialidades Bernardo Sepúlveda del Centro Médico Nacional siglo XXI, quienes contribuyeron en todas las técnicas de genotipificación.

REFERENCIAS

1. American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes care* 2016;39:S13-S22.
2. Rubio-Cabezas O, Hattersley AT, Njølstad PR, et al. The diagnosis and management of monogenic diabetes in children and adolescents. *Pediatric Diabetes* 2014;15:47-64.
3. Gutiérrez JP, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, et al. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. In. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública; 2012.
4. Jiménez-Corona A, Aguilar-Salinas CA, Rojas-Martínez R, Hernández-Ávila M. Diabetes mellitus tipo 2 y frecuencia de acciones para su prevención y control. *Salud Publica Mex* 2013;55:137-43.
5. Hernandez-Avila M, Gutierrez JP, Reynoso-Noveron N. [Diabetes mellitus in Mexico. Status of the epidemic]. *Salud Publica Mex* 2013;55:S129-36.
6. Rull JA, Aguilar-Salinas CA, Rojas R, Rios-Torres JM, Gomez-Perez FJ, Olaiz G. Epidemiology of type 2 diabetes in Mexico. *Arch Med Res* 2005;36:188-96.
7. Jimenez-Corona A, Rojas R, Gomez-Perez 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:S27-35.
8. Guerrero-Romero F, Violante R, Rodriguez-Moran M. Distribution of fasting plasma glucose and prevalence of impaired fasting glucose, impaired glucose tolerance and type 2 diabetes in the Mexican paediatric population. *Paediatr Perinat Epidemiol* 2009;23:363-9.
9. Shaw J. Epidemiology of childhood type 2 diabetes and obesity. *Pediatr Diabetes* 2007;9:7-15.
10. Olaiz-Fernández G, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, et al. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública, 2006.
11. Wilmot EG, Davies MJ, Yates T, Benhalima K, Lawrence IG, Khunti K. Type 2 diabetes in younger adults: the emerging UK epidemic. *Postgrad Med J* 2010;86:711-8.
12. Song SH, Hardisty CA. Early-onset Type 2 diabetes mellitus: an increasing phenomenon of elevated cardiovascular risk. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2008;6:315-22.
13. Lerman-Garber I, Aguilar-Salinas C, Tusie-Luna T, et al. [Early-onset type 2 diabetes mellitus. The experience from a third level medical institution]. *Gac Med Mex* 2010;146:179-84.
14. McQuaid S, O'Gorman DJ, Yousif O, et al. Early-onset insulin-resistant diabetes in obese Caucasians has features of typical type 2 diabetes, but 3 decades earlier. *Diabetes Care* 2005;28:1216-8.
15. Aguilar-Salinas CA, Reyes-Rodriguez E, Ordonez-Sanchez ML, et al. Early-onset type 2 diabetes: metabolic and genetic characterization in the mexican population. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:220-6.
16. Hatunic M, Burns N, Finucane F, Mannion C, Nolan JJ. Contrasting clinical and cardiovascular risk status between early and later onset type 2 diabetes. *Diab Vasc Dis Res* 2005;2:73-5.
17. Cali AM, Man CD, Cobelli C, et al. Primary defects in beta-cell function further exacerbated by worsening of insulin resistance mark the development of impaired glucose tolerance in obese adolescents. *Diabetes Care* 2009;32:456-61.
18. Del Prato S. Role of glucotoxicity and lipotoxicity in the pathophysiology of Type 2 diabetes mellitus and emerging treatment strategies. *Diabet Med* 2009;26:1185-92.
19. Adegate E, Schattner P, Dunn E. An update on the etiology and epidemiology of diabetes mellitus. *Ann N Y Acad Sci* 2006;1084:1-29.
20. Singh R, Shaw J, Zimmet P. Epidemiology of childhood type 2 diabetes in the developing world. *Pediatr Diabetes* 2004;5:154-68.
21. Lammi N, Moltchanova E, Blomstedt PA, Tuomilehto J, Eriksson JG, Karvonen M. Childhood BMI trajectories and the risk of developing young adult-onset diabetes. *Diabetologia* 2009;52:408-14.

22. Abraham NG, Brunner EJ, Eriksson JW, Robertson RP. Metabolic syndrome: psychosocial, neuroendocrine, and classical risk factors in type 2 diabetes. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1113:18.
23. Whincup PH, Kaye SJ, Owen CG, et al. Birth weight and risk of type 2 diabetes: a systematic review. *Jama* 2008;300:2886-97.
24. Lammi N, Moltchanova E, Blomstedt P, et al. The effect of birth order and parental age on the risk of type 1 and 2 diabetes among young adults. *Diabetologia* 2007;50:2433-8.
25. Tusie Luna MT. Genes and type 2 diabetes mellitus. *Arch Med Res* 2005;36:210-22.
26. McCarthy MI, Zeggini E. Genetics of type 2 diabetes. *Curr Diab Rep* 2006;6:147-54.
27. Carulli L, Rondinella S, Lombardini S, Canedi I, Loria P, Carulli N. Review article: diabetes, genetics and ethnicity. *Aliment Pharmacol Ther* 2005;2:16-9.
28. Pratley RE. Gene-environment interactions in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus: lessons learned from the Pima Indians. *Proc Nutr Soc* 1998;57:175-81.
29. International Diabetes Federation, www.idf.org/international-diabetes-federation <<http://www.idf.org/international-diabetes-federation>>.
30. Valdez R, Greenlund KJ, Khoury MJ, Yoon PW. Is family history a useful tool for detecting children at risk for diabetes and cardiovascular diseases? A public health perspective. *Pediatrics* 2007;120:S78-86.
31. Miranda-Lora AL. Factores genéticos y ambientales asociados con la diabetes mellitus tipo 2 en familias de niños y adolescentes mexicanos. Tesis para obtener el grado de Maestría en Ciencias Médicas, UNAM 2012. 2012.
32. Onyemere KU, Lipton RB. Parental history and early-onset type 2 diabetes in African Americans and Latinos in Chicago. *J Pediatr* 2002;141:825-9.
33. Molyneaux L, Constantino M, Yue D. Strong family history predicts a younger age of onset for subjects diagnosed with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab* 2004;6:187-94.
34. Woo JG, Morrison JA, Stroop DM, Aronson Friedman L, Martin LJ. Genetic architecture of lipid traits changes over time and differs by race: Princeton Lipid Follow-up Study. *J Lipid Res* 2014;55:1515-24.
35. Ali O. Genetics of type 2 diabetes. *World J Diabetes* 2013;4:114-23.
36. Langenberg C, Sharp SJ, Franks PW, et al. Gene-lifestyle interaction and type 2 diabetes: the EPIC interact case-cohort study. *PLoS Med* 2014;11:e1001647.
37. Rasche A, Al-Hasani H, Herwig R. Meta-analysis approach identifies candidate genes and associated molecular networks for type-2 diabetes mellitus. *BMC Genomics* 2008;9:1471-2164.
38. Hansen L, Pedersen O. Genetics of type 2 diabetes mellitus: status and perspectives. *Diabetes Obes Metab* 2005;7:122-35.
39. Zeggini E. A new era for Type 2 diabetes genetics. *Diabet Med* 2007;24:1181-6.
40. Perry JR, Frayling TM. New gene variants alter type 2 diabetes risk predominantly through reduced beta-cell function. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2008;11:371-7.
41. Trajkovski M, Mziaut H, Schwarz PE, Solimena M. Genes of type 2 diabetes in beta cells. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2006;35:357-69.
42. Frayling TM. Genome-wide association studies provide new insights into type 2 diabetes aetiology. *Nat Rev Genet* 2007;8:657-62.
43. Brunetti A, Chiefari E, Foti D. Recent advances in the molecular genetics of type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes* 2014;5:128-40.
44. Doria A, Patti ME, Kahn CR. The emerging genetic architecture of type 2 diabetes. *Cell Metab* 2008;8:186-200.
45. Prasad RB, Groop L. Genetics of type 2 diabetes-pitfalls and possibilities. *Genes (Basel)* 2015;6:87-123.
46. Saxena R, Elbers CC, Guo Y, et al. Large-scale gene-centric meta-analysis across 39 studies identifies type 2 diabetes loci. *Am J Hum Genet* 2012;90:410-25.

47. Hayes MG, Pluzhnikov A, Miyake K, et al. Identification of type 2 diabetes genes in Mexican Americans through genome-wide association studies. *Diabetes* 2007;56:3033-44.
48. Duggirala R, Blangero J, Almasy L, et al. Linkage of type 2 diabetes mellitus and of age at onset to a genetic location on chromosome 10q in Mexican Americans. *Am J Hum Genet* 1999;64:1127-40.
49. Lehman DM, Hunt KJ, Leach RJ, et al. Haplotypes of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene and its upstream region are associated with type 2 diabetes and age of onset in Mexican Americans. *Diabetes* 2007;56:389-93.
50. Lehman DM, Richardson DK, Jenkinson CP, et al. P2 promoter variants of the hepatocyte nuclear factor 4alpha gene are associated with type 2 diabetes in Mexican Americans. *Diabetes* 2007;56:513-7.
51. Celi FS, Negri C, Tanner K, et al. Molecular scanning for mutations in the insulin receptor substrate-1 (IRS-1) gene in Mexican Americans with Type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab Res Rev* 2000;16:370-7.
52. Hunt KJ, Lehman DM, Arya R, et al. Genome-wide linkage analyses of type 2 diabetes in Mexican Americans: the San Antonio Family Diabetes/Gallbladder Study. *Diabetes* 2005;54:2655-62.
53. Parra EJ, Below JE, Krithika S, et al. Genome-wide association study of type 2 diabetes in a sample from Mexico City and a meta-analysis of a Mexican-American sample from Starr County, Texas. *Diabetologia* 2011;54:2038-46.
54. Sanchez-Corona J, Flores-Martinez SE, Machorro-Lazo MV, et al. Polymorphisms in candidate genes for type 2 diabetes mellitus in a Mexican population with metabolic syndrome findings. *Diabetes Res Clin Pract* 2004;63:47-55.
55. Williams AL, Jacobs SB, Moreno-Macias H, et al. Sequence variants in SLC16A11 are a common risk factor for type 2 diabetes in Mexico. *Nature* 2014;506:97-101.
56. Hernandez-Escalante VM, Nava-Gonzalez EJ, Voruganti VS, et al. Replication of obesity and diabetes-related SNP associations in individuals from Yucatan, Mexico. *Front Genet* 2014;5:380.
57. Zamora-Ginez I, Garcia-Zapien AG, Flores-Martinez SE, et al. Low prevalence of interleukin-6 haplotypes associated with a decreased risk of type 2 diabetes in Mexican subjects with a family history of type 2 diabetes. *Arch Med Res* 2013;44:529-34.
58. Gutierrez-Vidal R, Rodriguez-Trejo A, Canizales-Quinteros S, et al. LOC387761 polymorphism is associated with type 2 diabetes in the Mexican population. *Genet Test Mol Biomarkers* 2011;15:79-83.
59. del Bosque-Plata L, Aguilar-Salinas CA, Tusie-Luna MT, et al. Association of the calpain-10 gene with type 2 diabetes mellitus in a Mexican population. *Mol Genet Metab* 2004;81:122-6.
60. Peng S, Zhu Y, Lu B, Xu F, Li X, Lai M. TCF7L2 gene polymorphisms and type 2 diabetes risk: a comprehensive and updated meta-analysis involving 121,174 subjects. *Mutagenesis* 2013;28:25-37.
61. Wang J, Zhang J, Li L, et al. Association of rs12255372 in the TCF7L2 gene with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis. *Braz J Med Biol Res* 2013;46:382-93.
62. Villarreal-Molina MT, Flores-Dorantes MT, Arellano-Campos O, et al. Association of the ATP-binding cassette transporter A1 R230C variant with early-onset type 2 diabetes in a Mexican population. *Diabetes* 2007;57:509-13.
63. Gamboa-Melendez MA, Huerta-Chagoya A, Moreno-Macias H, et al. Contribution of common genetic variation to the risk of type 2 diabetes in the Mexican Mestizo population. *Diabetes* 2012;61:3314-21.
64. Dabelea D, Dolan LM, D'Agostino R, Jr., et al. Association testing of TCF7L2 polymorphisms with type 2 diabetes in multi-ethnic youth. *Diabetologia* 2011;54:535-9.
65. Gill-Carey O, Hattersley AT. Genetics and type 2 diabetes in youth. *Pediatr Diabetes* 2007;9:42-7.
66. del Bosque-Plata L, Garcia-Garcia E, Ramirez-Jimenez S, et al. Analysis of the glucokinase gene in Mexican families displaying early-onset non-insulin-dependent diabetes mellitus including MODY families. *Am J Med Genet* 1997;72:387-93.

67. Dominguez-Lopez A, Miliar-Garcia A, Segura-Kato YX, et al. Mutations in MODY genes are not common cause of early-onset type 2 diabetes in Mexican families. *Jop* 2005;6:238-45.
68. Dimas AS, Lagou V, Barker A, et al. Impact of type 2 diabetes susceptibility variants on quantitative glycemic traits reveals mechanistic heterogeneity. *Diabetes* 2014;63:2158-71.
69. Hindorff L, MacArthur J, Morales J, et al. A Catalog of Published Genome-Wide Association Studies. Available at: www.genome.gov/gwastudies. Accessed [July 20th, 2016]. *Nucleic Acids Res* 2014;42:D1001–D6.
70. Morgan AR. Determining genetic risk factors for pediatric type 2 diabetes. *Current diabetes reports* 2012;12:88-92.
71. Andersson EA, Allin KH, Sandholt CH, et al. Genetic risk score of 46 type 2 diabetes risk variants associates with changes in plasma glucose and estimates of pancreatic beta-cell function over 5 years of follow-up. *Diabetes* 2013;62:3610-7.
72. Martinez-Marignac VL, Valladares A, Cameron E, et al. Admixture in Mexico City: implications for admixture mapping of type 2 diabetes genetic risk factors. *Hum Genet* 2006;120:807-19.
73. Galanter JM, Fernandez-Lopez JC, Gignoux CR, et al. Development of a panel of genome-wide ancestry informative markers to study admixture throughout the Americas. *PLoS Genet* 2012;8:e1002554.
74. Keskin M, Kurtoglu S, Kendirci M, Atabek ME, Yazici C. Homeostasis model assessment is more reliable than the fasting glucose/insulin ratio and quantitative insulin sensitivity check index for assessing insulin resistance among obese children and adolescents. *Pediatrics* 2005;115:e500-3.
75. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28:412-9.
76. Katz A, Nambi SS, Mather K, et al. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:2402-10.
77. Klünder-Klünder M, Flores-Huerta S. Waist circumference values according to height percentiles: A proposal to evaluate abdominal obesity in Mexican children and adolescents between 6 and 16 years of age. *Arch Med Res* 2011;42:515-22.
78. Hills AP, Mokhtar N, Byrne NM. Assessment of physical activity and energy expenditure: an overview of objective measures. *Front Nutr* 2014;16:1-15.
79. Trevino RP, Yin Z, Hernandez A, Hale DE, Garcia OA, Mobley C. Impact of the Bienestar school-based diabetes mellitus prevention program on fasting capillary glucose levels: a randomized controlled trial. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2004;158:911-7.
80. Mejia-Benitez A, Klunder-Klunder M, Yengo L, et al. Analysis of the contribution of FTO, NPC1, ENPP1, NEGR1, GNPDA2 and MC4R genes to obesity in Mexican children. *BMC Medical Genetics* 2013;14:21.
81. Saxena R, Voight BF, Lyssenko V, et al. Genome-Wide association analysis identifies Loci for type 2 diabetes and triglyceride levels. *Science* 2007;316:1331-6.
82. Abecasis GR, Auton A, Brooks LD, et al. An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. *Nature* 2012;491:56-65.
83. Lara-Riegos JC, Ortiz-Lopez MG, Pena-Espinoza BI, et al. Diabetes susceptibility in Mayas: Evidence for the involvement of polymorphisms in HHEX, HNF4alpha, KCNJ11, PPARgamma, CDKN2A/2B, SLC30A8, CDC123/CAMK1D, TCF7L2, ABCA1 and SLC16A11 genes. *Gene* 2015;565:68-75.
84. Elston RC, Gray-McGuire C. A review of the 'Statistical Analysis for Genetic Epidemiology' (S.A.G.E.) software package. *Hum Genomics* 2004;1:456-9.
85. Kazeem GR, Farrall M. Integrating case-control and TDT studies. *Ann Hum Genet* 2005;69:329-35.
86. Zarkesh M, Daneshpour MS, Faam B, et al. Heritability of the metabolic syndrome and its components in the Tehran Lipid and Glucose Study (TLGS). *Genet Res (Camb)* 2012;94:331-7.

87. Almgren P, Lehtovirta M, Isomaa B, et al. Heritability and familiarity of type 2 diabetes and related quantitative traits in the Botnia Study. *Diabetologia* 2011;54:2811-9.
88. Ouyang F, Wang W, Shen F, Wang L, Wang Z. [Genetic epidemiological study on non-insulin dependent diabetes mellitus]. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi* 2000;34:81-2.
89. Fowler SP, Puppala S, Arya R, et al. Genetic epidemiology of cardiometabolic risk factors and their clustering patterns in Mexican American children and adolescents: the SAFARI Study. *Hum Genet* 2013;132:109-71.
90. Chien KL, Hsu HC, Chen WJ, Chen MF, Su TC, Lee YT. Familial aggregation of metabolic syndrome among the Chinese: report from the Chin-Shan community family study. *Diabetes Res Clin Pract* 2007;76:418-24.
91. Butte NF, Cai G, Cole SA, Comuzzie AG. Viva la Familia Study: genetic and environmental contributions to childhood obesity and its comorbidities in the Hispanic population. *Am J Clin Nutr* 2006;84:646-54.
92. Lin CC, Peyser PA, Kardia SL, et al. Heritability of cardiovascular risk factors in a Chinese population--Taichung Community Health Study and Family Cohort. *Atherosclerosis* 2014;235:488-95.
93. Mitchell BD, Kammerer CM, Blangero J, et al. Genetic and environmental contributions to cardiovascular risk factors in Mexican Americans. The San Antonio Family Heart Study. *Circulation* 1996;94:2159-70.
94. Luo BF, Du L, Li JX, et al. Heritability of metabolic syndrome traits among healthy younger adults: a population based study in China. *J Med Genet* 2010;47:415-20.
95. Florez JC, Jablonski KA, Bayley N, et al. TCF7L2 polymorphisms and progression to diabetes in the Diabetes Prevention Program. *N Engl J Med* 2006;355:241-50.
96. Bayoumi RA, Al-Yahyaee SA, Albarwani SA, et al. Heritability of determinants of the metabolic syndrome among healthy Arabs of the Oman family study. *Obesity* 2007;15:551-6.
97. Beardsall K, Ong KK, Murphy N, et al. Heritability of childhood weight gain from birth and risk markers for adult metabolic disease in prepubertal twins. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:3708-13.
98. Pilia G, Chen WM, Scuteri A, et al. Heritability of cardiovascular and personality traits in 6,148 Sardinians. *PLoS Genet* 2006;2:e132.
99. Bellia A, Giardina E, Lauro D, et al. "The Linosa Study": epidemiological and heritability data of the metabolic syndrome in a Caucasian genetic isolate. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2009;19:455-61.
100. Perusse L, Rice T, Despres JP, et al. Familial resemblance of plasma lipids, lipoproteins and postheparin lipoprotein and hepatic lipases in the HERITAGE Family Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:3263-9.
101. Lee KE, Klein BE, Klein R. Familial aggregation of components of the multiple metabolic syndrome in the Framingham Heart and Offspring Cohorts: Genetic Analysis Workshop Problem 1. *BMC Genet* 2003;31.
102. Fujisawa T, Ikegami H, Kawaguchi Y, et al. Common genetic basis between type 1 and type 2 diabetes mellitus indicated by interview-based assessment of family history. *Diabetes Res Clin Pract* 2004;66:S91-5.
103. Kim DJ, Cho NH, Noh JH, Lee MS, Lee MK, Kim KW. Lack of excess maternal transmission of type 2 diabetes in a Korean population. *Diabetes Res Clin Pract* 2004;65:117-24.
104. Weijnen CF, Rich SS, Meigs JB, Krolewski AS, Warram JH. Risk of diabetes in siblings of index cases with Type 2 diabetes: implications for genetic studies. *Diabet Med* 2002;19:41-50.
105. Malhotra A, Wolford JK. Analysis of quantitative lipid traits in the genetics of NIDDM (GENNID) study. *Diabetes* 2005;54:3007-14.
106. Henkin L, Bergman RN, Bowden DW, et al. Genetic epidemiology of insulin resistance and visceral adiposity. The IRAS Family Study design and methods. *Ann Epidemiol* 2003;13:211-7.

107. Goodarzi MO, Taylor KD, Guo X, et al. Variation in the gene for muscle-specific AMP deaminase is associated with insulin clearance, a highly heritable trait. *Diabetes* 2005;54:1222-7.
108. Robinson RF, Batsky DL, Hayes JR, Nahata MC, Mahan JD. Significance of heritability in primary and secondary pediatric hypertension. *Am J Hypertens* 2005;18:917-21.
109. Zarkesh M, Daneshpour MS, Faam B, et al. Heritability of the metabolic syndrome and its components in the Tehran Lipid and Glucose Study (TLGS). *Genet Res* 2012;94:331-7.
110. Pereira TJ, Moyce BL, Kereliuk SM, Dolinsky VW. Influence of maternal overnutrition and gestational diabetes on the programming of metabolic health outcomes in the offspring: experimental evidence. *Biochem Cell Biol*;19:1-14.
111. Ruano G, Bernene J, Windemuth A, et al. Physiogenomic comparison of edema and BMI in patients receiving rosiglitazone or pioglitazone. *Clin Chim Acta* 2009;400:48-55.
112. Paternoster L, Evans DM, Nohr EA, et al. Genome-wide population-based association study of extremely overweight young adults--the GOYA study. *PLoS ONE* 2011;6:e24303.
113. Speliotes EK, Willer CJ, Berndt SI, et al. Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index. *Nat Genet* 2010;42:937-48.
114. Willer CJ, Speliotes EK, Loos RJ, et al. Six new loci associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation. *Nat Genet* 2009;41:25-34.
115. Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science* 2007;316:889-94.
116. Cho YS, Go MJ, Kim YJ, et al. A large-scale genome-wide association study of Asian populations uncovers genetic factors influencing eight quantitative traits. *Nat Genet* 2009;2009 May;41(5):527-34. doi:527-34.
117. Berndt SI, Gustafsson S, Magi R, et al. Genome-wide meta-analysis identifies 11 new loci for anthropometric traits and provides insights into genetic architecture. *Nat Genet* 2013;45:501-12.
118. Heid IM, Jackson AU, Randall JC, et al. Meta-analysis identifies 13 new loci associated with waist-hip ratio and reveals sexual dimorphism in the genetic basis of fat distribution. *Nat Genet* 2010;42:949-60.
119. Davies RW, Wells GA, Stewart AF, et al. A genome-wide association study for coronary artery disease identifies a novel susceptibility locus in the major histocompatibility complex. *Circ Cardiovasc Genet* 2012;5:217-25.
120. Xi B, Takeuchi F, Meirhaeghe A, et al. Associations of genetic variants in/near body mass index-associated genes with type 2 diabetes: a systematic meta-analysis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2014;81:702-10.
121. Kong X, Zhang X, Zhao Q, et al. Obesity-related genomic loci are associated with type 2 diabetes in a Han Chinese population. *PloS one* 2014;9:e104486.
122. Hertel JK, Johansson S, Sonestedt E, et al. FTO, type 2 diabetes, and weight gain throughout adult life: a meta-analysis of 41,504 subjects from the Scandinavian HUNT, MDC, and MPP studies. *Diabetes* 2011;60:1637-44.
123. Manning AK, Hivert MF, Scott RA, et al. A genome-wide approach accounting for body mass index identifies genetic variants influencing fasting glycemic traits and insulin resistance. *Nat Genet* 2012;44:659-69.
124. Perry JR, Voight BF, Yengo L, et al. Stratifying type 2 diabetes cases by BMI identifies genetic risk variants in LAMA1 and enrichment for risk variants in lean compared to obese cases. *PLoS Genet* 2012;8:e1002741.
125. Li S, Zhao JH, Luan J, et al. Genetic predisposition to obesity leads to increased risk of type 2 diabetes. *Diabetologia* 2011;54:776-82.
126. Nead KT, Li A, Wehner MR, et al. Contribution of common non-synonymous variants in PCSK1 to body mass index variation and risk of obesity: a systematic review and meta-analysis with evidence from up to 331 175 individuals. *Hum Mol Genet* 2015;24:3582-94.

127. Villalobos-Comparan M, Teresa Flores-Dorantes M, Teresa Villarreal-Molina M, et al. The FTO gene is associated with adulthood obesity in the Mexican population. *Obesity (Silver Spring)*;2008 Oct;16(10):2296-301. doi:10.1038/oby.2008.367.
128. Samaan Z, Anand SS, Zhang X, et al. The protective effect of the obesity-associated rs9939609 A variant in fat mass- and obesity-associated gene on depression. *Mol Psychiatry*;2013 Dec;18(12):1281-6. doi:10.1038/mp.2012.160.
129. Vasan SK, Karpe F, Gu HF, et al. FTO genetic variants and risk of obesity and type 2 diabetes: a meta-analysis of 28,394 Indians. *Obesity (Silver Spring)*;2014 Mar;22(3):964-70. doi:10.1002/oby.20606.
130. Liu Y, Liu Z, Song Y, et al. Meta-analysis added power to identify variants in FTO associated with type 2 diabetes and obesity in the Asian population. *Obesity (Silver Spring)*;2010 Aug;18(8):1619-24. doi:10.1038/oby.2009.469.
131. Renstrom F, Payne F, Nordstrom A, et al. Replication and extension of genome-wide association study results for obesity in 4923 adults from northern Sweden. *Hum Mol Genet*;2009 Apr 15;18(8):1489-96. doi:10.1093/hmg/ddp041.
132. Wu L, Xi B, Zhang M, et al. Associations of six single nucleotide polymorphisms in obesity-related genes with BMI and risk of obesity in Chinese children. *Diabetes* 2010;59:3085-9.
133. Melen E, Himes BE, Brehm JM, et al. Analyses of shared genetic factors between asthma and obesity in children. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126:631-7.
134. Cotsapas C, Speliotes EK, Hatoum IJ, et al. Common body mass index-associated variants confer risk of extreme obesity. *Hum Mol Genet* 2009;18:3502-7.
135. Cheung CY, Tso AW, Cheung BM, et al. Obesity susceptibility genetic variants identified from recent genome-wide association studies: implications in a chinese population. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:1395-403.
136. Domingue BW, Belsky DW, Harris KM, Smolen A, McQueen MB, Boardman JD. Polygenic risk predicts obesity in both white and black young adults. *PloS one* 2014;9:e101596.
137. Xi B, Zhao X, Shen Y, et al. An obesity genetic risk score predicts risk of insulin resistance among Chinese children. *Endocrine* 2014;47:825-32. doi:10.1007/s12020-014-0217-y.
138. Xi B, Zhao X, Shen Y, et al. Associations of obesity susceptibility loci with hypertension in Chinese children. *Int J Obes* 2013;3:926-30. doi:10.1038/ijo.2013.37.
139. Zhao X, Xi B, Shen Y, et al. An obesity genetic risk score is associated with metabolic syndrome in Chinese children. *Gene* 2014;535:299-302.
140. Cheung CY, Tso AW, Cheung BM, et al. Obesity susceptibility genetic variants identified from recent genome-wide association studies: implications in a chinese population. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:1395-403.
141. Hotta K, Kitamoto A, Kitamoto T, et al. Replication study of 15 recently published Loci for body fat distribution in the Japanese population. *J Atheroscler Thromb* 2013;20:336-50.
142. Burgdorf KS, Gjesing AP, Grarup N, et al. Association studies of novel obesity-related gene variants with quantitative metabolic phenotypes in a population-based sample of 6,039 Danish individuals. *Diabetologia* 2012;55:105-13.
143. Dupuis J, Langenberg C, Prokopenko I, et al. New genetic loci implicated in fasting glucose homeostasis and their impact on type 2 diabetes risk. *Nat Genet* 2010;42:105-16.
144. Hong KW, Chung M, Cho SB. Meta-analysis of genome-wide association study of homeostasis model assessment beta cell function and insulin resistance in an East Asian population and the European results. *Mol Genet Genomics* 2014;289:1247-55.
145. Kitamoto A, Kitamoto T, Mizusawa S, et al. NUDT3 rs206936 is associated with body mass index in obese Japanese women. *Endocr J* 2013;60:991-1000.

146. Savage DB, Semple RK. Recent insights into fatty liver, metabolic dyslipidaemia and their links to insulin resistance. *Curr Opin Lipidol* 2010;21:329-36.
147. Brunham LR, Kruit JK, Verchere CB, Hayden MR. Cholesterol in islet dysfunction and type 2 diabetes. *J Clin Invest* 2008;118:403-8.
148. Sturek JM, Castle JD, Trace AP, et al. An intracellular role for ABCG1-mediated cholesterol transport in the regulated secretory pathway of mouse pancreatic B cells. *J Clin Invest* 2010;120:2575-89.
149. Campbell DD, Parra MV, Duque C, et al. Amerind ancestry, socioeconomic status and the genetics of type 2 diabetes in a Colombian population. *PLoS One* 2012;7:e33570.
150. Cruz M, Valladares-Salgado A, Garcia-Mena J, et al. Candidate gene association study conditioning on individual ancestry in patients with type 2 diabetes and metabolic syndrome from Mexico City. *Diabetes Metab Res Rev* 2010;26:261-70.
151. Martinez-Gomez LE, Cruz M, Martinez-Nava GA, et al. A replication study of the IRS1, CAPN10, TCF7L2, and PPARG gene polymorphisms associated with type 2 diabetes in two different populations of Mexico. *Ann Hum Genet* 2011;75:612-20.
152. Parra EJ, Cameron E, Simmonds L, et al. Association of TCF7L2 polymorphisms with type 2 diabetes in Mexico City. *Clin Genet* 2007;71:359-66.
153. Kahveci C, Koldemir M, Cagatay P, et al. Relationship of transcription factor 7 like 2 gene rs7903146 variation with type 2 diabetes and obesity related parameters. *Diabetes Metab Syndr* 2012;6:48-53.
154. Saadi H, Nagelkerke N, Carruthers SG, et al. Association of TCF7L2 polymorphism with diabetes mellitus, metabolic syndrome, and markers of beta cell function and insulin resistance in a population-based sample of Emirati subjects. *Diabetes Res Clin Pract* 2008;80:392-8.
155. Park SE, Lee WY, Oh KW, et al. Impact of common type 2 diabetes risk gene variants on future type 2 diabetes in the non-diabetic population in Korea. *J Hum Genet* 2012;57:265-8.
156. Silbernagel G, Renner W, Grammer TB, et al. Association of TCF7L2 SNPs with age at onset of type 2 diabetes and proinsulin/insulin ratio but not with glucagon-like peptide 1. *Diabetes Metab Res Rev* 2011;27:499-505.
157. Saisho Y. Postprandial C-peptide to glucose ratio as a marker of B cell function: Implication for the management of type 2 diabetes. *Int J Mol Sci* 2016;17:744.
158. Loos RJ, Franks PW, Francis RW, et al. TCF7L2 polymorphisms modulate proinsulin levels and beta-cell function in a British European population. *Diabetes* 2007;56:1943-7.
159. Bonetti S, Trombetta M, Malerba G, et al. Variants and haplotypes of TCF7L2 are associated with beta-cell function in patients with newly diagnosed type 2 diabetes: the Verona Newly Diagnosed Type 2 Diabetes Study (VNDS) 1. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:E389-93.
160. Delgado-Lista J, Perez-Martinez P, Garcia-Rios A, et al. Pleiotropic effects of TCF7L2 gene variants and its modulation in the metabolic syndrome: from the LIPGENE study. *Atherosclerosis* 2011;214:110-6.
161. Marzi C, Huth C, Kolz M, et al. Variants of the transcription factor 7-like 2 gene (TCF7L2) are strongly associated with type 2 diabetes but not with the metabolic syndrome in the MONICA/KORA surveys. *Horm Metab Res* 2007;39:46-52.
162. Wegner L, Hussain MS, Pilgaard K, et al. Impact of TCF7L2 rs7903146 on insulin secretion and action in young and elderly Danish twins. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:4013-9.
163. Palmer ND, Lehtinen AB, Langefeld CD, et al. Association of TCF7L2 gene polymorphisms with reduced acute insulin response in Hispanic Americans. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:304-9.
164. Chauhan G, Spurgeon CJ, Tabassum R, et al. Impact of common variants of PPARG, KCNJ11, TCF7L2, SLC30A8, HHEX, CDKN2A, IGF2BP2, and CDKAL1 on the risk of type 2 diabetes in 5,164 Indians. *Diabetes* 2010;59:2068-74.
165. Stolerman ES, Manning AK, McAteer JB, et al. TCF7L2 variants are associated with increased proinsulin/insulin ratios but not obesity traits in the Framingham Heart Study. *Diabetologia* 2009;52:614-20.

166. Gambino R, Bo S, Gentile L, et al. Transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) polymorphism and hyperglycemia in an adult Italian population-based cohort. *Diabetes Care* 2010;33:1233-5.
167. Chandak GR, Janipalli CS, Bhaskar S, et al. Common variants in the TCF7L2 gene are strongly associated with type 2 diabetes mellitus in the Indian population. *Diabetologia* 2007;50:63-7.
168. Roth CL, Hinney A, Reinehr T, et al. TCF7L2 polymorphism rs7903146 and predisposition for type 2 diabetes mellitus in obese children. *Horm Metab Res* 2008;40:713-7.
169. Lyssenko V, Lupi R, Marchetti P, et al. Mechanisms by which common variants in the TCF7L2 gene increase risk of type 2 diabetes. *J Clin Invest* 2007;117:2155-63.
170. Cauchi S, Choquet H, Gutierrez-Aguilar R, et al. Effects of TCF7L2 polymorphisms on obesity in European populations. *Obesity (Silver Spring)* 2008;16:476-82.

ANEXOS

1. Tabla de variables
2. Carta de consentimiento informado.
3. Carta de asentimiento.
4. Carta de autorización para la realización de estudios genéticos.
5. Formato de recolección de información. Identificación y antecedentes.
6. Formato de recolección de información. Exploración física y prueba de Harvard.
7. Cuestionario sobre frecuencia de consumo de alimentos.
8. Cuestionario de actividad física
9. SNPs genotipificados
10. Constancias de presentación de trabajos libres
11. Publicaciones
12. Constancias de premios

ANEXO 1. Definición de variables

VARIABLE	TIPO DE VARIABLE	UNIDAD DE MEDICIÓN	DEFINICIÓN OPERATIVA
PERFIL CLÍNICO			
Edad	Cuantitativa, continua	Años	Se obtuvo de la diferencia de tiempo entre la fecha de nacimiento y la fecha en que se realizó el estudio.
Sexo	Nominal, dicotómica	Femenino masculino	Características fenotípicas que clasifican a las personas en hombres o mujeres.
Peso	Cuantitativa, continua	Kilogramos	Medición por un solo observador en báscula calibrada, con el paciente en ayuno, con ropa ligera y sin zapatos y se aproximó a la décima de kg más próxima.
Talla	Cuantitativa, continua	Metros	Medición en estadiómetro por un solo observador, sin zapatos. Se coloca la cabeza del paciente en el plano de Frankfurt y se realiza una tracción de la cabeza a nivel de las apófisis mastoides. Se desciende lentamente la plataforma horizontal del estadiómetro hasta contactar con la cabeza del paciente. Se obtuvo la talla máxima y se ajustó al milímetro más próximo.
Índice de masa corporal	Cuantitativa, continua	Kg/m ²	Relación del peso en kilogramos entre el cuadrado de la talla en metros, que mide de forma indirecta el grado de adiposidad.
Circunferencia de cintura	Cuantitativa, continua	Centímetros	Medición con cinta métrica flexible a la miPAD de la distancia de la última costilla y la cresta iliaca en espiración, realizada por un solo observador.
Presión arterial	Cuantitativa, continua	mm/Hg	Posterior a 5 min de encontrarse el paciente en sedestación con un brazalete que cubre 2/3 la longitud del brazo y utilizando baumanómetro de mercurio, se determinará las cifras de presión arterial en tres ocasiones, y el promedio de las dos últimas será considerada como la cifra de presión arterial final.
PERFIL BIOQUÍMICO			
Glucosa de ayuno	Cuantitativa, continua	mg/dL	Medición de glucosa plasmática con 12 horas de ayuno mediante el método de glucosa oxidasa.
Glucosa 120 min	Cuantitativa, continua	mg/dL	Determinación de glucosa 120 min posteriores a una carga de glucosa anhidra de 1.75 g por kg de peso (máximo 75 g) mediante el método de glucosa oxidasa.
Insulina basal	Cuantitativa, continua	mUI/mL	Niveles de insulina posterior a 12 horas de ayuno determinados por quimioluminiscencia.
Insulina 2 horas	Cuantitativa, continua	mUI/mL	Niveles de insulina 120 min posteriores a una carga de glucosa anhidra de 1.75 g por kg de peso (máximo 75 g) determinados mediante quimioluminiscencia.
HbA1c	Cuantitativa, continua	%	Determinación del porcentaje de la fracción de hemoglobina glucosilada en sangre mediante inmunoensayo.
HOMA-IR	Cuantitativa, continua	índice matemático	Índice de resistencia a insulina, calculado mediante la siguiente fórmula: <i>Insulina en ayuno x glucosa en ayuno /405.</i> La insulina expresada en μ UI/mL y la glucosa en mg/dL.
Péptido C	Cuantitativa, continua	ng/dL	Niveles de péptido C como indicador indirecto de reserva pancreática, determinados por el método de quimioluminiscencia posteriores a 12 horas de ayuno.
Colesterol total	Cuantitativa, continua	mg/dL	Niveles de colesterol total plasmático posterior a 12 horas de ayuno determinados mediante método enzimático.
Colesterol HDL	Cuantitativa, continua	mg/dL	Niveles de colesterol HDL plasmático posterior a 12 horas de ayuno determinado mediante método enzimático.
Colesterol LDL	Cuantitativa, continua	mg/dL	Niveles de colesterol LDL plasmático posterior a 12 horas de ayuno determinados mediante método enzimático (no mediante fórmula).

Triglicéridos	Cuantitativa, continua	mg/dL	Niveles de triglicéridos plasmáticos posterior a 12 horas de ayuno determinados mediante método enzimático.
ANTECEDENTES PERINATALES			
Edad materna al nacimiento	Cuantitativa, continua	Años	Edad cronológica de la madre al momento del nacimiento de cada uno de los integrantes de la tercera generación de las familias.
Número de hijo	Cuantitativa, discreta	valor absoluto	Orden del nacimiento del caso índice, niño control o sus hermanos.
Exposición a diabetes intrauterina	Dicotómica	sí no	Antecedente obtenido mediante interrogatorio de acuerdo a la presencia de diabetes materna previo o durante la gestación.
Peso al nacimiento	Cuantitativa, continua	G	Antecedente obtenido en la hoja de alumbramiento, certificado de nacimiento o nota de egreso hospitalario sobre el peso al nacimiento.
Alimentación al seno materno	Dicotómica	sí no	Antecedente obtenido mediante interrogatorio directo a la madre sobre la alimentación al seno materno en los integrantes de la tercera generación de las familias.
Duración de alimentación al seno materno	Cuantitativa, continua	Meses	Antecedente mediante interrogatorio directo a la madre sobre el tiempo en el que los integrantes de la tercera generación de las familias recibieron alimentación al seno materno.
Seno materno exclusivo	Cuantitativa, continua	Meses	Antecedente obtenido mediante el interrogatorio directo a la madre sobre el tiempo durante el cual los integrantes de la tercera generación de las familias recibieron alimentación exclusiva al seno materno.
Edad de ablactación	Cuantitativa, continua	Meses	Antecedente obtenido mediante el interrogatorio directo a la madre sobre la edad en la cual se introdujeron alimentos distintos a la leche materna en los integrantes de la tercera generación.
HÁBITOS DE ALIMENTACIÓN			
Macro y micronutrientos	Cuantitativa continua	g / mg / caloría / día	A partir del cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos realizado de forma directa a cada uno de los integrantes de las familias se obtendrá el número de porciones consumidas al mes y el tamaño de las mismas, a partir de lo cual se estimará el promedio de ingesta de macro y micronutrientos por día mediante el programa The Food Processor ®
CONDICIÓN FÍSICA			
Prueba de Harvard	Cuantitativa continua	índice matemático	También conocida como prueba del escalón, consiste en registrar los latidos del corazón posterior a subir y bajar con ambos pies un escalón de 30 cm de alto, 42 cm de ancho y 38 cm de profundidad durante 5 min a un ritmo de 30 veces por minuto. El registro de la frecuencia cardiaca se realiza después de haber terminado los 5 min o de que el paciente suspendiera la prueba de forma prematura por fatiga, realizándose la medición de la frecuencia cardiaca a los 0, 1 y 2 min post ejercicio. Posteriormente se calcula el índice de recuperación dividiendo el tiempo total en minutos multiplicado por 100 entre la suma de las 3 determinaciones de frecuencia cardiaca. Estudios previos han indicado que el índice de recuperación se considera pobre si es menor a 55, bajo de 55 a 64, alto de 65 a 79, bueno de 80 a 89 y excelente de más de 90. ⁷¹
FACTORES GENÉTICOS			
SNPs	Nominal	Homocigoto para el ancestro o la variante y heterocigoto	Polimorfismos obtenidos mediante técnica de de microarreglos o mediante sondas TaqMan de manera individual.



ANEXO 2. Carta de consentimiento informado

Polimorfismos de un solo nucleótido asociados con diabetes mellitus tipo 2 en familias de niños y adolescentes mexicanos.

Su familia y usted han sido considerados para realizar un estudio de investigación en el que se busca la presencia de factores que predisponen al desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 en niños.

Se sabe que existen factores de riesgo para el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 y tanto usted como su familia cuentan con uno o más de éstos como son: ser mexicanos, familiares de primer o segundo grado con la enfermedad, tener sobrepeso u obesidad, datos de resistencia a la insulina, inactividad física, diabetes durante el embarazo, hijos con peso mayor a 4kg al nacimiento, presión arterial alta y dislipidemia (alteraciones en las grasas de la sangre), entre otros. Existen recomendaciones que apoyan la búsqueda de alteraciones metabólicas en personas con riesgo, por lo que consideramos que ustedes son candidatos para recibir una valoración médica y poder detectar alteraciones de forma temprana. En el estudio requerimos que usted y su familia acudan en dos ocasiones al Hospital Infantil de México Federico Gómez, para llevar a cabo una serie de estudios, que a continuación le explicamos:

Visita 1

Usted y su familia deberán acudir el día de la cita a la Clínica de Atención al Niño Diabético del Hospital Infantil de México Federico Gómez, con un ayuno como mínimo de 12 horas (deberá cenar el día anterior a las 19:00 horas, posteriormente sólo podrá ingerir agua simple).

El día de la cita, se tomará una muestra de glucemia capilar que consiste en dar un piquete en una de las yemas de los dedos y colocarla en un aparato que mide la cantidad de glucosa (azúcar) en la sangre. Posteriormente se obtendrá una muestra de sangre de su antebrazo con un volumen total de 20mL para la determinación de exámenes de laboratorio.

En caso de que usted no sea diabético y haya tenido un nivel de glucosa <126 mg/dL en la muestra de sangre de la yema de su dedo, se procederá a realizar la prueba de tolerancia a la glucosa, la cual consiste en que usted beba un agua dulce y dos horas después se tome una segunda muestra de sangre de 2mL.

Durante el tiempo de espera entre la toma de las muestras, será valorado por un endocrinólogo pediatra quien realizará una historia clínica que consiste en un interrogatorio sobre sus antecedentes médicos y una exploración física.

Al final de la visita se les prestará un aparato llamado podómetro que consta de un dispositivo del tamaño de un radio localizador que usarán cada uno de los integrantes de la familia durante tres días debiendo ser uno de ellos en fin de semana. Deberán de regresar el dispositivo en la segunda visita para que sea utilizado por otras familias.

Visita 2

En esta cita se les solicitará que acudan con ropa cómoda, zapato bajo o tenis. Se les aplicará una prueba para medir su condición física la cual consiste en que suban y bajen un escalón de 30.5cm de altura a una velocidad de 30 veces por minuto durante 5 minutos. Antes y durante tres minutos posteriores a la prueba se medirán los latidos de su corazón.

Se les solicitará que contesten unos cuestionarios sobre hábitos de alimentación y actividad física.

Se les entregarán por escrito un resumen de la valoración realizada, así como de los resultados de laboratorio (glucosa, perfil de lípidos, ácido úrico, insulina, péptido C, transaminasas y proteína C reactiva). Así mismo recibirá las recomendaciones para disminuir el riesgo de desarrollar diabetes y en caso de requerirlo serán referidos al servicio de salud correspondiente.

Los riesgos de este estudio surgen de la necesidad de obtener muestras de sangre. Las punciones venosas pueden causar dolor y posiblemente moretones. La extracción de muestras de sangre puede causar ligero mareo que puede remediarse con bajar la cabeza y alzar las piernas. Puede haber varios beneficios para usted y su familia por su participación con este estudio. La identificación de alguna alteración en la glucosa, grasas de la sangre y presión arterial entre otras, nos permitirá valorar el inicio de tratamiento para controlar y evitar que sigan evolucionando esas alteraciones. Por participar en este estudio usted y su familia no recibirán ninguna compensación monetaria.

Durante el estudio, el médico responsable del mismo responderá a cualquier duda que usted o su hijo tengan acerca del procedimiento, los riesgos y beneficios, así como los resultados del estudio. Su participación en el estudio es totalmente voluntaria y una vez aceptada su participación, ésta se puede cancelar en cualquier momento sin que por ello se afecte la atención de usted o su familia en el Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Por medio de la presente, aceptamos en forma voluntaria que nuestra familia participe en el estudio de investigación. Hemos leído de forma cuidadosa este documento y entendemos todo lo que implica, además se nos ha asegurado que las muestras de sangre que se tomen serán utilizadas únicamente con los fines propuestos en esta investigación y que los resultados nos serán notificados y serán totalmente confidenciales. En caso de que el paciente y/o el tutor no sepan escribir se colocará la huella digital.

ACEPTAMOS: _____ **SÍ** _____ **NO**

Nombre y firma del padre

Nombre firma de la madre

Nombre y firma del hijo (1)

Nombre firma del hijo (2)

Nombre y firma del hijo (3)

Nombre firma del hijo (4)

Nombre y firma del testigo 1

Nombre y firma de testigo 2

Dirección: _____

Dirección: _____

Nombre y firma del investigador responsable
Dra. América Liliana Miranda Lora
Subdirección de investigación
Hospital Infantil de México Federico Gómez
Dr. Márquez # 162. Col. Doctores. CP 06720. México DF.
Teléfono: (55) 52 28 99 17 Ext. 3009

Fecha: _____



ANEXO 3. Carta de asentimiento

Polimorfismos de un solo nucleótido asociados con diabetes mellitus tipo 2 en familias de niños y adolescentes mexicanos.

Estamos realizando un estudio de investigación en familias mexicanas para evaluar el riesgo de tener diabetes mellitus tipo 2. El realizar estudios de investigación es una forma de aprender más sobre las enfermedades. Te estamos invitando a participar en este proyecto para evaluar la condición actual de tu enfermedad en caso de que ya tengas diabetes y en caso de que no seas diabético, se valorará el riesgo que tienes de presentar la enfermedad.

Si decides participar en el estudio, deberás asistir para que se te tomen muestras de sangre en ayuno en la primera cita. Se te picará la yema de tu dedo con una aguja pequeña y se pondrá una gota de tu sangre en un aparato que mide la glucosa (azúcar). Posteriormente se tomará una muestra de sangre de tu brazo. En caso de que no seas diabético, se te dará a beber una bebida azucarada y se te tomará otra muestra de sangre a los 120 min. Además serás valorado por un médico para que contestes algunas preguntas acerca de tus antecedentes de salud. El médico te realizará un examen físico y medirá tu peso, estatura, presión arterial y cintura. Una vez finalizada la primera cita se les prestará a tí y a tu familia un aparato que cuenta pasos y que deberás llevar contigo durante 3 días.

Se te citará nuevamente en otro día en donde contestarás unos cuestionarios sobre tu alimentación y tus actividades. Además se te aplicará una prueba para medir tu condición física que consiste en que subas y bajes un escalón durante 5 minutos mientras nosotros medimos los latidos de tu corazón. Al final de esta visita tus papás y tú recibirán los resultados de las pruebas que se te realizaron.

Los riesgos de este estudio están dados porque se necesita tomar muestras de sangre, lo cual puede ser doloroso o causarte moretones. Este estudio nos proporcionará más conocimientos acerca de la diabetes mellitus en niños, los cuales podemos utilizar para transmitirlos a otros médicos y ayudar a otros niños para prevenir que padezcan esta enfermedad. Además, si encontramos alguna alteración en el azúcar o en las grasas de tu sangre, recibirás el tratamiento adecuado para controlar y evitar que sigan evolucionando esas alteraciones.

Cuando hayamos terminado el estudio escribiremos un reporte sobre los resultados y lo que hemos aprendido. En este reporte no aparecerá tu nombre y nadie sabrá que participaste en el estudio. Puedes preguntar todas las dudas que tengas en cualquier momento y eres libre de participar o no según sea tu deseo, nosotros seguiremos dándote la atención. Si decides participar en el estudio escribe tu nombre y firma.

Estoy de acuerdo en participar: Sí _____ No _____

Nombre con letra de molde: _____

Firma: _____

Nombre y firma del testigo 1

Nombre y firma de testigo 2

Dirección: _____

Dirección: _____

Nombre y firma del investigador responsable

Fecha: _____

Dra. América Lilitana Miranda Lora. Subdirección de investigación. Hospital Infantil de México Federico Gómez. Dr. Márquez # 162. Col. Doctores. CP 06720. México DF. Teléfono: (55) 52 28 99 17 Ext. 3009

ANEXO 4. Consentimiento informado para la realización de estudio genético.



Título del estudio: Polimorfismos de un solo nucleótido asociados con diabetes mellitus tipo 2 en familias de niños y adolescentes mexicanos.

Se solicita la participación de usted y su familia en este proyecto de investigación cuyo objetivo principal es profundizar en el conocimiento de factores genéticos que puedan predisponer al desarrollo de diabetes mellitus tipo 2. Esta enfermedad se caracteriza por presentar elevación de los niveles de glucosa (azúcar) en sangre debido a defectos en la acción o secreción de la insulina y que puede favorecer la aparición de complicaciones crónicas que repercuten en una disminución de la calidad de vida de las personas afectadas.

En este estudio participan los Departamentos de Salud Comunitaria y Endocrinología del Hospital Infantil de México Federico Gómez y la Unidad de Investigación Médica en Bioquímica del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional siglo XXI del IMSS. Es posible que de su participación en este estudio no obtenga un beneficio directo. Sin embargo, la identificación de posibles factores genéticos relacionados con la diabetes mellitus tipo 2 en población mexicana, podría beneficiar en un futuro a otros pacientes que la padecen y contribuir a un mejor conocimiento y prevención de esta enfermedad. La participación de usted y su familia es totalmente voluntaria, y si usted decide no participar recibirá todos los cuidados médicos que su familia precise y la relación con el equipo médico que le atiende no se verá afectada.

Si usted decide participar, se le extraerá un tubo de sangre de 5ml para obtener las muestras de ADN. El ADN es un elemento que está presente en todas sus células porque lo ha recibido de sus padres y lleva un código en forma de "genes" que determina sus características físicas personales como el color de ojos, de piel, etc. Las diferencias entre unas personas y otras nos pueden ayudar a explicar por qué algunas personas desarrollan unas enfermedades y otras no.

La toma de muestras de sangre puede provocar una sensación de ardor en el punto en el que se introduce la aguja en la piel y le puede ocasionar un pequeño hematoma y en ocasiones un ligero mareo.

Se le solicita su consentimiento para que con las muestras de sangre de usted y su familia, se hagan los procedimientos especificados en los siguientes puntos:

- I. Que en el ADN de su sangre se estudien los genes que pueden estar involucrados en el desarrollo de la diabetes mellitus tipo 2.
- II. Es probable que en un futuro se descubran nuevos genes relacionados con la diabetes mellitus tipo 2, por ello se le solicita que autorice almacenar su muestra para el estudio de otros genes que se puedan descubrir en el futuro. Si usted acepta autorizar este almacenamiento, se eliminarán de la muestra todos los vínculos con su identidad antes de guardarla, y no será posible llegar a conocer su identidad a partir de ella. Esta muestra sólo se utilizará para estudiar genes importantes implicados en la diabetes mellitus tipo 2, no se realizarán otros estudios con ella.
- III. Usted puede también aceptar que en dicha muestra se realicen estudios genéticos de otras enfermedades diferentes.

Usted puede aceptar que sólo se estudien en su muestra de sangre los genes expresados en el punto I, o las propuestas de los puntos II y III. Si usted acepta sólo los estudios genéticos descritos en el punto I, su muestra se destruirá después de completar la prueba. Si usted acepta que se guarde esa muestra para futuros estudios como se describe en los puntos II y III, el investigador garantizará que guardará y utilizará la muestra hasta que ya no quede más ADN. Usted debe otorgar su consentimiento informado por escrito, indicando qué parte del estudio genético acepta y firmando este documento, antes de la obtención del ADN.

Yo como representante de mi familia, declaro bajo mi responsabilidad que he leído la hoja de información sobre el estudio y acepto que mi familia, participe en este estudio genético.

Se me ha entregado una copia de este consentimiento informado, fechado y firmado. Se me han explicado las características y el objetivo del estudio genético y los posibles beneficios y riesgos que puedo esperar. Se me ha dado tiempo y oportunidad para realizar preguntas y todas fueron respondidas a mi entera satisfacción. Sé que se mantendrá en secreto nuestra identidad y que se identificarán las muestras de sangre y de ADN con un número codificado.

Somos libres de retirarnos del estudio genético en cualquier momento por cualquier motivo, sin tener que dar explicación y sin que repercuta negativamente sobre nuestro tratamiento médico. Tras ello se procederá a la destrucción de la muestra codificada. Si se hubiera retirado previamente el vínculo de identificación de la muestra, no se podrá relacionar conmigo, de forma que no se podrá destruir.

Entiendo que el objetivo del estudio genético es evaluar el riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2 y que los resultados del mismo no se comunicarán ni a mí ni a mi médico, excepto en el caso de que dichos hallazgos tengan una implicación significativa para la salud de los participantes y que exista una posibilidad real de mejorar esa condición de salud.

Aceptamos ____ No aceptamos ____ que se realicen los estudios genéticos referentes al punto I.

Aceptamos ____ No aceptamos ____ que se guarden las muestras de ADN para pruebas en el futuro en relación a la diabetes mellitus tipo 2 (punto II).

Aceptamos ____ No aceptamos ____ que se guarden las muestras de ADN para realizar estudios futuros de otras enfermedades (punto III).

Consentimos en participar voluntariamente en el(los) apartado(s) marcado(s) de este estudio genético.

Nombre y firma del padre

Nombre firma de la madre

Nombre y firma del hijo (1)

Nombre firma del hijo (2)

Nombre y firma del hijo (3)

Nombre firma del hijo (4)

Nombre y firma del testigo 1

Nombre y firma de testigo 2

Dirección: _____

Dirección: _____

Constato que he explicado las características y el objetivo del estudio, sus apartados, riesgos y beneficios potenciales y la familia consiente en participar por medio de sus firmas.

Fecha: _____

Nombre y firma del investigador responsable

Dra. América Lilitiana Miranda Lora. Subdirección de investigación. Hospital Infantil de México Federico Gómez. Dr. Márquez # 162. Col. Doctores. CP 06720. México DF. Teléfono: (55) 52 28 99 17 Ext. 3009

**ANEXO 5. Formato de Identificación y antecedentes.
Polimorfismos genéticos relacionados con el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 en niños y adolescentes.**

FECHA: |_|_|_|/|_|_|/|_|_|_|

Registro hospitalario: _____

INTEGRANTE	NOMBRE Apellido paterno /apellido materno / nombre(s)	INICIALES	FOLIO	FECHA DE NACIMIENTO (dd/mm/aa)	NIVEL ESCOLAR 1. Analfabeta 2. Primaria 3. Secundaria 4. Bachillerato técnico 5. Superior 6 Posgrado	AÑOS DEL ÚLTIMO GRADO ESCOLAR	OCUPACIÓN
							1. Ama de casa 2. Estudiante 3. Oficios 4. Servicios 5. Empleado de fabrica 6. Empleado de oficina 7. Comerciante 8. Profesionista 9. Jubilado 10. Desempleado 11. Otros
Propósito							
Madre							
Padre							
Hermano 1							
Hermano 2							
Hermano 3							
Hermano 4							
Hermano 5							
No familiar							
DATOS PARA ESTABLECER COMUNICACIÓN							
Dirección: (calle, no. Exterior, no. Interior, colonia, delegación/municipio, C.P.)							
Teléfono de casa:				Correo electrónico:			
Teléfono celular:				A quién pertenece:			
Teléfono del trabajo:				A quién pertenece:			
Teléfono de algún familiar o vecino:				A quién pertenece:			

ANTECEDENTES FAMILIARES

INTEGRANTE	FOLIO	EDAD (años cumplidos)	SEXO 1.Masculino 2.Femenino	NACIO-NALIDAD 1. Mexicana 2. Otra 3. No sabe	ENTIDAD FED. Tres letras iniciales del estado	ESTADO ACTUAL 1. Vivo 2. Muerto 3. No sabe	CAUSA DE MUERTE (Anotar NA en los vivos)	0. NO 1.SÍ 9. No sabe							
								OBESIDAD	DM2	HAS	DISLIPIDEMIA	OTRAS	ESPECIFICAR		
Madre															
Abuela materna	No aplica														
Abuelo materno	No aplica														
Tío materno 1	No aplica														
Tío materno 2	No aplica														
Tío materno 3	No aplica														
Tío materno 4	No aplica														
Tío materno 5	No aplica														
Padre															
Abuela paterna	No aplica														
Abuelo paterno	No aplica														
Tío paterno 1	No aplica														
Tío paterno 2	No aplica														
Tío paterno 3	No aplica														
Tío paterno 4	No aplica														
Tío paterno 5	No aplica														
Propósito															
Hermano 1															
Hermano 2															
Hermano 3															
Hermano 4															
Hermano 5															

ANTECEDENTES PERINATALES

INTEGRANTE	FOLIO	Peso nacimiento (g)	Edad gestacional (semanas)	Exposición a diabetes gestacional 0. No 1. Sí	Exposición a preeclampsia o eclampsia 0. No 1. Sí	Tiempo de alimentación con leche materna (meses)	Edad de ablactación (meses)
Propósito							
Hermano 1							
Hermano 2							
Hermano 3							
Hermano 4							
Hermano 5							

VARIABLES SOCIOECONÓMICAS

Ingreso familiar mensual	
Gasto mensual en comida	
Familia nuclear (Sí o No)	
Jefe de familia	

ANTECEDENTES DE LOS PACIENTES CON DIABETES MELLITUS

INTEGRANTE	FOLIO	Edad del diagnóstico (años)	Debut al diagnóstico 1. Clínico 2. Laboratorio 3. CAD	Peso previo al diagnóstico (kg)	Glucosa al diagnóstico (mg/dL)	SÍNTOMAS AL DIAGNÓSTICO 0. No 1. Sí							TRATAMIENTO ACTUAL 0. No 1. Sí					
						Poliuria	Polidipsia	Polifagia	Pérdida de peso	Fatiga	Perdida de peso	Asintomático	Insulina	Metformina	Sulfonilureas	Glitazonas	Incretinas	Sin medicamentos
Propósito																		
Madre																		
Padre																		
Hermano 1																		
Hermano 2																		
Hermano 3																		
Hermano 4																		
Hermano 5																		

NOMBRE DEL ENCUESTADOR: _____

**ANEXO 6. Exploración física y prueba de Harvard.
Polimorfismos genéticos relacionados con el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 en niños y adolescentes**

FECHA: |_|_|/|_|_|/|_|_| Registro hospitalario: _____

INTEGRANTE	Folio	Glucosa capilar (mg/dL)	Peso (Kg)	Talla (cm)	Cintura (cm)	PAS1 (mmHg)	PAD1 (mmHg)	PAS2 (mmHg)	PAD2 (mmHg)	PAS3 (mmHg)	PAD3 (mmHg)
Propósito											
Madre											
Padre											
Hermano 1											
Hermano 2											
Hermano 3											
Hermano 4											
Hermano 5											
No familiar											

INTEGRANTE	FOLIO	Tanner Genital	Tanner mamario	Tanner púbico	Acantosis en cuello 0. No 1. Si	FC basal	FC inmediata	FC 1 min	FC 2 min	FC 3 min	Duración (segundos)
Propósito											
Madre		No aplica									
Padre		No aplica									
Hermano 1											
Hermano 2											
Hermano 3											
Hermano 4											
Hermano 5											
No familiar											

NOMBRE DE QUIEN REALIZÓ LAS OBSERVACIONES:

ANEXO 7. Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos.

Folio: _____							
Frecuencia de consumo de alimentos							
Fecha: día ___ / mes ___ / año ___							
INSTRUCCIONES.							
Llene cuidadosamente este formato, siguiendo las instrucciones que se piden en cada columna. Escriba con la mayor claridad posible.							
Nombre: _____							
ALIMENTO	Frecuencia de consumo			Cantidad consumida por el niño			
	No lo consume	N° de veces por			Total de unidades	Unidad de Medida (pieza, vaso, plato, cuchara, taza, etc.)	Tamaño Chico, mediano, grande
		Mes	Semana	Día			
Productos Lácteos							
1	Leche entera (líquida o polvo)						
2	Leche semidescremada (líquida o polvo)						
3	Leche descremada (líquida o polvo)						
4	Leche saborizada (líquida o polvo)						
5	Quesos blancos (panela, rancho)						
6	Quesos maduros (manchego, gouda)						
7	Yakult o chamito						
8	Yogurt o soful natural						
9	Yogurt o soful de sabores						
10	Danonino						
Cereales							
11	Avena						
12	Tortilla de maíz						
13	Tortilla de harina de trigo						
14	Pan de caja (blanco o integral)						
15	Bolillo (blanco o integral)						
16	Pan dulce						
17	Galletas dulces (canelitas, polvorones)						
18	Galletas tipo sandwich (emperador, cremas de nieve)						
19	Galletas simples (marías, habaneras, animalitos)						
20	Galletas saladas						
21	Arroz						
22	Sopa de pasta						
23	Sopa maruchan						
24	Pastas						
25	Papa natural o en polvo (sopa, pure ó cocida)						
26	Elote o esquites						
27	Amaranto (alegría)						
28	Cereal de caja						
	(anote nombre y marca)						

ALIMENTO	Frecuencia de consumo					Cantidad consumida por el niño		
	No lo consume	N° de veces por			Total de unidades	Unidad de Medida (pieza, vaso, plato, cuchara, taza, etc.)	Tamaño Chico, mediano, grande	
		Mes	Semana	Día				
Frutas								
29	Jugos naturales de frutas							
30	Fruta fresca							
31	Fruta en almibar							
32	Otras frutas (seca, cristalizada)							
Verduras								
33	Jugos naturales de verduras							
34	Verduras de hoja verde (lechuga, espinacas, acelgas)							
35	Verduras rojas (jitomate, rábano, pimiento)							
36	Verduras verdes (chicharo, ejote, calabaza)							
37	Verduras amarillas (zanahoria, elote, camote)							
Huevo, Carnes, Pescado, Mariscos y Embutidos								
38	Huevo							
39	Pollo							
40	Carne blanca (pollo, pavo)							
41	Carne roja (res, borrego, cerdo)							
42	Embutidos (salchicha, jamón)							
43	Chorizo, longaniza							
44	Vísceras (hígado, corazón, panza)							
45	Chicharrón (frito, prensado)							
46	Pescado fresco							
47	Pescado en lata							
48	Mariscos (ostión, camarón, pulpo)							
Leguminosas								
49	Frijoles							
50	Frijoles de lata							
51	Lentejas							
52	Habas							
53	Garbanzo							
54	Soya							
55	Alubias							
Azúcares y golosinas								
56	Gelatina							
57	Pasteles							
58	Helado y paletas de leche							
59	Miel (abeja, maple)							
60	Mermelada							
61	Cajeta							
62	Flan							
63	Pay							77

ALIMENTO	Frecuencia de consumo					Cantidad consumida por el niño		
	No lo consume	Nº de veces por			Total de unidades	Unidad de Medida (pieza, vaso, plato, cuchara, taza, etc.)	Tamaño Chico, mediano, grande	
		Mes	Semana	Día				
64	Chocolate (cualquiera)							
65	Crema de cacahuete (aladino)							
66	Dulces (caramelos, paletas)							
67	Ate							
68	Congeladas y paletas de agua							
Grasas y Aceites								
69	Margarina							
70	Mantequilla							
71	Crema o Nata							
72	Mayonesa							
73	Aceite de olivo							
Frituras								
74	Frituras (papas, palomitas, chicharrones)							
75	Cacahuates procesados							
Comida rápida internacional								
76	Papas a la francesa							
77	Pizza							
78	Hot Dogs							
79	Hamburguesas							
80	Banderillas							
81	Baguette							
Comida rápida mexicana								
82	Sincronizadas							
83	Tortas							
84	Torta de Tamal							
85	Tamal							
86	Tamal frito							
87	Gorditas de chicharrón							
88	Tlacoyo							
89	Quesadillas							
90	Sopes							
91	Tacos							
92	Pozole							
93	Pancita							
94	Birria							
Semillas								
95	Nueces							
96	Almendras							
97	Avellanas							
98	Cacahuete natural							
99	Pepitas							
100	Pistaches							
Bebidas								
101	Refresco cualquier marca							
102	Refrescos y bebidas dietéticas							

ANEXO 8. Cuestionario de actividad física.

Folio: _____
EJERCICIO Y SEDENTARISMO
Nombre del paciente: _____ Fecha: día ____ mes ____ año ____
INSTRUCCIONES. Responda las preguntas tachando o anotando la opción de respuesta. No escriba en la columna sombreada

ACTIVIDADES SEDENTARIAS			NO ESCRIBA EN ESTA COLUMNA	
1	¿Cuántas televisiones hay en tu casa? Número ____	1	__	
2	¿Tienes televisor en tu recámara? 1. Si. 2. No.	2	__	
3	¿Regularmente cuántas horas al día pasas viendo televisión (programación, películas), incluyendo el tiempo por la mañana, tarde y noche? h/día ____:____	3	__ : __	
4	¿Tienes computadora en tu casa? 1. Si. 2. No.	4	__	
5	¿Independientemente de que tengas o no computadora en tu casa, regularmente cuántas horas al día utilizas la computadora? h/día ____:____	5	__ : __	
6	En tu casa, ¿tienes videojuegos (X box, game-boy, wii, juegos en computadora)? 1. Si. 2. No.	6	__	
7	¿Independientemente de que tengas o no videojuegos en tu casa, regularmente cuántas horas al día dedicas a los videojuegos (X-box, nintendo, maquinitas, computadora, celular)? h/día ____:____	7	__ : __	
8	En tu casa, ¿tienes reproductor de DVD y/o Blue Ray? 1. Si. 2. No.	8	__	
9	¿Regularmente, cuántas horas pasas al día sentado (leyendo, oyendo música, haciendo la tarea, jugando juegos de mesa)? h/día ____:____	9	__ : __	
10a	¿Comes algo cuando estás frente a la TV, computadora o videojuegos? 1. Si. 2. No.	10	a. __	
10b			b. __	
11a	¿Bebes algo cuando estas frente a una pantalla (TV, computadora o videojuegos)? 1. Si. 2. No.	11	a. __	
11b			b. __	
12	¿Entre semana, regularmente a que hora te duermes? __ : __ pm	12	__ : __	
13	¿Entre semana, regularmente a que hora te despiertas? __ : __ am	13	__ : __	
14	¿Regularmente cuántas horas duermes de siesta? h/día ____:____	14	__ : __	
15	¿Regularmente cuantas horas al día vas a la escuela o al trabajo? No trabaja/escuela __99 	15	__ : __	
16	¿Regularmente cuánto tiempo empleas en transportarte de tu casa a la escuela/trabajo, de ida y regreso (sumar los tiempos)? h/día ____:____ No aplica __99 	16	__ : __	
17	¿Regularmente cómo te transportas de tu casa a la escuela/trabajo, de ida y de regreso (Anotar en orden de importancia, poner a la derecha el orden)? 1. Caminando 2. Bicicleta 3. Automóvil 4. Autobús o equivalente 5. Metro o equivalente 6. No aplica	17	a __ b __ c __	
EJERCICIO EN LA ESCUELA (entre semana)(aplicar sólo a los niños)				
18	¿Cuántos días de la semana tienes clase de educación física en la escuela? días ____ No aplica __9 	18	__	
19	¿Cuánto tiempo dura tu clase? h ____:____ No aplica 999 	19	__ : __	
20	¿Tienes maestro de educación física? 1. Si. 2. No. No aplica __9 	20	__	

Folio: _____

EJERCICIO Y SEDENTARISMO

Nombre del paciente: _____ **Fecha:** día |__| |__| mes |__| |__| año |__| |__|

INSTRUCCIONES. Responda las preguntas tachando o anotando la opción de respuesta. No escriba en la columna sombreada

ACTIVIDADES SEDENTARIAS			NO ESCRIBA EN ESTA COLUMNA	
1	¿Cuántas televisiones hay en tu casa?	Número __	1	__
2	¿Tienes televisor en tu recámara?	1. Si. 2. No.	2	__
3	¿Regularmente cuántas horas al día pasas viendo televisión (programación, películas), incluyendo el tiempo por la mañana, tarde y noche?	h/día __ __ . __ __	3	__ __ . __ __
4	¿Tienes computadora en tu casa?	1. Si. 2. No.	4	__
5	¿Independientemente de que tengas o no computadora en tu casa, regularmente cuántas horas al día utilizas la computadora?	h/día __ __ . __ __	5	__ __ . __ __
6	En tu casa, ¿tienes videojuegos (X box, game-boy, wii, juegos en computadora)?	1. Si. 2. No.	6	__
7	¿Independientemente de que tengas o no videojuegos en tu casa, regularmente cuántas horas al día dedicas a los videojuegos (X-box, nintendo, maquinitas, computadora, celular)?	h/día __ __ . __ __	7	__ __ . __ __
8	En tu casa, ¿tienes reproductor de DVD y/o Blue Ray?	1. Si. 2. No.	8	__
9	¿Regularmente, cuántas horas pasas al día sentado (leyendo, oyendo música, haciendo la tarea, jugando juegos de mesa)?	h/día __ __ . __ __	9	__ __ . __ __
10a	¿Comes algo cuando estás frente a la TV, computadora o videojuegos? 1. Si. 2. No.	1. Siempre 2. Frecuentemente 3. Ocasionalmente 4. No aplica	10	a. __
10b			b. __	
11a	¿Bebes algo cuando estas frente a una pantalla (TV, computadora o videojuegos)? 1. Si. 2. No.	1. Siempre 2. Frecuentemente 3. Ocasionalmente 4. No aplica	11	a. __
11b			b. __	
12	¿Entre semana, regularmente a que hora te duermes?	__ __ . __ __ pm	12	__ __ . __ __
13	¿Entre semana, regularmente a que hora te despiertas?	__ __ . __ __ am	13	__ __ . __ __
14	¿Regularmente cuántas horas duermes de siesta?	h/día __ . __ __	14	__ . __ __
15	¿Regularmente cuantas horas al día vas a la escuela o al trabajo?	h/día __ __ . __ __ No trabaja/escuela __99.99	15	__ __ . __ __
16	¿Regularmente cuánto tiempo empleas en transportarte de tu casa a la escuela/trabajo, de ida y regreso (sumar los tiempos)?	h/día __ . __ __ No aplica __9.99	16	__ . __ __
17	¿Regularmente cómo te transportas de tu casa a la escuela/trabajo, de ida y de regreso (Anotar en orden de importancia, poner a la derecha el orden)?	1. Caminando 2. Bicicleta 3. Automóvil 4. Autobús o equivalente 5. Metro o equivalente 6. No aplica	17	a __ b __ c __
EJERCICIO EN LA ESCUELA (entre semana)(aplicar sólo a los niños)				
18	¿Cuántos días de la semana tienes clase de educación física en la escuela?	días __ No aplica __9	18	__
19	¿Cuánto tiempo dura tu clase?	h __ . __ __ No aplica __9.99	19	__ . __ __
20	¿Tienes maestro de educación física?	1. Si. 2. No. No aplica __9	20	__

ANEXO 9. SNPs incluidos en el análisis.

SNPs	Cr	Gen reportado	Clase funcional	A	a	FAM	EHW (p)	Obesity ^b	Gluc/Ins ^c	Lipids ^d
INCLUIDOS EN EL MICROARREGLO										
rs903361	1	ADORA1	Intron	A	G	0.284	0.253			
rs1011731	1	DNM3	Intron	A	G	0.264	0.318	*		
rs1514175	1	TNNI3K	Intron	A	G	0.329	0.082	*		
rs1555543	1	PTBP2	Intergénico	C	A	0.390	0.412	*		
rs2605100	1	LYPLAL1	Intergénico	G	A	0.456	0.759	*		
rs2815752	1	NEGR1	Intergénico	A	G	0.217	0.822	*		
rs984222	1	TBX15	Intron	G	C	0.383	0.739	*		
rs10913469	1	SEC16B	Intron	T	C	0.222	0.929	*		
rs340874	1	PROX1	Región no traducida 5'	T	C	0.324	0.902		*	
rs2890652	2	LRP1B	Intergénico	T	C	0.229	0.759	*		
rs713586 ^a	2	ADCY3	Intergénico	T	C	0.289	0.035	*		
rs887912 ^a	2	FANCL	Intergénico	C	T	0.068	0.155	*		
rs560887 ^a	2	G6PC2	Intron	C	T	0.061	0.406		*	
rs10195252	2	GRB14	Intron	T	C	0.277	0.564	*		*
rs780094	2	GCKR	Intron	C	T	0.329	0.288		*	*
rs6784615 ^a	3	NISCH	Intron	T	C	0.036	0.630	*		
rs6795735 ^a	3	ADAMTS9-AS2	intron	T	C	0.164	0.047	*		
rs13078807	3	CADM2	Intron	A	G	0.095	0.638	*		
rs7647305	3	SFRS10	Intron	C	T	0.171	0.396	*		
rs11920090	3	SLC2A2	Intron	T	A	0.284	0.333		*	
rs11708067	3	ADCY5	Intron	A	G	0.362	0.316		*	
rs10938397	4	GNPDA2	Intergénico	A	G	0.326	0.856	*		
rs13107325 ^a	4	SLC30A8	Sin sentido	C	T	0.037	0.192	*		*
rs6232	5	PCSK1	Intron	T	C	0.166	0.260			
rs2112347	5	POC5	Río arriba	T	G	0.296	0.855	*		
rs1294421	6	LY86	Intergénico	G	T	0.345	0.078	*		
rs206936	6	RPS10-NUDT3	Intron	A	G	0.348	0.387	*		
rs6905288	6	VEGFA	Río abajo	A	G	0.360	0.094	*		
rs9491696	6	RSPO3	Intron	C	G	0.399	0.149	*		
rs987237	6	TFAP2B	Intron	A	G	0.457	0.531	*		
rs16139 ^a	7	NPY	Sin sentido	T	C	0.006	<0.001			
rs1055144	7	NFE2L3	Intergénico	C	T	0.222	0.659	*		
rs2191349	7	TMEM195, DGKB	Intergénico	T	G	0.434	0.429		*	
rs4607517 ^a	7	GCK	Intron	G	A	0.479	0.030		*	
rs13266634	8	SLC30A8	Sin sentido	C	T	0.256	0.958		*	
rs10968576	9	LINGO2	Intron	A	G	0.212	0.228	*		
rs7034200	9	GLIS3	Intron	A	C	0.355	0.311		*	
rs10885122	10	ADRA2A	Intergénico	G	T	0.169	0.574		*	
rs1800497	11	ANKK1	Sin sentido	A	G	0.433	0.344			
rs3817334	11	MTCH2	Intron	C	T	0.427	0.516	*		
rs4929949	11	STK33	Intron	T	C	0.500	0.345	*		
rs6265	11	BDNF-AS	Sin sentido	C	T	0.166	0.860	*		
rs925946	11	BDNF-AS	Intron	G	T	0.166	0.767	*		
rs11605924	11	CRY2	Intron	A	C	0.444	0.535		*	
rs7944584 ^a	11	MADD	Intron	A	T	0.127	0.028		*	

SNPs	Cr	Gen reportado	Clase funcional	A	a	FAM	EHW (p)	Obesity ^b	Gluc/Ins ^c	Lipids ^d
INCLUIDOS EN EL MICROARREGLO										
rs10830963	11	MTNR1B	Intron	C	G	0.221	0.649		*	
rs174550	11	FADS1	Región no traducida 5'	T	C	0.276	0.323			*
rs1443512	12	HOXC13	Intergénico	A	C	0.344	0.934	*		
rs718314	12	ITPR2	Intron	G	A	0.368	0.095	*		
rs7138803	12	BCDIN3D	Intergénico	G	A	0.380	0.506	*		
rs4771122	13	MTIF3	Intron	A	G	0.157	0.372	*		
rs10150332	14	NRXN3	Intron	T	C	0.225	0.266	*		
rs11847697 ^a	14	PRKD1	Intron	C	T	0.042	0.572	*		
rs2856929 ^a	15	PKM	Intron	T	C	0.494	0.004			
rs2241423	15	MAP2K5, LBXCOR1	Intron	G	A	0.312	0.072	*		
rs12444979 ^a	16	GPRC5B	Intergénico	T	C	0.050	0.326	*		
rs7498665	16	NPIP8	Sin sentido	G	A	0.488	0.531	*		
rs9939609	16	FTO	Intron	T	A	0.084	0.319	*	*	
rs2229616 ^a	18	MC4R	Sin sentido	C	T	0.088	<0.001			
rs571312	18	MC4R	Intergénico	C	A	0.239	0.827	*		
rs11084753	19	KCTD15	Intergénico	G	A	0.267	0.234	*		
rs2287019	19	QPCTL	Intron	C	T	0.084	0.319	*		
rs3810291	19	ZC3H4	Región no traducida 3'	G	A	0.478	0.431	*		
rs4823006	22	ZNRF3	Región no traducida 3'	A	G	0.453	0.874	*		
GENOTIIFICADOS MEDIANTE SONDAS INDIVIDUALES										
rs13342232	17	SLC16A11	Codón sinónimo	A	G	0.163	0.678			
rs9282541	9	ABCA1	Mutación sin sentido	C	T	0.006	0.998		*	*
rs7903146	10	TCF7L2	Intron	C	T	0.285	0.087	*	*	
rs12255372	10	TCF7L2	Intron	C	T	0.293	0.881	*	*	

SNPs: polimorfismo de un solo nucleótido single nucleotide polymorphism, Cr: cromosma, A: alelo mayor, a: alelo menor, FAM: frecuencia del alelo menor, EHW: equilibrio de Hardy-Weinberg equilibrium. ^aSNPs excluidos del análisis. ^bAsociación con desenlaces relacionados con obesidad en estudios amplios del genoma (índice cintura/cadera, IMC u obesidad). ⁶⁹ ^cAsociación con variables relacionadas con glucose e insulina en estudios amplios del genoma (diabetes, glucosa, HOMA-IR, HOMA-B, HbA1c, índice de disponibilidad de glucosa o respuesta aguda de insulina). ⁶⁹ ^dAsociación con lípidos en estudios amplios del genoma (triglicéridos, colesterol HDL o ácidos grasos).⁶⁹

ANEXO 10. Constancias presentación de trabajos libres



otorga la presente
CONSTANCIA

como

Primer autor del trabajo de investigación titulado

*Agrupación familiar, transmisión parenteral y heredabilidad de la diabetes mellitus tipo 2
en familiares de niños y adolescentes mexicanos*

a la

Dra. América Leliana Miranda Lora

Coautores

*Dr. Miguel Kélinde Kélinde, Dra. Jenny Vilchig Gil, Dra. Patricia G. Medina Bravo,
Dra. Leticia M. García Morales, Dr. Samuel Flores Huerta*

*Presentado en el marco de 13 Congreso Anual
Quetzaco, Guo, 29 de agosto al 1 de septiembre 2012*

Dr. Carlos Robles Valdés
Vocales

Dra. Elisa Nishimura Meguro
Presidenta

Dra. Margarita Torres Tamayo
Secretario-Tesoro



C O N S T A N C I A

a los investigadores

América Leticia Moranda Lora, Miguel Klünder Klünder,

Patricia Guadalupe Medina Bravo,

Leticia Margarita García Morales, Samuel Flores Auerka

Por su sobresaliente presentación en el XVII Encuentro Nacional de Investigadores de la Secretaría de Salud, con el Trabajo

Agregación Familiar y Transmisión Parental De La Diabetes Mellitus Tipo 2 De Inicio En La Edad Pediátrica

DR. JUAN JOSÉ HICKS GÓMEZ
Director General de Políticas de Investigación en Salud

Acapulco, Gro. a 27 de octubre, 2012

DR. RODOLFO CANO JIMÉNEZ
Director de Investigación en Salud





XXIII Reunión Anual de la Sociedad Latinoamericana de Endocrinología Pediátrica

20 al 25 de noviembre 2012
Radisson Montevideo Victoria Plaza Hotel
Montevideo, Uruguay



Presidente SLEP 2012
Dra. Carmen Pisciotto

Presidentes de Honor SLEP 2012

Dr. José García Loriente

Secretaría General SLEP

Dr. Fernando Cassaró

Secretaría SLEP 2012

Dra. Rosario Grignolo

Tesorera SLEP 2012

Dra. Cecilia Pachioiti

Comité Organizador

Dra. Beatriz Aguirre

Dra. Nancy Antunesiani

Esc. Milton La Porta

Dra. Alicia Markovicius

Dra. Aracely Mazzafra

Dra. Laura Paro

Dra. Adriana Pereira

Dra. María José Ramírez

Comité Científico

Internacional de la SLEP

Dr. Carlos Longui

Brasil - Coor.ador

Dr. Hugo Adelff

Argentina

Dra. Ethel Coché

Chile

Comité Científico Nacional

Dr. José García Loriente

Dra. Laura Casale

Dr. Gaspario Giachetto

Dr. Emílio Jrazzol

Dra. Mariela Lavandaburo

Dra. Aída Lemes

Dra. Iván Martino

Dr. Walter Pérez

Dr. Nelli Pisabarro

Dra. Gladys Queiruga

Dra. Pilar Serra

Dra. Anna Spitz

Coordinadores SLEP

Seminar School

Dra. Alicia Martínez

Argentina

Dra. Rosario Grignolo

Uruguay

19 al 20 de noviembre 2012

Montevideo, 23 de Noviembre de 2012.

Se deja constancia la presentación del:

Póster N° P064

FAMILIAL AGGREGATION, PARENTAL TRANSMISSION AND HERITABILITY OF TYPE 2 DIABETES MELLITUS IN FAMILIES OF MEXICAN CHILDREN AND ADOLESCENTS.

Cuyos autores son:

"Miranda Iora América Liliana; Klünder Klünder, Miguel; Vilchis Gil, Jenny; Medina Brava, Patricia Guadalupe; García Morales, Leticia Margarita ; Flores Huerto, Samuel".

en el marco de la XXIII Reunión Anual de la Sociedad Latinoamericana de Endocrinología Pediátrica, la cual se lleva a cabo desde el 20 al 23 de Noviembre de 2012, en el Centro de Convenciones del Hotel Radisson.

Dra. Rosario Grignolo
Secretaría

Dra. Carmen Pisciotto
Presidente

visíté nuestro sitio web: www.slep2012.com

Secretaría General del Evento Perceps
Edificio Paz Mayor, Plaza Independencia 2911/116 1, Oficina 201 Montevideo - Uruguay
Tel: (+598) 43492847 Fax: (+598) 43492848
slep2012@perceps.com.uy

XXV

**Premio
Nacional de
Investigación**

25
Años
1989-2014



Fundación GSK



Fundación Mexicana para la Salud

**Las Fundaciones GSK y
Mexicana para la Salud otorgan la presente**

Constancia a:

América Liliana Miranda Lora

Por su participación en el XXV Premio Nacional de Investigación 2014
con el trabajo titulado:

**Agregación familiar, transmisión parental
y heredabilidad de la Diabetes Mellitus tipo 2
en familias de niños y adolescentes mexicanos**

Dra. Ma. Yolanda Cervantes Apolinar
Presidenta Ejecutiva
Fundación GSK

Lic. José Campillo García
Presidente Ejecutivo
de Funsalud.

México, D.F. 4 de septiembre de 2014



**Se Otorga la Presente
CONSTANCIA A:**

Miranda-Lora América Lilianna, Molina-Días Mauro, Cruz-López Miguel, Gutiérrez- Jorgs, Flores-Huerta Samsel, Klünder-Klünder Miguel.

POR SU TRABAJO

No todos los SNPs de riesgo para DM2 se asocian a la presentación temprana de la enfermedad pero si a la función pancreática y resistencia a la insulina ¿cuestión de tiempo?

EN LA

9 Reunión de Investigación
Pediátrica

6 Reunión de Investigación en
Enfermería Podiátrica

y

7 al 9 de octubre de 2015


Dr. Alejandro Serrano Sierra
Instituto Nacional de Pediatría


Dr. Jorge Arturo Cardona Pérez
Instituto Nacional de Endocrinología


Dr. Ferrnando de la Cruz
Hospital de Pediatría "Salvador Frank País"
UMAE Centro Médico Nacional S. XXI


Dr. José Alberto García Aranda
Hospital Infantil de México
"Federico Gómez"


José de Jesús Arriaga Xivilla
Hospital de Pediatría
UMAE Centro Médico de Occidente


Dr. Guillermo Virragua Reyna
Hospital General
UMAE Centro Médico Nacional "La Raza"



ASOCIACION MEXICANA DE PEDIATRIA

34º CONGRESO NACIONAL DE PEDIATRIA

La Asociación Mexicana de Pediatría A.C.
otorga el presente:

Diploma

América Liliana Miranda Lora, Mario Molina Diaz, Miguel Cruz
López, Jorge Gutiérrez Cuevas, Samuel Flores Huerta, Miguel
a: Klünder Klünder.

Como:

PRESENTACION DEL TRABAJO LIBRE:

No todos los SNPs de riesgo para DM2 se asocian a la presentación
temprana de la enfermedad pero sí a la función pancreática y resistencia
a la insulina ¿cuestión de tiempo?

en el 34º Congreso Nacional de Pediatría

Celebrado del 28 al 31 de Julio de 2015 en el World Trade Center, México D.F.

Dra. M. de la Luz Irujoeta Gámez
PRESIDENTA AMP

Dra. Patricia Salazar Simón
SECRETARIA AMP

Association of *SLC16A11*, *TCF7L2* and *ABCA1* Polymorphism with B-Cell Function, Insulin Resistance and Early Onset of Type 2 Diabetes. Question of Time or Modifiable Risk Factor by Obesity?

Miranda-Lora, A.¹; Molina-Núñez, M.¹; Cruz-López, M.²; Ramos-Huerta, S.¹; Gutiérrez-Correa, J.²; Káñider-Rodríguez, M.¹

¹ Hospital Infantil de México Federico Gómez, D.F., México; ² Unidad de Investigación Médica en Biocimaria - Hospital de Especialidades IMSSSS

Background: SNPs of risk for type 2 diabetes (T2D) are not always identified in early-onset, of the disease and there is insufficient information about its association with pre-diabetic disorders. The aim was to evaluate the association of SNPs of risk in T2D with the presence of the disease, b-cell function and insulin resistance in Mexican families with children and adolescents.

Methods: Case control study. Families of pediatric patients with T2D (99 index cases, 57 diabetic parents, 99 non-diabetic parents and 101 non-diabetic siblings) and families without the disease (65 children and 137 parents) were included. Four SNPs were genotyped: *SLC16A11* (rs13342232), *TCF7L2* (rs7903146 and rs12255372) and *ABCA1* (rs9252511). To test the association between SNPs and T2D, logistic regression was performed and for quantitative glycemic traits (fasting glucose, 2 h glucose, fasting insulin, 2 h insulin, glycosylated haemoglobin A1c, C-peptide, HOMA-IR and HOMA-B) linear regression was used, adjusting by age, gender and classification of body mass index (BMI).

Results: The rs13342232 was the only SNP associated with T2D in both adults (ORadj.usted 1.75, 95% CI 1.05-2.75, $p = 0.026$) and children (ORadj.usted 1.86, 95% CI 1.11-2.92, $p = 0.016$), with an increased risk heterozygous (ORadj.usted 4.11, 95% CI 1.46-11.56 in adults and ORadj.usted 3.07, 95% CI 1.67-16.52 in children). The *TCF7L2* and *SLC16A11* SNPs were associated with fasting insulin (rs13342232 $b = -1.04$, $p = 0.009$; rs7903146 $b = -1.1$, $p = 0.039$; C-peptide (rs13342232 $b = -0.25$, $p = 0.011$; rs7903146 $b = -0.25$, $p = 0.051$), HOMA-IR (rs13342232 $b = -0.24$, $p = 0.045$; rs7903146 $b = -0.33$, $p = 0.042$) and HOMA-B (rs13342232 $b = -13.34$, $p = 0.039$; rs12255372 $b = -22.21$, $p = 0.014$); however, when were adjusted by age, sex and BMI, only rs7903146 and rs12255372 maintained their association with levels of C-peptide ($b = -0.22$, $p = 0.035$) and HOMA-B ($b = -23.35$, $p = 0.005$) respectively.

Conclusions: The rs13342232 was identified as a risk for T2D in Mexican families of children and adolescents. Other SNPs previously associated with T2D, were not identified in these families, but were associated with b-cell function and insulin resistance. In some cases this association it lost when were adjusted by overweight and obesity, which points out the opportunity of preventing the development of disease in genetically susceptible individuals, while in others, the presence the early pancreatic function changes independently of BMI, suggest it's probably a matter of time for individuals at risk to develop the disease.

HLA-DRB1 Genotyping as a Tool of Screening Patients to Undergo Mody Genetic Study

Ortiz, I.¹; Martínez, P.¹; Aguirre, A.¹; González-Frutos, T.²; Velasco, T.³; Reca, V.¹; Castañeda, L.⁴; Spanish Group for the Study of MODY and T2DM

¹ CIBERDIAB, Instit. to de Investigacion Sanitaria Rio Cruces, Barakaldo, España, ² CIBERDIAB, Instituto de Investigación Sanitaria Rio Cruces, UPV/EHU, Barakaldo, España

Introduction: Type 1 diabetes (T1D) is an autoimmune disease characterized by the presence of susceptible HLA genotypes. At onset 9.5% patients have at least one positive diabetes autoantibody. Maturity-onset diabetes of the young (MODY) refers to a rare monogenic type of diabetes. Clinical diagnosis of MODY is difficult due to overlap with many clinical features of T1D and type 2 diabetes. In MODY patients appropriate molecular diagnosis is essential to improve glycaemic control by modification of current drug treatment and to allow genetic counseling. Nevertheless, genetic analysis is expensive and laborious, so selection of candidates to undergo genetic study is crucial.

Objective: Determine whether HLA-DRB1 genotyping is an appropriate tool to detect patients who undergo MODY genetic study.

Design: In total, 234 patients were typed at high resolution for HLA-DRB1 locus (PCR-SSO): 150 patients with a new onset of T1D (at least one positive diabetes autoantibody and mean age at diagnosis 8.8 ± 3.3 years) and 74 patients with a new onset of MODY (61 GCK-MODY and 13 HNF1A-MODY) and mean age at diagnosis 14.7 ± 6.5 years. Three HLA-genotype categories were considered: 0 risk alleles (no-D33, no DR4), 1 risk allele (DR3 or DR4) and 2 risk alleles (DR3/DR4 combinations). Statistical chi square test analysis was performed with software package SPSS (version 22) and Odds Ratio (OR, 95% CI) was calculated.

Results: Compared to T1D group, MODY patients carried significantly higher frequency of having 0 risk alleles (64.9% vs 7.5%, $p < 0.0001$); DR (3% vs 22.77 (1.07-48.6)) and lower significant frequency of 2 risk alleles (3.4% vs 48.1%, $p < 0.0001$, OR (95% CI) = 0.26 (0.02-0.38). Although the presence of only 1 risk allele was statistically significant, the difference was not enough to distinguish MODY and T1D clinically (29.7% vs 44.4%; $p = 0.03$, OR (95% CI) = 0.83 (0.29-0.96).

Conclusion: We suggest that molecular diagnosis should be performed in those patients on a compatible clinical suspicion of MODY who have negative autoimmunity, family history of diabetes and presence of none or one risk HLA-DRB1 alleles. Diagnosis of MODY is less likely when two HLA-risk alleles are present.





La Asociación Mexicana de Pediatría A.C. otorga el presente:

DIPLOMA

A: América Miranda-Lora, Mario Díaz-Molina, Miguel Cruz, Samuel Flores-Huerta,
Miguel Klünder-Klünder

COMO: **Presentación de trabajo libre titulado:**

Aumento del porcentaje de riesgo genética y factores hereditarios y ambientales con diabetes mellitus tipo 2 de inicio en la edad pediátrica

en la XVII Asamblea Mexicana de Pediatría
Celebrada del 27 al 29 de Julio de 2015 en el World Trade Center, Ciudad de México.

Dra. Ma. de la Luz Iracheta Gerez
PRESIDENTA AMP

Dra. Patricia Solhgeral Simental
SECRETARIA AMP



SMEP
2016

**SOCIEDAD MEXICANA DE
ENDOCRINOLOGÍA PEDIÁTRICA, A. C.**

OTORGA LA PRESENTE

CONSTANCIA

Miranda-Lora AL, Cruz-López M, Molina-Díaz M, Klinder-Klünder M.

Por la presentación del trabajo de investigación

Análisis de desequilibrio de transmisión de polimorfismos de un solo nucleótido asociados a diabetes mellitus tipo 2 de inicio en la edad pediátrica.

Durante el XVII Congreso Anual, celebrado del 24 al 27 de
Agosto de 2016 en la Ciudad de Campeche, México.



Dr. Manuel Castro Estrada
Vicepresidente SMEP

Dr. Margarito Torres Tomayo
Presidente SMEP

Dr. Blanca Estela Aguilar Herrera
Secretaria Ejecutiva SMEP

ANEXO 11. Publicaciones

DIABETES RESEARCH AND CLINICAL PRACTICE 145 (2017) 134–135



Contents available at ScienceDirect

Diabetes Research
and Clinical Practice

www.elsevier.com/locate/diabetes



International
Diabetes
Federation



Heritability, parental transmission and environment correlation of pediatric-onset type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome-related traits



América L. Miranda-Lara^a, Jenny Vilchis-Gil^b, Mario Molina-Díaz^c, Samuel Flores-Huerta^b, Miguel Klünder-Klünder^{b,d,*}

^a Research Unit of Medicine Based on Evidence, Hospital Infantil de México Federico Gómez, Mexico City, Mexico

^b Community Health Research Department, Hospital Infantil de México Federico Gómez, Mexico City, Mexico

^c Department of Endocrinology, Hospital Infantil de México Federico Gómez, Mexico City, Mexico

^d Research Committee, Latin American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (LASPGHAN), Mexico City, Mexico

ARTICLE INFO

Article history:

Received 19 August 2016

Received in revised form

27 December 2016

Accepted 2 February 2017

Available online 10 February 2017

Keywords:

Type 2 diabetes mellitus

Metabolic syndrome

Children

Heritability and environment

ABSTRACT

Aim: To estimate the heritability, parental transmission and environmental contributions to the phenotypic variation in type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome-related traits in families of Mexican children and adolescents.

Methods: We performed a cross-sectional study of 784 tri-generational pedigrees with a total of 2180 individuals 99 families with a type 2 diabetes mellitus proband before age 19). The family history of type 2 diabetes mellitus in three generations was obtained by interview. Demographic, anthropometric, biochemical and lifestyle information was corroborated in parents and offspring. We obtained correlations for metabolic traits between relatives pairs, and variance components methods were used to determine the heritability and environmental components.

Results: The heritability of early-onset type 2 diabetes mellitus was 0.50 ($p < 5 \times 10^{-7}$). The heritability was greater than 0.5 for hypertension, hypertriglyceridemia, hypercholesterolemia, body mass index, waist circumference, blood pressure, 2-h insulin, and cholesterol ($p < 0.001$). In contrast, we observed a high environmental contribution (40–50) for blood pressure, HDLc, and HDLc-cholesterol after and metabolic adjustment ($p < 0.05$). Several traits, such as type 2 diabetes mellitus and insulin resistance, were significantly correlated only through the mother and others, such as hyperglycemia, were significantly correlated only through the father.

Conclusion: This study demonstrates that type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome related traits are highly heritable among Mexican children and adolescents. Furthermore, several environmental factors are among heritability and/or high environmental contributions that highlight the complex architecture of these alterations.

© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

* Corresponding author at: Dr. Márquez 252, Col. Doctores, Del. Cuauhtémoc, C.P. 06720 México, D.F., Mexico.

E-mail address: klunder@gmail.com (M. Klünder-Klünder).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.diabetes.2017.02.005>

0168-8227/© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

The prevalence rates of obesity, metabolic syndrome (MS) and type 2 diabetes mellitus (type 2 DM) have increased worldwide over the past decades. In Mexico, approximately 70% of adults and 34.4% of children (5–11 y) are overweight or obese, of which 26.6% and 20% have MS, respectively, and 9.1% of adults have diabetes [1]. Despite an increase in the incidence of childhood type 2 DM, its prevalence remains unknown. Nevertheless, it is expected that the increase will parallel the observed increases in the number of children who are overweight or obese.

Many studies identified environmental factors, including physical inactivity and caloric excess, that contribute to the pathogenesis of these diseases. Moreover, there is evidence that genetics plays an important role in these diseases [2]. The highest prevalence occurs in certain risk populations, and the family aggregation and heritability (h^2) support the involvement of genetic factors in these types of diseases. However, distinct populations exhibit different levels of genetic involvement, and the estimates of h^2 for type 2 DM are between 0.20 and 0.80 [3]. Moreover, there are differences in the heritability of other cardiometabolic factors between ethnic groups [4].

Most of the information about the genetic components of these complex diseases is derived from studies in adults, with little information on pediatric patients. The h^2 is not necessarily extrapolate from adults to children because the genetic and environmental contributions may be different over a lifetime. Specifically, the genetic contribution may be higher when these complex diseases affect a younger population [2].

One problem encountered when assessing the importance of genetic factors is that families also share environmental factors. This correlation can underlie any observed increase in disease prevalence among family members. Therefore, is important to include environmental factors in the estimation of h^2 , which has been a weakness in other studies.

The genetic architecture and environmental contributions to childhood type 2 DM and MS are poorly delineated, and less is known about Mexican youth. Therefore, the objective of the present study was to estimate the heritability, parental transmission and environmental contributions to the phenotypic variation in type 2 DM and MS related traits in families of Mexican children and adolescents.

2. Materials and methods

2.1. Subjects

This manuscript reports on a family based cross sectional study. We analyzed 99 families selected based on a proband with type 2 DM between ages 8 and 19 y who attended the Diabetes Clinic at Mexico's Children's Hospital Federico Gómez. We also included 85 population based families of children and adolescents without type 2 DM, requesting the participation of friends, neighbors or family acquaintances. These families were considered for the analysis because they contribute to the evaluation of covariate effects and they have

no family relationship with the proband's families. All families live in the Mexico City metropolitan area, and the past three generations were born in Mexico. The Research, Ethics, and Biosafety committees of the Mexico's Children's Hospital Federico Gómez approved this study. The enrolled children and parents gave written informed assent and consent.

2.2. Phenotype and covariate data

Phenotypic assessments were conducted at the hospital. We obtained family pedigree tri-generational information about demographic and medical histories by directly questioning the parents. The data available from the grandparents is age, sex and medical history of diabetes and other chronic diseases. Anthropometric, biochemical measurements, fitness, physical activity and food frequency consumption information were obtained for parents and offspring.

Both members of the families, with and without type 2 DM, underwent the same phenotypic assessment, except for the oral glucose tolerance test, which it was not performed in participants with type 2 DM.

2.2.1. Anthropometric measures

Trained personnel performed the anthropometric measurements, and patients were measured without shoes and while wearing light clothing. The weight was measured using a digital scale (Seca® 884, Hamburg, Germany) with 0.1 kg accuracy. The height was evaluated with a stadiometer (Seca® 225, Hamburg, Germany) with 0.1 cm precision. The waist circumference (WC) was measured at the end of exhalation with non elastic flexible tape in the nearest 0.1 cm (Seca® 200, Hamburg, Germany) in standing position at the midpoint between the lower costal border and the iliac crest. The blood pressure was measured with a mercury sphygmomanometer in the right arm supported at heart level after being seated for 5 min with the appropriate cuff size. Using the first and fifth Korotkoff sounds, blood pressure was recorded three times to the nearest 2 mmHg and the mean value was calculated.

2.2.2. Blood samples

A blood sample after 12 h fasting was obtained to determine the following parameters: glucose (hexokinase method, Dimension RXL MAX, Siemens), insulin (chemiluminescence, IMMULITE 1000, Siemens, Euro, DPC, Llanberis, UK), C-peptide (chemiluminescence, IMMULITE 1000, Siemens Euro, DPC, Llanberis, UK), HbA1c (Dimension RXL MAX Siemens immunoassay), total cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol (HDL-cholesterol) and triglycerides (Hitachi 902 analyzer, Hitachi, Ltd., Tokyo, Japan). Low-density lipoprotein cholesterol (LDL-cholesterol) levels were obtained per the Friedewald formula (LDL-cholesterol = total cholesterol in mg/dL - HDL-cholesterol in mg/dL - triglycerides in mg/dL/5). The homeostatic model assessment-insulin resistance (HOMA-IR) index was calculated as ((fasting glucose in mg/dL × fasting insulin in mU/mL)/405). In participants without diabetes, an oral glucose tolerance test (OGTT) with 1.75 g/kg anhydrous glucose (up to 75 g) with glucose and insulin measurements at 2-h was performed.

2.2.3. Metabolic traits

- **Obesity:** A body mass index (BMI) ≥ 30 kg/m² in adults and ≥ 95 th percentile in children and adolescents.
- **Abdominal obesity:** A WC > 90 cm in men, > 80 cm in women and ≥ 90 th percentile in children and adolescents according to national data [5].
- **Impaired fasting glucose (only in participants without diabetes),** determined as a fasting glucose ≥ 100 mg/dL.
- **Type 2 DM:** The diagnosis required the following criteria: 1. previous diagnosis and/or OGTT according to American Diabetes Association criteria; 2. Absence of anti-glutamic acid decarboxylase and anti-insulin antibodies; 3. no family history of maturity onset diabetes of the young (MODY); and 4. C-peptide levels ≥ 0.45 ng/mL.
- **Hypertension:** For adults, a blood pressure $\geq 130/85$ mmHg or hypertension medical treatment. In children, it was defined as a systolic or diastolic blood pressure at or above the 90th percentile for age, sex and height.
- **Hypolipidipoproteinemia:** HDL cholesterol ≤ 40 mg/dL in men, ≤ 50 mg/dL in women and ≤ 40 mg/dL in children and adolescents.
- **Hypercholesterolemia:** Total cholesterol ≥ 200 mg/dL.
- **Insulin resistance (IR) (only in participants without type 2 DM):** HOMA-IR > 3.16 was used to identify IR.
- **Hypertriglyceridemia:** Serum triglycerides ≥ 150 mg/dL.
- **MS:** It was defined as the presence of three or more of the following criteria: abdominal obesity, hypertension, impaired fasting glucose, hypertriglyceridemia and hypolipidipoproteinemia.

2.2.4. Environmental factors

Dietary intake was assessed using an adapted version of the semi-quantitative food frequency questionnaire (FFQ) for information from the previous month. As support material,

the interviewer used food replicas to standardize the types and amounts of the main food groups consumed by the participants. The questionnaire contained 119 food items classified into 13 groups. The participants' food intake per day was estimated, and the amount of food consumed was calculated in terms of units of measurement (e.g., piece, cup, plate, or spoon) and size of the unit (i.e., small, medium, or large). For the analysis, the frequencies of consumption were calculated in grams or milliliters ingested per day for each of 119 food items. Nutrient analysis was performed with the Food Processor software (version 10.10, 2012, ESHA Research Inc, Salem, OR), which includes Mexican foods. The percentages of adequate energy and macronutrient intake were calculated using the recommendations for Mexican populations.

Physical activity was estimated with a questionnaire. Participants answered questions about intensity, frequency and duration of their physical activities over one week. Standard procedures were performed using continuous scales of energy expenditure expressed as metabolic equivalents (MET/minutes/day). One MET corresponds to 3.5 ml O₂/kg⁻¹/min⁻¹.

We evaluated fitness using a modified Harvard Step test. The test consists of stepping onto and off (both feet) of a stool 30 cm high, 42 cm wide and 38 cm deep for 5 min at 30 cycles per minute. Heart rates were recorded at 0, 1 and 2 min after the participants completely finished the exercise or stopped the exercise prematurely. The physical fitness score was calculated from the total seconds of exercise multiplied by 100 and divided by the sum of the 3 heart rate values [6].

2.3. Statistical analysis

We utilized STATA (version 11.0; STATA Corp, College Station, TX) for database management and descriptive statistical analysis. Demographic, clinical and biochemical variables are summarized as the means, standard deviations and proportions.

Table 1 – Distribution of relative pairs.

Relationship type	Grandparents, parents and offspring			Distribution without grandparents		
	Families with type 2 DM members (n = 99)	Families without type 2 DM members (n = 85)	All families (n = 184)	Families with type 2 DM members (n = 99)	Families without type 2 DM members (n = 85)	All families (n = 184)
Father-Son	112	69	181	55	52	107
Mother-Son	142	89	231	53	54	107
Father-Daughter	132	83	215	71	53	124
Mother-Daughter	149	100	249	70	55	125
Brother-Brother	2/	29	56	1/	1/	34
Sister-Brother	53	42	95	37	27	64
Sister-Sister	40	29	69	37	21	58
Mother-Father	157	119	276	57	55	112
Grandfather through Father-Grandson	33	34	67	–	–	–
Grandmother through Father-Grandson	30	37	67	–	–	–
Grandfather through Mother-Grandson	54	38	92	–	–	–
Grandmother through Mother-Grandson	48	47	95	–	–	–
Grandfather through Father-Granddaughter	43	32	75	–	–	–
Grandmother through Father-Granddaughter	38	3/	75	–	–	–
Grandfather through Mother-Granddaughter	56	34	90	–	–	–
Grandmother through Mother-Granddaughter	43	50	93	–	–	–

Table 2 – Clinical and biochemical characteristics of participants.

	Mothers (n = 173)	Fathers (n = 122)	Daughters (n = 175)	Sons (n = 174)
Age (y)	40.4 ± 6.3	42.6 ± 7.8	33.9 ± 4.5	34.3 ± 4.2
Weight (kg)	71.1 ± 14.5	82.6 ± 16.8	56.9 ± 17.7	65.4 ± 23.7
Height (cm)	154.7 ± 6.1	166.5 ± 7.2	150.5 ± 12.0	159.8 ± 13.8
BMI (kg/m ²)	29.8 ± 5.8	30.0 ± 5.7	24.7 ± 5.5	25.2 ± 5.5
WC (cm)	93.9 ± 12.7	99.1 ± 12.4	81.5 ± 14.8	85.2 ± 17.0
SBP (mmHg)	69.2 ± 11.3	74.2 ± 13.2	60.6 ± 10.1	63.0 ± 11.4
DBP (mmHg)	105.7 ± 15.8	111.3 ± 19.1	94.0 ± 13.6	96.9 ± 16.1
Fasting glucose (mg/dL)	121.3 ± 68.3	111.6 ± 57.5	107.4 ± 53.3	104.6 ± 46.7
2 h glucose (mg/dL) ^a	116.8 ± 38.4	112.1 ± 47.1	101.3 ± 33.6	98.3 ± 22.4
HbA1c (%)	6.9 ± 2.3	6.6 ± 2.5	6.6 ± 2.7	7.1 ± 4.4
HbA1c (mmol/mol)	52 ± 25.7	49 ± 27.2	51 ± 29.4	54 ± 46.5
Fasting insulin (mIU/mL)	8.8 ± 6.3	8.9 ± 7.5	11.6 ± 15.9	11.0 ± 10.7
2 h insulin (mIU/mL) ^a	64.5 ± 53.9	56.3 ± 55.0	63.2 ± 51.5	49.3 ± 55.5
C-peptide (ng/dL)	2.6 ± 1.2	3.0 ± 2.3	2.5 ± 1.2	2.6 ± 2.1
HOMA-IR	2.5 ± 2.2	2.3 ± 1.8	3.1 ± 4.2	3.0 ± 3.7
Total cholesterol (mg/dL)	196.3 ± 40.8	197.8 ± 36.9	165.4 ± 35.3	158.8 ± 34.8
HDL cholesterol (mg/dL)	47.1 ± 12.2	41.0 ± 10.9	44.5 ± 10.8	43.9 ± 11.7
LDL cholesterol (mg/dL)	120.0 ± 34.7	118.6 ± 30.3	99.2 ± 28.9	94.0 ± 27.0
Triglycerides (mg/dL)	179.0 ± 171.6	209.4 ± 182.8	125.1 ± 84.0	138.6 ± 115.2
% of diet adequacy	101.0 ± 50.2	111.1 ± 57.2	109.0 ± 59.8	112.4 ± 71.2
% Dietary protein	16.2 ± 2.7	15.4 ± 3.2	15.8 ± 3.2	15.7 ± 3.8
% Dietary lipids	27.2 ± 7.4	26.9 ± 6.9	29.9 ± 6.3	29.2 ± 8.3
% Dietary carbohydrates	57.6 ± 7.8	58.6 ± 8.4	55.0 ± 6.9	53.2 ± 9.3
Fitness score	65.2 ± 29.2	60.1 ± 27.9	66.2 ± 21.4	76.8 ± 22.6
Metabolic disorders (%)				
T2D	31.0	18.2	29.3	32.2
Impaired fasting glucose ^b	24.6	23.5	5.7	16.1
Obesity	43.4	38.8	31.4	37.9
Abdominal obesity	66.4	43.5	29.9	27.3
Hypertriglyceridemia	43.4	67.2	26.1	28.2
Hypercholesterolemia	35.8	50.8	17.6	14.4
Hypolipoproteinemia	25.4	49.2	35.2	38.5
Insulin resistance	17.1	23.5	16.4	25.9
Hypertension	7.5	13.9	8.0	10.9
Metabolic syndrome	13.9	31.4	13.8	16.1

WC: waist circumference, SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure, type 2 DM: type 2 diabetes mellitus. Values are means (SD) or % as specified.

^a Only in participants without diabetes.

To estimate familial correlations, h^2 and environmental correlations (c_e), we used the procedures FOCOR and ASSOC of the Statistical Analysis for Genetic Epidemiology (S.A.G.E.) package. Quantitative and dichotomous metabolic traits were considered.

FOCOR calculates familial correlations for all relative pair types available in a set of pedigrees. The covariance between any two correlations estimates whether it is available, testing whether any two correlations are significantly different.

The heritability of type 2 DM was estimated using the h^2 index, which represents the proportion of phenotypic variation that is attributable to genetic factors. This estimation was performed by ASSOC to analyze the association between continuous and/or binary traits and covariates from pedigree data in the presence of familial correlations. ASSOC is based on a linear mixed model, and the parameters are estimated by the maximum likelihood method. The variance is partitioned into the sum of an additive polygenic component (h^2), a sibling/marital component (environmental variance

proportion) and the individual specific random component. ASSOC also calculate the environmental intra-class correlations (c_e) and it could be interpreted like any other correlation coefficient. Heritability estimates were calculated by adjusting for age, sex, BMI, type 2 DM status, fitness score, physical activity, % dietary adequacy, % dietary carbohydrates and % dietary lipids as covariates, depending on the phenotype tested. The significance threshold was set at $p < 0.05$.

3. Results

We included 184 tri-generational pedigrees with a total of 1160 individuals. These pedigrees generated 2026 relative pairs, and the distribution of relative pair categories is shown in Table 1.

Descriptive statistics for demographic, clinical and biochemical characteristics of the parents and offspring are summarized in Table 2. Additionally, we analyzed data from grandparents ($n = 515$) (data not shown).

Table 3 – Correlation of type 2 diabetes mellitus and selected metabolic traits between relative pairs.

Trait	Parent-offspring (163 pairs)	Mother-Daughter (125 pairs)	Mother-son (107 pairs)	Father-Daughter (124 pairs)	Father-son (107 pairs)	Sibling-sibling (158 pairs)	Sister-father (112 pairs)
BMI (kg/m ²)	0.352 ^a	0.307 ^b	0.305 ^b	0.295 ^b	0.275 ^b	0.449 ^a	0.126
WC (cm)	0.251 ^a	0.309 ^b	0.305 ^b	0.114	0.238 ^a	0.352 ^a	0.203 ^a
SBP (mmHg)	0.402 ^a	0.507 ^a	0.518 ^a	0.286 ^a	0.365 ^a	0.513 ^a	0.324 ^a
DBP (mmHg)	0.516 ^a	0.557 ^a	0.58 ^a	0.472 ^a	0.51 ^a	0.423 ^a	0.61 ^a
Fasting glucose (mg/dl)	0.214 ^a	0.072	0.4 ^a	0.069	0.54 ^a	-0.052	0.229 ^a
2 h glucose (mg/dl)	0.071	0.514 ^a	0.189	0.005	0.241	0.219 ^a	0.098
HbA1c (mmol/mol)	0.182 ^b	0.11	0.142 ^b	0.267 ^b	0.221	-0.058	0.293 ^b
Fasting insulin (mU/ml)	0.210 ^a	0.109	0.27 ^a	0.415 ^a	-0.08	0.132	0.028
2 h insulin (mU/ml)	0.215 ^a	0.109	0.27 ^a	0.287 ^a	0.111	-0.008	0.389 ^a
C-peptide (ng/dl)	0.100	0.107	0.108	0.068	0.065	0.153	-0.077
HOMA-IR	0.162 ^a	0.184	0.098	0.106	0.229	0.02	0.022
Total cholesterol (mg/dl)	0.305 ^a	0.311 ^a	0.427 ^a	0.185	0.367 ^a	0.2	0.166
HDL cholesterol (mg/dl)	0.385 ^a	0.33 ^a	0.405 ^a	0.426 ^a	0.373 ^a	0.373 ^a	0.31
LDL cholesterol (mg/dl)	0.284 ^a	0.228 ^a	0.433 ^a	0.129	0.365 ^a	0.329 ^a	0.088
Triglycerides (mg/dl)	0.16 ^a	0.233 ^a	0.18	0.049	0.188	0.066	0.044
% Diet adequacy	0.185 ^b	0.161	0.151	0.272 ^a	0.197 ^a	0.052	0.193 ^a
% Dietary lipids	0.563 ^a	0.598 ^a	0.576 ^a	0.519 ^a	0.538 ^a	0.583 ^a	0.485 ^a
% Dietary carbohydrates	0.438 ^a	0.437 ^a	0.487 ^a	0.373 ^a	0.413 ^a	0.431 ^a	0.347 ^a
Fructose core	0.41 ^a	0.531 ^a	0.468 ^a	0.456 ^a	0.413 ^a	0.266 ^a	0.421 ^a
Type 2 DM (%)	0.192 ^a	0.294 ^a	0.343 ^a	-0.004	0.143	-0.183 ^a	0.059
Impaired fasting glucose (%) ^b	0.195 ^a	0.207 ^a	0.195 ^a	0.157	0.243 ^a	0.346 ^a	0.278 ^a
Obesity (%)	0.070	0.209 ^a	0.102 ^a	0.269 ^a	0.058 ^a	0.256 ^a	0.06
Abdominal obesity (%)	0.142 ^a	0.088	0.104	0.171	0.115	0.158	0.257 ^a
Hypertension (%)	0.087 ^a	-0.016	0.141	0.141	0.243 ^a	0.106	0.05
Hypertension (mmHg)	0.250 ^a	0.196 ^a	0.264 ^a	0.208 ^a	0.324 ^a	0.247 ^a	0.053
Hypertension (mmHg)	0.302 ^a	0.271 ^a	0.252 ^a	0.372 ^a	0.356 ^a	0.275 ^a	0.182
Insulin resistance (%)	0.172 ^a	0.306 ^a	0.115	0.039	0.169	0.101	-0.018
Hypertension (%)	0.33 ^a	0.281 ^a	0.41 ^a	0.329 ^a	0.321 ^a	0.053	0.263 ^a
Metabolic syndrome (%)	0.214 ^a	0.151	0.268 ^a	0.288 ^a	0.316 ^a	0.278 ^a	0.196

^a Only in participants without diabetes.^b p < 0.05.^c p < 0.01.^d p < 0.001.

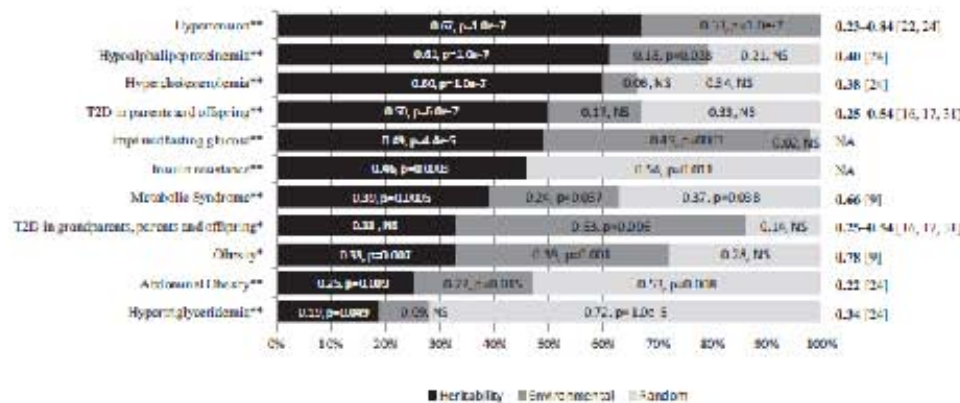


Fig. 1 – Components of variance for type 2 diabetes mellitus and related metabolic traits. *Adjusted for age and sex. **Adjusted for age, sex, BMI (except obesity, abdominal obesity and metabolic syndrome), fitness score, % diet adequacy, % dietary carbohydrates and % dietary lipids, physical activity in METs, and type 2 DM status (except type 2 DM). ***Only studies with at least some participants younger than 19 y and/or studies in a Hispanic population. NA: Not available.

Table 3 shows intra-class correlations for spouses, siblings and parent-offspring relationships. Significant weak or moderate correlation coefficients were observed between genetically related pairs but not for genetically unrelated individuals (spouses) for variables such as BMI, 2 h glucose, fasting insulin, HOMA-IR, total-cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides, IR, obesity, hypercholesterolemia, hypolipoproteinemia, type 2 DM and MS ($p < 0.05$). For variables such as 2 h glucose, triglycerides, type 2 DM and IR, the correlations were significant only with the mother, whereas hypertriglyceridemia was significant only with the father. Except for C-peptide levels, most of the remaining variables had significant correlations in genetically related and non-genetically related individuals, including environmental vari-

ables (% diet adequacy, and fitness). When we analyzed the correlation of type 2 DM with grandparents, the correlation was significant only between the maternal grandmother and the grandchildren ($r = 0.383$, $p < 0.001$; data not shown).

In Fig. 1, we show the proportion of variance of the dichotomous variables that are explained by h^2 (polygenic), environmental or random effects. Significant h^2 estimates ranged from 0.19 to 0.57 ($p < 0.05$), with the highest h^2 for hypertension.

We observed that the h^2 of type 2 DM was not significant when we included grandparents in the analysis ($h^2 = 0.33$, $p = 0.13$) in contrast to the result when we included only parents and offspring ($h^2 = 0.50$, $p < 5.0e-5$). Furthermore, the variance proportion explained by environmental factors was

Table 4 – Heritability and environmental correlation estimates of metabolic quantitative traits.

Trait	h^2 ^a	p	r_e	p	h^2 reported by other authors ^b
BMI (kg/m ²)	0.579	<1.0e-7	0.557	0.16	0.22–0.72 [7–10,12,17,20,26–28]
WC (cm)	0.557	<1.0e-6	0.418	0.15	0.17–0.74 [7–10,12,17,24,26–29]
SBP (mmHg)	0.774	<1.0e-7	0.689	0.02	0.18–0.66 [7–10,12,17,20,25–29]
DBP (mmHg)	0.647	<1.0e-7	0.983	<1.0e-7	0.17–0.64 [7–10,12,17,20,25–29]
Fasting glucose (mg/dl)	0.328	0.01	0.375	0.12	0.17–0.52 [7,9,10,12,17,20,25–28]
2 h glucose (mg/dl) ^c	0.244	0.05	0.419	0.02	0.15–0.24 [9,17,20]
HbA1c (% mmol/mol)	0.088	0.18	0.845	<1.0e-7	0.10–0.59 [17,28,29]
Fasting insulin (mIU/ml)	0.420	<0.003	0.096	0.72	0.25–0.65 [7–9,12,17,20,27–29]
2 h insulin (mIU/ml) ^c	0.585	1.7e-4	0.100	0.78	0.14–0.34 [9,17,20]
C-peptide (ng/dl)	0.198	0.18	0.546	0.08	0.72 [9]
HOMA-IR	0.045	0.40	0.017	0.92	0.25–0.61 [9,10,17,27,28]
Total cholesterol (mg/dL)	0.607	<1.0e-7	0.401	0.19	0.33–0.73 [4,7,9,10,12,17,20,26,28–30]
HDL cholesterol (mg/dL)	0.754	<1.0e-7	0.779	0.008	0.30–0.83 [4,7,9,10,12,17,20,28–30]
LDL cholesterol (mg/dL)	0.563	<1.0e-6	0.199	0.41	0.40–0.61 [4,9,10,12,17,20,26,28–30]
Triglycerides (mg/dl)	0.269	0.02	0.050	0.60	0.27–0.77 [4,7,9,10,12,17,20,25–30]

^a h^2 : Heritability; r_e : Environmental correlation.
^b Adjusted for age, sex, BMI (except BMI and WC), type 2 DM status, fitness score, physical activity, % diet adequacy, % diet carbohydrates and % diet lipids.
^c Only studies with at least some participants younger than 19 y and/or studies in a Hispanic population.
^d Only in participants without diabetes.

significant when we included grandparents in the analysis (0.53, $p = 0.006$) as opposed to the proportion without them (0.17, $p = 0.05$).

A significant environmental variance proportion was found for hypertension, hypoalbuminemia, impaired fasting glucose, MS, obesity and abdominal obesity, which explain 33%, 18%, 49%, 24%, 39% and 22%, respectively, of the phenotypic variance ($p < 0.05$).

Estimates of h^2 and r_e of the quantitative traits are shown in Table 4. The h^2 value was high (>0.5) for BMI, WC, systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), total cholesterol, HDL cholesterol and LDL cholesterol, which indicate that more than half of the type 2 DM phenotypic variation is explained by genetic factors. The h^2 value was moderate (≥ 0.3 – <0.5) for fasting glucose, fasting insulin and 2-h insulin and low (<0.3) for triglycerides. The h^2 values for the 2-h glucose, HbA1c, C-peptide, HOMA-IR were not significant. Significant r_e values ($r_e > 0.41$, $p < 0.05$) were found for blood pressure, 2-h glucose, HbA1c and LDL-cholesterol.

4. Discussion

In family studies it is difficult to determine the extent to which the observed familial aggregation of type 2 DM and MS is explained by genetic predisposition and/or shared environmental factors. Failure to control environmental risk factors when examining familial clustering was a common weakness of previous studies. In the present study, we overcame this problem by measuring environmental variables, such as physical activity, fitness and dietary habits.

Similarly, although several adult genetic studies of type 2 DM and MS using family data were conducted, there are few comparable studies in pediatric populations [7–9]. Additionally, this study is of special interest because to our knowledge, no studies have established the heritability of type 2 DM in children, who have less aging-related influence for this complex disease as adults.

We observed significant correlations in most of the cardiometabolic traits between relatives who are related and those who are not related by blood, which were observed by other authors [10–12]. Because spouses are not related by blood, for traits that have variability attributable to genetic effects, spousal correlations should not exist. However, in our study, many of the spousal correlations were significant and with similar magnitude to the parent–child correlations, suggesting importance of the environmental influences to which families are exposed. Specifically, for type 2 DM, we found a significant correlation only through the mother. Evidence exists that this risk is greater when the mother, not the father, has type 2 DM [13], although there are reports in which parental associations have not been demonstrated [14]. Some genetic variants showed stronger effects on type 2 DM when the risk allele is transmitted from the mother than from the father because the intrauterine environment, primarily due to maternal nutrition, has an important role on both: fetal programming and genomic imprinting [15]. These data support the hypothesis that epigenetic changes may play a role in type 2 DM development.

A negative correlation between siblings for type 2 DM is surprising. It would be unlikely to think that family awareness of having an affected member protects the other members of the family. Rather, we consider that this finding could be explained in part for the age of the offspring, and possibly, when they reach a higher age, this correlation becomes positive overtime. Another explanation could be a greater genetic susceptibility in affected children that favored the development of an early presentation in counterpart to their siblings who may have a lower genetic susceptibility profile. Approximately 30% of the pediatric patients with type 2 DM in our study did not have an affected parent, which it could also contribute to the negative correlation. Weijnen, et al. observed that the risk in siblings of index cases without a history of diabetes in a parent was similar to that in the general population, suggesting that genetic factors contributed to the occurrence of diabetes in only a minority of these siblings. They reported elevated recurrence risk ratios only in families with one or two parents with diabetes; this indicates that susceptibility to type 2 DM is transmitted primarily through an affected parent [16].

We found more evidence for genetic factors rather than an environmental component influencing the presence of hypertension, hypoalbuminemia, hypercholesterolemia and type 2 DM in young subjects ($h^2 > 0.50$). In contrast, we observed similar contributions of genetic and environmental factors for impaired fasting glucose, IR, MS, obesity and abdominal obesity, whereas there was a greater contribution of environmental factors to type 2 DM when we included young and old people. The observation of a lesser h^2 when older people were included was also observed by Almgren et al., who reported a h^2 for type 2 DM of 0.50 when they included 16–50 y individuals vs. 0.27 when they included 16–75 y individuals [17]. This result further indicates the importance of genetic heritage, particularly at an early age at onset of complex diseases in which the genetic contribution is high.

For quantitative traits, we observed a high h^2 (>0.50) in BMI, WC, blood pressure, 2-h insulin, total-cholesterol, HDL-cholesterol and LDL-cholesterol, but for most of these factors, we also observed a significant r_e . This result suggests that both genetic and environmental factors influence these metabolic outcomes, although with different magnitudes and possibly through different pathophysiological mechanisms, with a particular susceptibility in Mexicans youth.

There are ~75 papers in MEDLINE reporting the h^2 of type 2 DM and MS related traits. Comparisons of h^2 estimates with other studies are difficult due to heterogeneity among the studies, such as design, characteristics of the participants (i.e., age and ethnic group), methods of parameter assessment and the inclusion of covariates, such as environmental factors and type 2 DM status. We found 7 articles that included a Hispanic population [7,9,18–22], 16 studies that included participants younger than 19 y [4,7–10,12,17,20,23–30], and only 3 studies focused on children (pre-pubertal patients) [7–9]. Of the studies involving children, only one included environmental factors as covariates [7], and none evaluated the h^2 of type 2 DM.

In Fig. 1 and Table 4, we compared our results with publications that included a Hispanic population and/or participants younger than 19 y. Most of the h^2 estimates in the

present study are in the range of estimates from other populations. However, the major differences were higher estimates of h^2 for blood pressure and 2-h insulin and lower h^2 for triglyceride levels. Surprisingly, and in contrast to other studies, we found no significant h^2 in levels of C-peptide, HbA1c or HOMA-IR.

Although genetic factors may be responsible for a large proportion of the variation in several analyzed traits, our results also suggest the involvement of environmental factors, which unlike genetic factors, can be modified to reduce the risk of cardio-metabolic diseases. Therefore, due to the familial aggregation of type 2 DM and metabolic related traits, family-based lifestyle interventions may be useful for health promotion in our population.

The genetic contribution to type 2 DM and MS related traits in relation to the number and identity of these specific genes and the mechanism by which they are involved in these effects remain unknown. Genome-wide association studies and meta-analyses determined that the most strongly associated genetic variants to type 2 DM account for only approximately 10% of familial aggregation of the disease [31]. However, because of the high h^2 of type 2 DM and other metabolic traits, the study of these families will help identify genes associated with these disorders in young Mexican populations. Further studies are necessary to investigate specific genetic factors related to type 2 DM and MS-related traits in this population considering shared environmental factors.

With regard to limitations, we did not include all family members in the study, and we only corroborated anthropometric, lifestyle and biochemical parameters in parents and offspring. Furthermore, measurement of physical activity, fitness and dietary intake is only a proxy for the environmental contribution.

On the other hand, even the number of cases of pediatric onset type 2 DM has increased, its prevalence continues being low. For that reason, another limitation of the study could be the size of the sample, requiring future studies that validate our results. The low number of cases with type 2 DM in the pediatric age makes it difficult to reach adequate statistical power for the analysis of genome-wide association studies.

In conclusion, we clearly demonstrated that type 2 DM and MS-related traits have a strong familial basis among Mexican children and adolescents, as well as gender differences, with traits of mothers more likely than those of fathers to have a type 2 DM correlation. Several cardiometabolic factors have strong h^2 and/or high r_s contributions that highlight the complex architecture of these alterations. A better understanding of genetic and environmental contributions may help in designing prevention and care strategies for our population.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interests related to this manuscript.

Funding

The Mexican Federal Funds HIM 2011/01/ and HIM 2014/041 supported this work.

Acknowledgments


Some of the results of this paper were obtained using the S.A. G.I. program package, which is supported by a U.S. Public Health Service Resource Grant (R030665) from the National Center for Research Resources.

REFERENCES

- [1] Gutiérrez P et al. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados Nacionales. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública; 2012.
- [2] Langenberg C et al. Gene–lifestyle interaction and type 2 diabetes: the EPIC Interact case-cohort study. *PLoS Med* 2014;11(5):e1001647.
- [3] Ali G. Genetics of type 2 diabetes. *World J Diabetes* 2013;4(4):114–23.
- [4] Woo JG et al. Genetic architecture of lipid traits changes over time and differs by race: Princeton Lipid Follow-up Study. *J Lipid Res* 2014;55(7):1515–24.
- [5] Klinder-Klinder M, Flores-Huerta S. Waist circumference values according to height percentiles: a proposal to evaluate abdominal obesity in Mexican children and adolescents between 6 and 16 years of age. *Arch Med Res* 2011;42(6):515–22.
- [6] Treviño RP et al. Impact of the Sincronía school-based diabetes mellitus prevention program on fasting capillary glucose levels: a randomized controlled trial. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2006;158(9):911–7.
- [7] Butte NF et al. Viva la Familia Study: genetic and environmental contributions to childhood obesity and its comorbidities in the Hispanic population. *Am J Clin Nutr* 2005;84(3):646–54.
- [8] Beardsall K et al. Heritability of childhood weight gain from birth and risk markers for adult metabolic disease in prepubertal twins. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94(10):3703–13.
- [9] Fowler SP et al. Genetic epidemiology of cardiometabolic risk factors and their clustering patterns in Mexican American children and adolescents: the SAGARI Study. *Hum Genet* 2013;132(9):109–21.
- [10] Chien KL et al. Familial aggregation of metabolic syndrome among the Chinese: report from the Chin-Shan community family study. *Diabetes Res Clin Pract* 2007;75(2):418–24.
- [11] Lee KE, Klein BE, Klein R. Familial aggregation of components of the multiple metabolic syndrome in the Framingham Heart and Offspring Cohorts: genetic analysis workshop, problem 1. *BMC Genet* 2009;31(4).
- [12] Lin CC et al. Heritability of cardiovascular risk factors in a Chinese population—Taichung Community Health Study and Family Cohort. *Atherosclerosis* 2014;235(2):488–95.
- [13] Fujisawa T et al. Common genetic basis between type 1 and type 2 diabetes mellitus indicated by interview-based assessment of family history. *Diabetes Res Clin Pract* 2004;66(1):S91–5.
- [14] Kim DJ et al. Lack of excess maternal transmission of type 2 diabetes in a Korean population. *Diabetes Res Clin Pract* 2004;65(2):117–24.
- [15] Fasad BB, Group L. Genetics of type 2 diabetes – pitfalls and possibilities. *Genes* 2015;6(1):87–123.
- [16] Weijnen CF et al. Risk of diabetes in siblings of index cases with Type 2 diabetes: implications for genetic studies. *Diabet Med* 2002;19(1):45–50.

- [17] Almgren P et al. Heritability and familiarity of type 2 diabetes and related quantitative traits in the Boronia Study. *Diabetologia* 2011;54(1):281–5.
- [18] Duggirala R et al. Linkage of type 2 diabetes mellitus and of age at onset to a genetic locus on chromosome 12q in Mexican Americans. *Am J Hum Genet* 1999;64(1):1127–41.
- [19] Malhotra A, Wolford JK. Analysis of quantitative lipid traits in the genetics of NIDDM (GENLID) study. *Diabetes* 2005;54(10):3007–16.
- [20] Mitchell BD et al. Genetic and environmental contributions to cardiovascular risk factors in Mexican Americans. The San Antonio Family Heart Study. *Circulation* 1990;94(8):2158–70.
- [21] Hankin L et al. Genetic epidemiology of insulin resistance and visceral adiposity: the IRAS Family Study design and methods. *Ann Epidemiol* 2008;18(1):211–7.
- [22] Goodarzi MO et al. Variation in the gene for muscle-specific AMP deaminase is associated with insulin clearance, a highly heritable trait. *Diabetes* 2005;54(4):1222–7.
- [23] Robinson JR et al. Significance of heritability in primary and secondary pediatric hypertension. *Am J Hypertens* 2005;18(7):917–21.
- [24] Bellis A et al. "The Limosa study": epidemiological and heritability data of the metabolic syndrome in a Caucasian genetic isolate. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2009;19(7):457–61.
- [25] Zarkesh M et al. Heritability of the metabolic syndrome and its components in the Tehran Lipid and Glucose Study (TLGS). *Genet Res* 2012;94(6):351–7.
- [26] Liu KP et al. Heritability of metabolic syndrome traits among healthy younger adults: a population based study in China. *J Med Genet* 2010;47(6):415–20.
- [27] Li JK et al. Phenotypic and genetic clustering of diabetes and metabolic syndrome in Chinese families with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab Res Rev* 2016;32(1):46–52.
- [28] Bayoumi RA et al. Heritability of determinants of the metabolic syndrome among healthy Arabs of the Oman family study. *Obesity* 2007;15(3):551–6.
- [29] Pilia G et al. Heritability of cardiovascular and personality traits in 6,148 Sardinians. *PLoS Genet* 2016;12(8):e1005132.
- [30] Perusse L et al. Familial resemblance of plasma lipids, lipoproteins and postheparin lipoprotein and hepatic lipases in the HERITAGE Family Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17(11):3463–9.
- [31] Vascheri, Iveta M. Five years of GWAS discovery. *Am J Hum Genet* 2012;90(1):7–24.

Exploring single nucleotide polymorphisms previously related to obesity and metabolic traits in pediatric-onset type 2 diabetes

América Liliána Miranda-Lora¹ · Miguel Cruz² · Jesús Aguirre-Hernández³ · Mario Molina-Díaz⁴ · Jorge Gutiérrez² · Samuel Flores-Huerta⁵ · Miguel Klünder-Klünder^{5,6} 

Received: 4 January 2017 / Accepted: 27 March 2017
© Springer-Verlag Italia 2017

Abstract

Aims To evaluate the association of 64 obesity-related polymorphisms with pediatric-onset type 2 diabetes and other glucose- and insulin-related traits in Mexican children.

Methods Case-control and case-sibling designs were followed. We studied 99 patients with pediatric-onset type 2 diabetes, their siblings ($n = 101$) without diabetes, 83 unrelated pediatric controls and 137 adult controls. Genotypes were determined for 64 single nucleotide polymorphisms, and a possible association was examined between those genotypes and type 2 diabetes and other quantitative traits, after adjusting for age, sex and body mass index.

Results In the case-pediatric control and case-adult control analyses, five polymorphisms were associated with

increased likelihood of pediatric-onset type 2 diabetes; only one of these polymorphisms (*CADM2*/rs1307880) also showed a consistent effect in the case-sibling analysis. The associations in the combined analysis were as follows: *ADORA1*/rs903361 (OR 1.9, 95% CI 1.2; 3.0); *CADM2*/rs1307880 (OR 2.2, 95% CI 1.2; 4.0); *GNPDA2*/rs10938397 (OR 2.2, 95% CI 1.4; 3.7); *VEGFA*/rs6905288 (OR 1.4, 95% CI 1.1; 2.1) and *FTO*/rs9939609 (OR 1.8, 95% CI 1.0; 3.2). We also identified 16 polymorphisms nominally associated with quantitative traits in participants without diabetes.

Conclusions *ADORA1*/rs903361, *CADM2*/rs1307880, *GNPDA2*/rs10938397, *VEGFA*/rs6905288 and *FTO*/rs9939609 are associated with an increased risk of pediatric-onset type 2 diabetes in the Mexican population.

Keywords Type 2 diabetes · Metabolic syndrome · Children · Adolescents · Single nucleotide polymorphisms

Managed by Massimo Federici.

✉ Miguel Klünder-Klünder
klunderk@gmail.com

¹ Research Unit of Medicine Based on Evidence, Hospital Infantil de México Federico Gómez, Mexico City, Mexico

² Medical Research Unit in Biochemistry, Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional SXXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, Mexico City, Mexico

³ Laboratory of Genomics, Genetics and Bioinformatics, Hospital Infantil de México Federico Gómez, Mexico City, Mexico

⁴ Department of Endocrinology, Hospital Infantil de México Federico Gómez, Mexico City, Mexico

⁵ Department of Community Health Research, Hospital Infantil de México Federico Gómez, Mexico City, Mexico

⁶ Research Committee, Latin American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (LASPGHAN), Mexico City, Mexico

Introduction

Type 2 diabetes (T2D) occurs most commonly in adults aged 40 years or older. However, in recent years the incidence of pediatric T2D has increased, and this increase may be related to the ongoing childhood obesity epidemic. In Mexico, 9.17% of adults have diabetes, and T2D is most prevalent form [1]. In the Mexican population, the disease is observed in younger people, sometimes even before the age of nineteen [2, 3]. Although the prevalence of pediatric T2D is still low, it is predicted that in some ethnic groups it will become the predominant form of diabetes within the next decade [4].

T2D is a multifactorial disease caused by a complex interplay between genetic and environmental factors.

Anthropometric and biochemical measurements

Measurements were taken by trained personnel. Participants were measured without shoes and with light clothing. Weight was measured with a digital scale (Seca[®] 884, Hamburg, Germany) to 0.1 kg accuracy; height was determined with a stadiometer (Seca[®] 225, Hamburg, Germany) to 0.1 cm precision; and body mass index was calculated from these two measurements.

Participants were studied following a 12-h fast, and blood samples were obtained for the following tests: glucose (mg/dL, hexokinase method Dimension RXLMAX, Siemens), insulin (mU/mL, chemiluminescence IMMULITE 1000, Siemens, Euro, DPC, Llanberis, UK), C-peptide (ng/dL, chemiluminescence IMMULITE 1000, Siemens, Euro, DPC, Llanberis, UK), and hemoglobin A1c (HbA1c % and mmol/mol, Dimension RXT-MAX Siemens immunoassay). In participants without diabetes, an OGTT was done with 1.75 g/kg of anhydrous glucose (up to 75 g), with glucose and insulin measurements 2 h after glucose administration. To assess insulin resistance, we calculated the HOMA-IR index ($[\text{fasting glucose in mg/dL} \times \text{fasting insulin in mU/mL}] / 405$) [17, 18], and the evaluation of the secretory capacity of beta cells was determined with HOMA-B ($[\text{fasting insulin in mU/mL} \times 20] / [\text{fasting glucose in mmol/L} - 3.5]$) [18]. Finally, insulin sensitivity was obtained with QUICKI ($1 / [\log \text{fasting insulin in } \mu\text{U/mL}] + [\log \text{fasting glucose in mg/dL}]$) [19].

SNP selection

We examined a total of 64 SNPs (for gene names, functions, and associated traits, see Table 1). Most of them were previously associated with obesity or BMI [10], and two of these associations were reported by this research group [20]. Other SNPs were previously reported by others to be associated with metabolic glucose traits or lipids [10]. All these SNPs could be related, either directly or indirectly, to glucose pathways, and therefore to T2D, and our goal was to investigate novel candidate SNPs in early-onset T2D.

Genotyping

DNA was extracted from peripheral blood mononuclear cells using the QIAamp DNA Blood Mini/Kit (Qiagen), following the manufacturer's instructions. Purity and concentration were measured using absorbance at 260 and 280 nm (Epoch spectrophotometer, BioTek Instruments, Winooski, VT, USA), and integrity was checked in a 0.8% agarose gel. SNP genotyping was performed using a TaqMan[®] OpenArray[®] system (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), which provides PCR-based endpoint

analysis, according to the manufacturer's instructions. Two hundred and fifty control samples were genotyped in duplicate for quality control purposes.

Statistical analysis

Database management and statistical analyses were performed using STATA (version 11.0/SE; STATA Corp, College Station, TX). SNPs were filtered out if the minor allele frequency (MAF) was less than 0.08 (due our small sample size) or if a deviation from Hardy Weinberg equilibrium (HWE, $p < 0.05$) was observed among controls.

Anthropometric and metabolic data were tested for normal distribution using skewness and kurtosis. Comparisons between continuous variables and groups were made with Student's *t* test or Mann-Whitney *U* test according to data distribution. For categorical data, the Chi-squared test was used.

The association between pediatric-onset T2D and each SNP was analyzed using logistic regression comparing allele and genotype frequencies between case pediatric control and case-adult control. A family-based test of association among siblings discordant for diabetes was conducted using conditional logistic regression. To increase statistical power, the *p* value was calculated combining the *p* value from logistic regression of the case-pediatric control and case-adult control with the *p* value from the conditional logistic regression for the case-sibling analysis. We estimated ORs and 95% CIs under additive, dominant and recessive genetic models, and we calculated the smallest *p* value from up to three models tested. In the additive model, a numeric value (0, 1, or 2) was assigned based on the number of referent alleles. The analysis of the comparison of cases with pediatric controls and with siblings was adjusted by age, sex and body mass index (BMI), whereas the comparison with adult controls was adjusted only by sex and BMI. The significance threshold was set at $p < 0.05$, with a Bonferroni correction for the number of SNPs remaining after filtering by MAF and HWE.

Additionally, among controls, we explored the association of genetic variants with quantitative glucose- and insulin-related traits adjusting for age, sex and BMI. The following traits were available: fasting glucose, 2-h glucose, fasting insulin, 2-h insulin, C-peptide, HbA1c, HOMA-IR, HOMA-B and QUICKI. Analyses were performed using an additive model to calculate the β coefficient per risk allele.

Statistical power

Statistical power was calculated with Quanto (v. 1.2.4). Assuming an OR ≥ 1.8 ; an MAF of 0.1, 0.2 and 0.5; a log-

Table 1 SNPs assessed for association

SNP	Chr	Reported gene	Functional class	A	A	MAF	TIWE (g)	Obesity ^a	Chc-Thr ^b	Lipids ^c
rs903061	1	<i>ADORA1</i>	Intron	A	G	0.284	0.253	*		
rs1011731	1	<i>DNM3</i>	Intron	A	G	0.264	0.218	*		
rs1514175	1	<i>TNN3 K</i>	Intron	A	G	0.129	0.082	*		
rs1555543	1	<i>FTDP2</i>	Intergenic	C	A	0.380	0.412	*		
rs2605100	1	<i>TYPL11</i>	Intergenic	G	A	0.456	0.759	*		
rs2815753	1	<i>NEGR1</i>	Intergenic	A	G	0.217	0.822	*		
rs684073	1	<i>TRX15</i>	Intron	G	C	0.983	0.759	*		
rs1091369	1	<i>SEC16B</i>	Intron	T	C	0.222	0.929	*		
rs140874	1	<i>PROX1</i>	5' prime UTR	T	C	0.934	0.992	*	*	
rs280052	2	<i>LRP1B</i>	Intergenic	T	C	0.229	0.229	*		
rs138867	2	<i>ADCT4</i>	Intergenic	T	C	0.789	0.055	*		
rs879127	2	<i>PAAC1</i>	Intergenic	C	T	0.068	0.135	*		
rs660877	2	<i>G6PC2</i>	Intron	C	T	0.061	0.406	*	*	
rs10195232	2	<i>GRII4</i>	Intron	T	C	0.277	0.594	*	*	*
rs780054	2	<i>GCCR</i>	Intron	C	T	0.129	0.288	*	*	*
rs67846157	2	<i>NSCT1</i>	Intron	T	C	0.026	0.650	*		
rs67957357	2	<i>ADAMTS9-AS2</i>	Intron	T	C	0.164	0.067	*		
rs13078307	2	<i>CADM2</i>	Intron	A	G	0.093	0.638	*		
rs7647304	2	<i>SFRP10</i>	Intron	C	T	0.171	0.306	*		
rs11090900	2	<i>STC3A2</i>	Intron	T	A	0.784	0.333	*	*	
rs11090867	2	<i>ADCT5</i>	Intron	A	G	0.962	0.316	*	*	
rs10908307	4	<i>GMPXD2</i>	Intergenic	A	G	0.326	0.826	*		
rs131073257	4	<i>STC30A8</i>	Miscense	C	T	0.017	0.102	*		*
rs67232	5	<i>PCSK1</i>	Intron	T	C	0.106	0.200	*		
rs1137347	5	<i>HOXA</i>	Upstream	T	G	0.705	0.833	*		
rs1294421	6	<i>L289</i>	Intergenic	G	T	0.342	0.018	*		
rs2106939	6	<i>RP30-NUDT3</i>	Intron	A	G	0.348	0.387	*		
rs630258	6	<i>VEGFA</i>	Downstream	A	G	0.360	0.091	*		
rs9491696	6	<i>RIF03</i>	Intron	C	G	0.399	0.149	*		
rs972217	6	<i>JVAP2B</i>	Intron	A	G	0.457	0.591	*		
rs161297	7	<i>NTF1</i>	Miscense	T	C	0.005	<0.001	*		
rs1055144	7	<i>NPT2L3</i>	Intergenic	C	T	0.222	0.659	*		
rs2191349	7	<i>TNFR195-DGND</i>	Intergenic	T	G	0.434	0.429	*	*	
rs41074177	7	<i>GSK3</i>	Intron	G	A	0.479	0.080	*	*	
rs13966634	8	<i>STC30A8</i>	Miscense	C	T	0.256	0.268	*	*	
rs10968576	9	<i>TNFR2</i>	Intron	A	G	0.212	0.228	*		
rs7034200	9	<i>GTF2I</i>	Intron	A	C	0.335	0.511	*	*	
rs1088122	10	<i>ADRA3A</i>	Intergenic	G	T	0.169	0.524	*	*	
rs1304477	11	<i>ANKK1</i>	Miscense	A	G	0.433	0.344	*		
rs317334	11	<i>MICB2</i>	Intron	C	T	0.427	0.216	*		
rs1929919	11	<i>STX2</i>	Intron	T	C	0.260	0.345	*		
rs67265	11	<i>BDNF-AS</i>	Miscense	C	T	0.166	0.300	*		
rs925946	11	<i>BDNF-AS</i>	Intron	C	T	0.166	0.267	*		
rs11005924	11	<i>CNV2</i>	Intron	A	C	0.443	0.535	*	*	
rs7944547	11	<i>MA2D</i>	Intron	A	T	0.127	0.028	*	*	
rs1080903	11	<i>MTNR1B</i>	Intron	C	G	0.221	0.619	*	*	
rs174550	11	<i>FALST1</i>	5 prime UTR	T	C	0.276	0.222	*		*
rs143512	12	<i>HMOX1</i>	Intergenic	A	C	0.944	0.934	*		*

Table 1 continued

SNP	Chr	Reported gene	Functional class	A	a	MAF	HWE (<i>p</i>)	Obesity ^b	Glucose ^c	Lipids ^d
rs718314	13	<i>ITPR2</i>	Intron	G	A	0.368	0.005	*		
rs1138803	12	<i>BCDN3D</i>	Intergenic	G	A	0.380	0.306	*		
rs4771122	13	<i>MTF3</i>	Intron	A	G	0.157	0.372	*		
rs10150352	14	<i>NRXN3</i>	Intron	T	C	0.225	0.266	*		
rs11847607	14	<i>PRKD1</i>	Intron	C	T	0.043	0.572	*		
rs2856929 ^e	15	<i>PKM</i>	Intron	T	C	0.494	0.004			
rs2241433	15	<i>MAP2K5, LRXCOR1</i>	Intron	G	A	0.313	0.072	*		
rs1244493 ^e	16	<i>GPRC5B</i>	Intergenic	T	C	0.050	0.326	*		
rs7498665	16	<i>NPIFB</i>	Misense	G	A	0.488	0.531	*		
rs9939609	16	<i>FTO</i>	Intron	T	A	0.084	0.319	*	*	
rs229616 ^e	18	<i>MC4R</i>	Misense	C	T	0.088	<0.001			
rs571313	18	<i>MC4R</i>	Intergenic	C	A	0.230	0.827	*		
rs11084759	19	<i>KCND13</i>	Intergenic	G	A	0.267	0.234	*		
rs2287019	19	<i>QPCTL</i>	Intron	C	T	0.084	0.319	*		
rs3810291	19	<i>ZC3H4</i>	3' prime UTR	G	A	0.478	0.451	*		
rs4835006	23	<i>ZNF81</i>	3' prime UTR	A	G	0.451	0.874	*		

SNP single nucleotide polymorphism, Chr chromosome, A major allele, a minor allele, MAF minor allele frequency, HWE Hardy-Weinberg equilibrium in all controls

* SNPs excluded from the analysis

^b Association with obesity-related traits in GWAS (waist-hip ratio, body mass index, weight, or obesity) [10]

^c Association with glucose- and insulin-related traits in GWAS (diabetes, glucose, HOMA-IR, HOMA-B, HbA1c, disposition index or acute insulin response to glucose) [10]

^d Association with lipids in GWAS (triglycerides, HDL-cholesterol, or fatty acids) [10]

additive model; and a 0.05 type I error rate, the statistical power would be 50, 80 and 82%, respectively. Assuming an OR ≥ 2.3 and the same MAF as above, the statistical power would be 82, 98 and 98%, respectively.

Results

The study group comprised 99 pediatric patients with T2D with a mean age of 12.9 years (± 2.6), 83 unrelated pediatric controls of similar age (12.5 ± 2.9 years), 101 siblings of the patients with a higher average age (16.5 ± 5.4 years), and 137 adults in their third or fourth decade of life. Demographic, anthropometric and biochemical characteristics of the study participants are summarized in Table 2.

After filtering out SNPs with MAF < 0.08 or deviating from HWE frequencies among the controls, fifty-one SNPs remained. Of these SNPs, five showed a statistically significant association with pediatric-onset T2D when compared to unrelated pediatric controls and to adult controls, after adjusting for age, sex and BMI ($p < 0.05$). These five polymorphisms were as follows: *ADORA1*/rs903361, *CADM2*/rs13078807, *GNPDA2*/rs10938397, *VEGFA*/rs6905288 and *FTO*/rs9939609. Of these polymorphisms,

in the case sibling analysis, only *CADM2*/rs13078807 reached significance, although not after Bonferroni correction (dominant model: OR 2.5, 95% CI 1.2; 4.9, $p = 0.009$). In the combined analysis, only *GNPDA2*/rs10938397 showed a significant association after Bonferroni correction (dominant model: OR 2.2, 95% CI 1.4; 3.7, $p < 0.001$) (Table 3).

We also evaluated the association between SNPs and quantitative glucose- and insulin-related traits in unaffected individuals (Table 4). We observed that 16 SNPs were associated with one or more of the following traits: fasting glucose, 2-h glucose, HbA1c, C-peptide, fasting insulin, HOMA-TR, HOMA-B and QUICKI. Two of the five SNPs that were associated with pediatric-onset T2D were also associated with quantitative glucose- and insulin-related traits in participants without diabetes: *CADM2*/rs13078807 with HbA1c ($\beta = 0.25$ per risk allele, $p = 0.032$) and *VEGFA*/rs6905288 with fasting glucose and 2-h glucose ($\beta = 4.59$ per risk allele, $p = 0.034$ and $\beta = 2.07$ per risk allele, $p = 0.012$, respectively). Only the SNPs *SLC2A2*/rs11920090 and *PCSK1*/rs6232 reached statistical significance after Bonferroni correction ($p \leq 0.001$) for associations with fasting insulin, HOMA-TR and QUICKI for *SLC2A2*/rs11920090 and with QUICKI for *PCSK1*/rs6232.

Table 2 Characteristics of study participants

	Cases (<i>n</i> = 95)	Pediatric controls (<i>n</i> = 83)	Adult controls (<i>n</i> = 137)	Siblings (<i>n</i> = 101)
Sex [male <i>n</i> (%)]	45 (45.4)	45 (54.2)	57 (41.6)	47 (46.5)
Age (years) ^a	12.9 ± 2.6	12.5 ± 2.9	41 ± 6.5	16.5 ± 5.4
Anthropometric measurements ^a				
Weight (kg)	63.7 ± 20.4	57.3 ± 21.3	74.7 ± 16.0	64.1 ± 20.5
Height (cm)	156.9 ± 13.5	152.4 ± 14.7	159.5 ± 8.1	156.9 ± 11.9
BMI (kg/m ²)	25.3 ± 5.3	24.4 ± 6.7	29.6 ± 5.6	25.5 ± 6.0
Glucose metabolism ^b				
Glucose (mg/dL)	119.0 (93, 192)	88.0 (84, 95)	92.0 (84, 98)	88.0 (82, 94)
2-h glucose (mg/dL)	–	97.0 (81, 110)	107.0 (91, 125)	96.0 (87, 116)
HbA1c (%)	9.4 (6.4, 12.1)	5.6 (5.4, 5.7)	5.8 (5.5, 6.0)	5.6 (5.4, 5.9)
HbA1c (mmol/mol)	79.7 (45.4, 108.8)	37.7 (35.8, 38.9)	39.9 (36.6, 42.1)	37.7 (35.8, 41)
Insulin (mU/mL)	9.9 (6.2, 15)	7.6 (5.6, 15.6)	7.0 (3.7, 11.9)	6.5 (4.2, 9.9)
2-h insulin (mU/mL)	25.1 (18.6, 31.6)	44.7 (23.7, 80.3)	42.4 (25.3, 62.6)	40.0 (22.3, 78)
HOMA-IR	3.2 (1.5, 5.2)	1.7 (0.8, 3.8)	1.6 (0.8, 2.6)	1.3 (0.9, 2.2)
C-peptide (ng/dL)	2.1 (1, 3.4)	2.2 (1.6, 3.9)	2.5 (1.8, 3.1)	2.0 (1.4, 2.7)
HOMA-B	72.4 (27.4, 144.2)	103.4 (62.1, 187.9)	78.8 (52.9, 130.0)	102.3 (63.6, 166.8)
QUICKI	0.3 (0.3, 0.4)	0.4 (0.3, 0.4)	0.4 (0.3, 0.4)	0.4 (0.3, 0.4)

p < 0.05 in bold characters compared with cases; – non informative markers

^a Data are the means ± standard deviations

^b Data are medians and (25pc, 75pc)

Table 3 SNPs exhibiting significant association with pediatric-onset T2D

Gene	<i>n</i>	Risk model ^a	Case-pediatric control			Case-adult control			Case-sibling			Combined	
			<i>n</i> = 99/83	<i>n</i> = 99/137	<i>n</i> = 99/101	99/521							
chromosome	G/M/R/A		MAF (%)	OR ^b 95% CI	<i>p</i>	MAF (%)	OR ^b 95% CI	<i>p</i>	MAF (%)	OR ^b 95% CI	<i>p</i>	OR ^b 95% CI	<i>p</i>
			C _{case}	C _{control}		C _{case}	C _{control}		C _{case}	C _{control}		C _{case}	C _{control}
<i>ADORA1</i>	rs903361	Dom	34.8	2.4	0.009	34.8	1.8	0.035	33.9	1.0	0.952	1.9	0.010
1	A/G		50.8	1.2; 4.7		27.1	1.0; 3.2		35.8	0.6; 1.7		1.2; 3.0	
<i>CAI1</i>	rs13078897	Dom	17.6	3.6	0.048	17.6	2.8	0.012	13.1	2.5	0.009	2.3	0.009
3	A/G		5.9	1.1; 6.7		5.7	1.2; 6.5		5.6	1.3; 4.9		1.2; 4.0	
<i>GMP31A2</i>	rs10938497	Dom	41.4	2.7	0.005	41.4	2.5	0.003	40.1	1.6	0.05	2.3	<0.001
4	A/G		33.3	1.4; 5.5		25.9	1.4; 4.6		35.5	1.0; 2.6		1.4; 3.7	
<i>VEGFA</i>	rs6905288	Add	41.1	1.5	0.032	41.1	1.6	0.037	41.8	1.3	0.255	1.4	0.044
6	G/A		29.9	1.0; 2.5		28.7	1.0; 2.5		39.2	0.8; 2.3		1.1; 2.1	
<i>FTO</i>	rs9939609	Add	27.3	2.5	0.003	27.3	1.9	0.032	14.4	1.3	0.212	1.8	0.039
16	T/A		13.9	1.3; 4.6		14.4	1.1; 3.5		11.2	0.6; 2.7		1.0; 3.2	

OA other allele, RA risk allele, C_{case} case, C_{control} control, MAF^c minor allele frequency, Dom dominant, Add additive

^a Adjusted for age, sex

^b Adjusted for sex and BMI

^c Risk model with smallest *p* value, *p* < 0.05 in bold characters. Bonferroni correction ($\alpha = 0.05$; $k = 51$; $P = 0.0009$); – non informative markers

Discussion

A number of genetic variants have been identified related to T2D. Some associations are heterogeneous across ethnic groups, and most of the studies were done with Europeans.

The information on Hispanic and Mexican populations is not abundant, and there is even less information about pediatric-onset T2D. To our knowledge, this is the second report related to pediatric-onset T2D in a Mexican

Table 4 SNPs with significant association to quantitative phenotypes in control subjects without diabetes

SNP	Trait	β	<i>p</i>	95% CI	Previous associations [10]
rs13078807	HbA1c (%)	0.25	0.032	0.02, 0.49	Obesity and BMI
rs7136805	Fasting insulin (mg/dL)	1.57	0.028	0.17, 2.98	Obesity, BMI, weight and waist-hip ratio
	HOMA-IR	0.33	0.046	0.01, 0.66	
rs706936	C-peptide (ng/dL)	0.35	0.041	0.68, 0.01	BMI
rs2890632	QUICKI	-0.01	0.027	-0.02, 0.00	BMI
rs1555543	Fasting insulin (mU/mL)	1.54	0.050	0.00, 3.08	BMI
	C-peptide (ng/dL)	0.38	0.044	0.01, 0.74	
rs151475	HOMA-B	-27.70	0.020	-51.16, -4.29	BMI
rs10195252	Fasting glucose (mg/dL)	1.76	0.038	0.10, 3.43	Waist-hip ratio and triglycerides
	QUICKI	0.01	0.005	0.03, 0.00	
rs1443512	HOMA-B	37.06	0.012	47.97, 6.08	Waist-hip ratio
rs129421	HOMA-B	-18.90	0.040	-35.96, -0.84	Waist-hip ratio
rs9491696	HOMA-B	-24.17	0.033	-46.34, -2.00	Waist-hip ratio
rs6905288	2-h glucose (mg/dL)	4.59	0.034	0.36, 8.51	Waist-hip ratio and coronary heart disease
	Fasting glucose (mg/dL)	2.07	0.012	0.47, 3.67	
rs10885122	HOMA-B	-38.45	0.014	-69.14, -7.79	Fasting glucose and HOMA-B
rs2191349	Fasting insulin (mU/mL)	-1.89	0.003	-3.14, -0.64	Fasting glucose and HOMA-B
	HOMA-B	-21.75	0.023	-40.50, -3.01	
rs10830965	Fasting glucose (mg/dL)	1.95	0.034	0.14, 3.76	Fasting glucose, HOMA-B, DI, AIRg and T2D
rs11920090	Fasting insulin (mU/mL)	2.76	0.001	1.18, 4.33	Fasting glucose and HOMA-B
	C-peptide (ng/dL)	0.35	0.007	0.10, 0.61	
	HOMA-IR	0.63	0.001	0.26, 0.99	
	QUICKI	-0.02	<0.001	-0.03, -0.01	
rs6232	Fasting glucose (mg/dL)	3.07	0.008	0.83, 5.31	Obesity and BMI
	Fasting insulin (mU/mL)	2.67	0.006	0.76, 4.58	
	C-peptide (ng/dL)	0.57	0.015	0.11, 1.02	
	HOMA-IR	0.63	0.006	0.18, 1.07	
	QUICKI	-0.02	<0.001	-0.03, -0.01	

β (beta coefficient): this refers to the unit change in diabetes-related quantitative traits per added risk allele

DI disposition index, AIRg acute insulin response to glucose

population; therefore, the findings of these patients with T2D onset before age 19 are of particular interest.

Our study reveals the existence of the association between five SNPs with the presence of pediatric-onset T2D. All these variants had previously been related to metabolic traits in GWAS. The SNPs *ADORA2A*/rs903361 [21], *CADM2*/rs13078807 [22, 23], *GNPDA2*/s10938397 [23] and *FTO*/rs9939609 [24–26] had been associated with BMI; *CADM2*/rs13078807 [22, 27] and *GNPDA2*/s10938397 [24, 27] with obesity; and *VEGFA*/rs6905288 with waist-hip ratio [28] and coronary heart disease [29]. Of these variants, only *GNPDA2*/s10938397 [30, 31] and *FTO*/rs9939609 [32–34] had been associated with T2D in adults previously. Interestingly, our results demonstrate that these SNPs are also associated with pediatric-onset T2D.

Several genotyped variants have been shown to be associated with obesity or obesity-related phenotypes in

several previous studies. It is known that obesity is a significant risk factor for T2D, and for this reason, all statistical analyses were adjusted for BMI. There are many obese children who do not develop the disease and some non-obese children who do, indicating that obesity is not the only factor involved in the etiology of pediatric T2D [11]. It has been observed that genetic predisposition to obesity leads to increased risk of type 2 diabetes (obesity-predisposing effect) [35]. However, we identified five SNPs associated with T2D independently of BMI. Although BMI is not a perfect measure of adiposity, our findings suggest that these genetic variants may predispose carriers to develop T2D at lower obesity thresholds. On the other hand, the association of the SNPs independently of BMI could explain why not all individuals with obesity develop T2D.

This study provides confirmation that some variants (*ADORA2A*/rs10885122, *INGR1*/rs2191349, *MTNR1B*/

rs10830963 and *SLC2A2*/rs119200909) are associated with glucose- and insulin-related traits, regardless of age, sex and BMI in participants without diabetes. In addition, we identified another 12 SNPs (*CADM2*/rs13078807, *BCDN3T*/rs7138803, *RPS10-NUDT3*/rs206936, *JRP1B*/rs2890652, *PTBP2*/rs1555543, *TNN3 K*/rs151475, *GRB14*/rs10195252, *HGXCI3*/rs1443512, *LY86*/rs1294421, *RSPO3*/rs9491696, *VEGFA*/rs6905288 and *PCKK1*/rs6232) previously associated with obesity-related phenotypes that are also associated with quantitative glycaemic and insulin traits, independently of BMI. Although only two of the SNPs associated with glucose- and insulin-related traits (*CADM2*/rs13078807 and *VEGFA*/rs6905288) were also associated with pediatric-onset T2D in this study, the other variants could be genetic susceptibility markers of the future risk of T2D in individuals without diabetes. Follow-up studies could corroborate this hypothesis (see Table 4 for associations previously reported from GWAS).

Among the SNPs associated with pediatric-onset T2D and glucose- and insulin-related traits, only the variant *PCKK1*/rs6232 is located in the coding region. *PCKK1* encodes prohormone convertase 1/3, which functions in the proteolytic activation of polypeptide hormones and neuropeptide precursors. The non-synonymous polymorphism rs6232 (N221D) is associated with obesity risk, and this variant exhibited 30% lower enzymatic activity [36]. Other associated SNPs either are not located within coding regions of genes or do not reside within genes and therefore do not affect protein function (Table 1). It is not clear how all these genes influence insulin-secretory capacity (beta cell growth, survival or function) or modulate adiposity and/or insulin sensitivity. Further studies are needed to identify the biological pathways affected by these risk gene variants. This would allow establishing the mechanisms which make some individuals more susceptible to environmental risk factors and predispose them to develop the disease at a very early age. The inclusion of adults as controls, as we have done in this study, in addition to the comparison against pediatric controls, reduces the risk of incorrect ascertainment since some children assigned to the control group might go on to develop T2D at a later date. On the other hand, it is arguable that the effect of a given polymorphism might change with time, being associated with a trait during growth and development, but not at a later stage, or interacting with different risk factors associated with the lifestyle choices made as the individual matures and ages. Even though this scenario cannot be dismissed, it is worth pointing out that the association between the five SNPs was observed when using pediatric or adult controls.

Also, we observed a discordance in the results between case-pediatric control and case-sibling analysis. This could be due to the fact that the genetic similarity of the

siblings (given that they share the same parents) may require a larger sample size to identify differences. Other possibility is that siblings in the future may develop the disease; this might result in a classification bias as individuals without diabetes. Genetic testing might become a future tool to identify individuals at risk for early-onset T2D. Although the increased risk of T2D for carriers of the SNPs identified in this study is small, they could be part of a multiple-risk alleles model analysis in future research. The identification of individuals with high genetic susceptibility could reinforce the measures for prevention of environmental risk factors for T2D in population with greater risk.

In some situations, the distinction between MODY and T2D might be difficult to make on a purely clinical basis [15, 16]. In this regard, even though the participants in the current study did not present with clinical features of MODY, the exclusion of this diagnosis was not made through genetic testing of the relevant genes. This might be a limitation of this study, to the extent that some of the participants might have MODY, instead of T2D. At the same time, MODY is a rare disease, affecting a small number of individuals, compared to T2D, which is a common disease. Despite the fact that the frequency of pediatric-onset T2D has increased, there are still few patients who develop T2D prior to age 19, and the sample size is the main limitation of our study. However, even with these low numbers, we observed statistically significant associations with T2D, although the possibility of false-negative results in our sample cannot be excluded. Our moderate sample size is not well powered to detect low-frequency variants or associations with OR < 2.0, and we only could detect common variants or SNPs with strong associations. Therefore, more studies with larger sample sizes are needed to corroborate the associations identified in the present study. Other limitations are the methods of measuring resistance, secretion and insulin sensitivity, which were evaluated through surrogate variables with limitations in their interpretation.

Conclusion

In conclusion, to our knowledge, the present study is the first confirmation that *ADORA*/rs903361, *CADM2*/rs13078807, *GNPDA2*/rs10938397, *VEGFA*/rs6905288 and *FTO*/rs9939609 potentially contribute to pediatric-onset T2D risk in the Mexican population. The associations with *GNPDA2*/rs10938397 and *FTO*/rs9939609 have been reported previously with T2D in adults, and the other three variants have only been associated with obesity-related phenotypes. Other SNPs associated with glucose- and insulin-related traits could be related to T2D in a

longitudinal follow-up study. Replication in independent studies and functional follow-up studies will be important for determining the true susceptibility from these variants.

Funding This work was supported by a Mexican Federal Funds Grant (FIM 7014794).

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare no conflict of interest.

Human and animal rights All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki Declaration and its later amendments.

Informed consent Informed consent and assessment was obtained from all participants for being included in the study.


References

- Hernandez-Avila M, Gutierrez JP, Reynoso-Novero N (2013) Diabetes mellitus in Mexico: Status of the epidemic. *Salud Publica Mex* 55(S179):S135
- Jimenez-Corona A, Rojas R, Gomez-Perez FJ, Aguilar-Salinas CA (2010) Early-onset type 2 diabetes in a Mexican survey: results from the National Health and Nutrition Survey 2006. *Salud Publica Mex* 52(Suppl1):S27–S35
- Garcero-Romero F, Violante R, Rodriguez-Moran M (2009) Distribution of fasting plasma glucose and prevalence of impaired fasting glucose, impaired glucose tolerance and type 2 diabetes in the Mexican paediatric population. *Paediatr Perinat Epidemiol* 23(4):363–369
- Wilmut EG, Davies MJ, Yates T, Berhalina K, Lawrence IG, Kumari K (2010) Type 2 diabetes in younger adults: the emerging UK epidemic. *Postgrad Med J* 86(1022):711–718
- Langenberg C, Sharp SJ, Franks PW et al (2014) Gene-lifestyle interaction and type 2 diabetes: the EPIC interact case-control study. *PLoS Med* 11(5):e1001647
- Miranda-Lora AL, Vilchis-Gil J, Molina-Diaz M, Flores-Ibarra S, Klinder-Klinder M (2017) Heritability, parental transmission and environment: correlation of pediatric-onset type 2 diabetes mellitus and metabolic syndrome-related traits. *Diabetes Res Clin Pract* 126(9):120–129
- Ling C, Geop T (2009) Epigenetics: a molecular link between environmental factors and type 2 diabetes. *Diabetes* 58(12):2718–2725
- Volkov P, Bacos K, Olson JK et al (2017) Whole-genome bisulfite sequencing of human pancreatic islets reveals novel differentially methylated regions in type 2 diabetes pathogenesis. *Diabetes*. doi:10.2337/16-0996
- Prasad RB, Geop T (2015) Genetics of type 2 diabetes-pitfalls and possibilities. *Genes (Basel)* 6(1):87–123
- Hindorf L, MacArthur J, Morales J et al (2010) A catalog of published genome-wide association studies. Available at www.genome.gov/gwasstudies. Accessed [July 20th, 2016]. *Nucleic Acids Res* 42:D1001–D1006
- Morgan AR (2017) Determining genetic risk factors for pediatric type 2 diabetes. *Curr Diab Rep* 17(1):88–99
- Feng S, Zhu Y, Lu B, Xu F, Li X, Lai M (2015) TCF7L2 gene polymorphisms and type 2 diabetes risk: a comprehensive and updated meta-analysis involving 131 174 subjects. *Metagenesis* 28(1):25–37
- Dubelen D, Dolan LM, D'Agostino R Jr et al (2011) Association testing of TCF7L2 polymorphisms with type 2 diabetes in multi-ethnic youth. *Diabetologia* 54(3):525–529
- Miranda-Lora AL, Cruz M, Molina-Diaz M, Gutierrez J, Flores-Ibarra S, Klinder-Klinder M (2017) Association of common variants in the SLC16A11, TCF7L2, and ABCA1 genes with pediatric-onset type 2 diabetes and related glycaemic traits in families: a case-control and case-parent trio study. *Pediatric Diabetes*. doi:10.1111/pedi.12497
- American Diabetes Association (2010) 2. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care* 33(Supplement 1):S43–S52
- Kahn-Gibson O, Hattersley AT, Nyblom PR et al (2014) The diagnosis and management of monogenic diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes* 15(S20):47–64
- Keskin M, Kutoglu S, Kozulu M, Atabek Mh, Yazici C (2002) Homeostasis model assessment is more reliable than the fasting glucose/insulin ratio and quantitative insulin sensitivity check index for assessing insulin resistance among obese children and adolescents. *Pediatrics* 110(5):e500–e503
- Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC (1985) Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28(7):977–989
- Katz A, Nambi SS, Mather K et al (2000) Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 85(7):2402–2410
- Mejia-Beautes A, Klinder-Klinder M, Yengo L et al (2013) Analysis of the contribution of FTO, NPC1, ENPP1, NRG1, GNPDA2 and MC4R genes to obesity in Mexican children. *BMC Med Genet* 14(1):21
- Ruano G, Bourne J, Wandersall A et al (2009) Physiogenomic comparison of sib-pair and BMI in patients receiving rosiglitazone or pioglitazone. *Clin Chim Acta* 400(1–2):48–55
- Paternoster L, Evans DM, Nola EA et al (2011) Genome-wide population-based association study of extremely overweight young adults—the GOYA study. *PLoS ONE* 6(9):e24303
- Speliotes EK, Wilke CJ, Berndt SI et al (2010) Association analyses of 349,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index. *Nat Genet* 42(11):937–948
- Willer CJ, Speliotes EK, Loos RJ et al (2009) Six new loci associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation. *Nat Genet* 41(1):25–34
- Hayflick TM, Timpano NJ, Woodson MN et al (2009) A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science* 314(5825):889–894
- Choi YK, Gu MJ, Kim YJ et al (2009) A large-scale genome-wide association study of Asian populations uncovers genetic factors influencing eight quantitative traits. *Nat Genet* 41(10):1027–1034
- Berndt SI, Gustafsson S, Mugli R et al (2013) Genome-wide meta-analysis identifies 11 new loci for anthropometric traits and provides insights into genetic architecture. *Nat Genet* 45(5):501–512
- Held IM, Jackson AU, Randall JC et al (2010) Meta-analysis identifies 13 new loci associated with waist-hip ratio and reveals sexual dimorphism in the genetic basis of fat distribution. *Nat Genet* 42(11):930–939
- Davies RW, Wells GA, Stewart AF et al (2012) A genome-wide association study for coronary artery disease identifies a novel susceptibility locus in the major histocompatibility complex. *Circ Cardiovasc Genet* 5(2):217–225
- Xi B, Takeuchi F, Morlaingue A et al (2010) Associations of genetic variants in near body mass index-associated genes with type 2 diabetes: a systematic meta-analysis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 71(5):702–710

31. Kong X, Zhang X, Zhao Q et al (2014) Obesity-related genomic loci are associated with type 2 diabetes in a Han Chinese population. *PLoS ONE* 9(8):104486
32. Herzel JK, Johannson S, Sørenstedt E et al (2011) FTO, type 2 diabetes, and weight gain throughout adult life: a meta-analysis of 41,504 subjects from the Scandinavian HUNT, MDC, and MIP studies. *Diabetes* 60(2):1637–1644
33. Manning AK, Hivert MF, Scott RA et al (2013) A genome-wide approach accounting for body mass index identifies genetic variants influencing fasting glycaemic traits and insulin resistance. *Nat Genet* 44(6):659–669
34. Perry JR, Veight RF, Yongo I et al (2012) Stratifying type 2 diabetes cases by BMI identifies genetic risk variants in LAMA1 and enrichment for risk variants in lean compared to obese cases. *PLoS Genet* 8(5):e1002741
35. Li S, Zhao JJ, Luan J et al (2011) Genetic predisposition to obesity leads to increased risk of type 2 diabetes. *Diabetologia* 54(4):775–782
36. Nead KT, Li A, Wehner MR et al (2015) Contribution of common non-synonymous variants in PCSK1 to body mass index variation and risk of obesity: a systematic review and meta-analysis with evidence from up to 331 175 individuals. *Hum Mol Genet* 24(17):3582–3594

ORIGINAL ARTICLE

Associations of common variants in the *SLC16A11*, *TCF7L2*, and *ABCA1* genes with pediatric-onset type 2 diabetes and related glycemic traits in families: A case-control and case-parent trio study

América L Miranda-Lora¹ | Miguel Cruz² | Mario Molina-Díaz³ | Jorge Gutiérrez² | Samuel Flores-Huerta⁴ | Miguel Klünder-Klünder⁴ 

¹Research Unit of Medicine Based on Evidence, Hospital Infantil de México Federico Gómez, Mexico City, Mexico

²Medical Research Unit in Biochemistry, Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional SXXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, Mexico City, Mexico

³Department of Endocrinology, Hospital Infantil de México Federico Gómez, Mexico City, Mexico

⁴Department of Community Health Research, Hospital Infantil de México Federico Gómez, Mexico City, Mexico

Correspondence

Miguel Klünder-Klünder, Department of Community Health Research, Hospital Infantil de México Federico Gómez, Dr. Márquez 152, Col. Doctores, Del. Cuauhtémoc, C.P. 06720, México City, México.
 Email: klunder@gmail.com

Funding information

Mexican Federal Funds
 Award number: HIM/2011/017, HIM/2014/041

Background: There is evidence of associations of single-nucleotide polymorphisms (SNPs) with type 2 diabetes (T2D) and related glycemic traits in adults, but there is a little information about such associations in youths.

Objective: The aim of this study was to evaluate the associations of SNPs in the *TCF7L2*, *SLC16A11*, and *ABCA1* genes with T2D and related glycemic traits in Mexican children and adolescents.

Subjects: A total of 99 families with children with T2D ($n = 97$) and 83 families with children without the disease ($n = 212$).

Methods: The associations between SNPs of *TCF7L2* (rs7903146 and rs12255572), *SLC16A11* (rs13342232), and *ABCA1* (rs9282541) with T2D were analyzed. We also evaluated the effects of SNPs on quantitatively related glycemic traits after adjusting for age, sex, and the presence of overweight or obesity.

Results: The G allele of *SLC16A11*/rs13342232 was associated with T2D in adults (adjusted odds ratio [OR_{adj}] = 1.89; 95% confidence interval [CI] 1.18; 3.06) and children (OR_{adj} = 1.9; 95% CI: 1.25; 3.00). In addition, the combined analysis of case-control and case-parent trio was also significant (OR = 1.43; 95% CI: 1.12; 1.74). After adjusting for known confounding factors, we found a significant association between *TCF7L2*/rs12255572 and C-peptide ($\beta = -0.76$, $P = .005$) in patients with diabetes and between fasting glucose ($\beta = 2.05$, $P = .039$) and homeostatic model assessment of β -cell function ($\beta = -32.14$, $P = .025$) levels in individuals without diabetes.

Conclusions: The results suggest that *SLC16A11*/rs13342232 might be involved in the risk of pediatric-onset T2D in Mexican families. Moreover, *TCF7L2*/rs12255572 was associated with pancreatic reserve in patients with T2D and with fasting glucose and β -cell function in individuals without diabetes.

KEY WORDS

adolescents, children, pancreatic beta cell, SNP, type 2 diabetes

Abbreviations: BMI, body mass index; HOMA-R, homeostatic model assessment of beta-cell function; HOMA- β , homeostatic model assessment of insulin resistance; OGTT, oral glucose tolerance test; SNP, single-nucleotide polymorphism; TDT, transmission disequilibrium test; T2D, type 2 diabetes.

1 | INTRODUCTION

A total of 9.1% of the Mexican population has been diagnosed with type 2 diabetes (T2D) mellitus,¹ and there are concerns that the disease is presenting at early ages (before age 45)² and even that the

disease is presenting at "ultra-early-onset" in pediatric patients (before age 19).³ T2D is a product of a dual mechanism of insulin resistance and β -cell dysfunction,^{4,5} and a more severe phenotype which includes poor glycaemic control, greater insulin requirements and a greater predisposition to disease-related complications, is observed in early-onset presentations.^{6,7}

T2D is a multifactorial disease with genetic and environmental risk factors. The genetic risk of these complex diseases is hypothesized to be higher when these affect a younger population⁸; however, the single-nucleotide polymorphisms (SNPs) associated with the risk of late-onset T2D are not always observed in the early stages of a disease or vice versa.⁹⁻¹⁰ This dichotomy might be due to different genetic profiles or interactions with other genetic-environmental factors that modify the expression of the disease at different ages. Moreover, it might only be a matter of time before susceptible individuals develop the disease.

Several genes have been associated with T2D. SNPs in TCF7L2 (rs7903146 and rs12255372) are the most consistently identified risk markers in different populations, including Mexico.^{11,12} However, most of the studies included participants in their 50s and 60s and provide little information regarding the association of these SNPs with T2D and related traits in young individuals of Mexican ancestry.¹⁰

Thus far, SNPs of the SLC16A11 (rs13342232) and ABCA1 (rs9272541) genes have been identified as genetic markers for T2D risk nearly exclusively in a Mexican population.^{13,14} Although, the average participant age is usually approximately 50 years, an increased risk of the disease has been observed in younger-age groups.

The genetic risk markers for T2D have also been associated with glucose levels, β -cell function, and insulin sensitivity and resistance in individuals without T2D, independently of their body mass indexes (BMIs).¹⁵ The effect of T2D-associated SNPs in pediatric presentations and their associations with β -cell function and insulin resistance have not been well explored. Therefore, the purpose of this study was to evaluate the associations of SNPs in the TCF7L2, SLC16A11, and ABCA1 genes and the presence of T2D and related metabolic traits in the families of Mexican children and adolescents.

2 | METHODS

2.1 | Subjects

The families of patients younger than 18 years of age with recent diagnosis of T2D (<1 month) were studied. The index cases were obtained from the Diabetes Clinic at Mexico's Children's Hospital Federico Gomez from January 2011 to June 2014, and first-degree relatives (parents and siblings) were invited to participate. We also requested that these families invite friends or neighbors who had no familial relationships with the index cases to serve as population controls. This study included 327 members of the case families (99 pediatric index cases, 57 parents with diabetes, and 85 parents, and 86 siblings without diabetes) and 212 members of the control families (83 children and adolescents and 129 parents). All of the

families live in the Mexico City metropolitan area, and the last 3 generations were born in Mexico. Our research group has shown that the racial proportion of the population from which our sample was obtained consists of 65% Native American, 30% European, and 5% African.¹⁶⁻¹⁸

The presence of the disease was determined as follows: (1) previous diagnosis and/or positive result in an oral glucose tolerance test (OGTT), according to the American Diabetes Association criteria¹⁹; (2) absence of anti-glutamic acid decarboxylase and anti-insulin antibodies; (3) no family history of maturity-onset diabetes of the young; and (4) C-peptide ≥ 0.45 ng/mL. The absence of disease in the controls was validated through an OGTT. The Ethics, Research, and Biobank Committees from our institution approved the study, and we obtained written consent from the parents and children.

2.2 | Anthropometric and biochemical measurements

The participants were examined after a 12-hour fast. Trained personnel performed the anthropometric measurements. All of the participants were measured without their shoes on and wearing light clothing. The participant's weight was measured using a digital scale (Seca 884) with 0.1-kg accuracy, and their height was evaluated with a stadiometer (Seca 225) with 0.1-cm precision. Using flexible tape (Seca 200), the participant's waist circumference was measured at the midpoint between the lower costal border and the iliac crest to the closest 0.1 cm at the end of exhalation, with the patients in a standing position. The BMI classification was performed according to guidelines provided by the World Health Organization (overweight, BMI ≥ 25.0 to <30 kg/m² in adults and ≥ 85 to <95 percentile in children; obese, BMI ≥ 30 kg/m² in adults and ≥ 95 percentile in children and adolescents).

The fasting glucose (hexokinase method, Dimension RX MAX, Siemens), insulin (chemiluminescence, IMMULITE 1000, Siemens, Euro, DPC, Llanberis, UK), glycated hemoglobin (HbA1c, Dimension RxLMAX, Siemens Immunoassay), and C-peptide (chemiluminescence IMMULITE 1000, Siemens) levels of all of the participants were measured. The participants without diabetes were subjected to an OGTT, which was performed with 1.75 g/kg anhydrous glucose (maximum = 75 g) and included glucose and insulin measurements after 2 hours. We calculated the homeostatic model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) index ($[\text{fasting glucose in mg/dL}] \times [\text{fasting insulin in mIU/mL}] / 405$)²⁰ to assess insulin resistance; the homeostatic model assessment of β -cell function (HOMA- β) ($[\text{fasting insulin in mIU/mL}] \times 20 / [\text{fasting glucose in mmol/L}] - 3.5$)²⁰ was used to evaluate the secretory capacity of the β -cells, and the quantitative insulin sensitivity check index ($1 / [\log (\text{fasting insulin } \mu\text{U/mL}) + \log (\text{fasting glucose mg/dL})]$) was used to assess insulin sensitivity.²¹

2.3 | Genotyping

We selected 4 SNPs. Two of them (TCF7L2/rs7903146 and TCF7L2/rs12255372) were chosen due to their consistent association with T2D in genome-wide association studies (GWAS) and meta-analyses,^{11,22} which revealed minor allele frequencies of 21% and

50% in a population of Mexican ancestry according to the 1000 Genomes Project, respectively.²⁷ The other 2 SNPs were selected due to their previous association with T2D in an adult Mexican population (SLC16A11/rs13342232 and ABCA1/rs9282541).^{19,24}

Genomic DNA from peripheral blood was isolated using a commercial kit based on the salt fraction method (QIAmp96 DNA Blood, Mini/Kit, Qiagen, Germany). The purity and concentration of the genomic DNA were checked through spectrophotometry at 260/280 nm (Epoch, Biotek, Winooski, Vermont), and the DNA integrity was confirmed through 0.8% agarose gel electrophoresis. The SNPs were genotyped through 5'-Taqman genotyping assays (Applied Biosystems, Foster City, California) performed with an Applied Biosystems 7700HT Fast Real-time PCR System according to the manufacturer's instructions. The genotyping call rate surpassed 90% for all of the tested SNPs. We obtained greater than 90% concordance in 250 duplicate quality control samples that were included and genotyped.

2.4 | Statistical analysis

A descriptive analysis was performed for the demographic, clinical, and biochemical variables, which are expressed as frequencies, means and standard deviations (SD), or medians and interquartile ranges. The allelic and genotypic frequencies were determined, and the Hardy-Weinberg equilibrium of the 4 SNPs ($P > .05$) was confirmed in the controls. The groups were compared using Student's *t* test for the continuous variables and Pearson's χ^2 test for the categorical variables. The medians were evaluated using Mann-Whitney *U* test.

A logistic regression analysis of the association between each of the SNPs and the presence of T2D was performed by comparing the allelic and genotype frequencies between individuals with and without T2D. A stratified analysis was performed by age group (adults ≥ 19 years and children/adolescents < 19 years) and by sibling pairs. Age, sex, and BMI classification were considered covariates. In addition, the analyses were adjusted for intragroup correlations due to family clusters, which specifies that the standard errors allow for intragroup correlation, relaxing the usual requirement that the observations be independent, that is, the observations are independent across groups but not necessarily within groups (families). The family variable specifies to which group each observation belongs and affects the standard errors and variance-covariance matrix of the estimators but not the estimated coefficients.

A robust linear regression analysis was performed after adjusting for age, sex, and BMI classification to identify the associations between each of the SNPs and the quantitative variables related to T2D. This analysis involved an initial screening based on Cook's distance > 1 to eliminate gross outliers, a subsequent calculation of starting values, and the implementation of Huber iterations followed by biweight iterations.

The STATA SE v11.0 statistical package was used to perform the logistic and linear regressions, and statistical significance was considered at $P < .05$ and after a Bonferroni correction of $P < .0125$.

To perform the transmission disequilibrium test (TDT) for case-parent trios, we used the TDTEK procedure of the Statistical Analysis for Genetic Epidemiology (S.A.G.E.) package. TDTEK summarizes the number of transmitted compared with non-transmitted alleles and

implements several versions of the TDT for testing the linkage between a marker and a disease locus in the presence of allelic association or linkage disequilibrium.²⁵ We also integrated the results of the case-control and TDT analyses according to the method proposed by Kazoomi and Farral.²⁶

Pairwise linkage disequilibrium (LD, r^2) estimations between TCF7L2 polymorphisms and haplotype reconstructions were performed with Haploview v. 4.2 (Broad Institute of Massachusetts Institute of Technology and Harvard University, Cambridge, Massachusetts). The calculation of linkage disequilibrium in the cohort under examination demonstrated that both TCF7L2 SNPs segregate independently with a low *D'* of 0.587 and an r^2 value of 0.31. We calculated the power of the study using Quanto software (v. 1.2.4) and found that the power to detect markers in the case-control analysis using our samples was the following: with OR ≥ 1.4 , the detection power was 19%, 29%, and 33% for markers with 10%, 20%, and 50% minor allele frequencies, respectively; with OR ≥ 1.6 , the detection power was 34%, 51%, and 63% for markers with 10%, 20%, and 50% minor allele frequencies, respectively; and with OR ≥ 1.9 , the detection power was 58%, 79%, and 87% for markers with 10%, 20%, and 50% minor allele frequencies, respectively. The power to detect markers in the 57 case-parent trio analysis was the following: with OR ≥ 1.4 , the detection power was 13%, 29%, and 38% for markers with 10%, 20%, and 50% minor allele frequency, respectively; with OR ≥ 1.6 , the detection power was 21%, 33%, and 41% for markers with 10%, 20%, and 50% minor allele frequencies, respectively; and with OR ≥ 1.9 , the detection power was 37%, 55%, and 65% for markers with 10%, 20%, and 50% minor allele frequencies, respectively.

Power calculations for quantitative traits in non-T2D individuals revealed a power greater than 0.80 (at $\alpha = .05$) for detecting the additive allele effects shown in Table 5 for glucose in SNPs rs7903146, rs12255372, and rs13342232, for fasting insulin in rs12255372 and rs13342232, for 2-hour-insulin in rs7903146, rs13342232, and rs9782541, for C-peptide in rs7903146, for HOMA-IR in rs9782541, and for HOMA-B in rs7903146, rs12255372, and rs13342232. For the other presented associations, the power ranged from 0.10 to 0.70. The statistical power for the associations in participants with T2D were 0.99 for fasting insulin in rs7903146 and rs12255372, for C-peptide and HOMA-IR in rs12255372 and rs13342232, and for HOMA-B in all SNPs. The power ranged between 0.10 and 0.70 for the other effects shown.

3 | RESULTS

The demographic, anthropometric, and biochemical characteristics of the participants are shown in Table 1. Both the parents and the children with diabetes corresponded to early-onset disease (< 45 years). The allelic and genotype frequencies of the SNPs are presented in Table 2 for each family member in the different groups.

In adults and children, the G allele of SLC16A11/rs13342232 was found to be associated with the presence of T2D (adjusted odds ratio [OR_{adj}]: 1.63; $P = .009$ and OR_{adj}: 1.94; $P = .003$, respectively) after adjustment for age, sex, BMI classification, and family cluster. We observed a higher effect in the recessive model (OR_{adj}: 3.24;

TABLE 1 Demographics and clinical and biochemical characteristics of the participants

Characteristics	Case families				Control families	
	Children with T2D (n = 99)	Parents with T2D (n = 57)	Parents without T2D (n = 85)	Siblings without T2D (n = 86)	Children without T2D (n = 83)	Parents without T2D (n = 129)
Gender (male n [%]) ¹	45 (45.4)	18 (31.6)	47 (47.5) ²	45 (44.5)	44 (53.0)	57 (44.6)
Age (years) ²	12.9 ± 2.6	43.3 ± 7.3	40.7 ± 7.0 ²	16.4 ± 5.4 ³	12.5 ± 2.9	41.0 ± 6.1 ²
BMI (kg/m ²)	25.3 ± 5.3	29.4 ± 5.6	30.6 ± 6.0 ²	25.5 ± 6.0	24.1 ± 6.7	29.6 ± 5.6
WC (cm) ²	86.7 ± 16.0	94.8 ± 13.7	98.5 ± 17.5 ²	85.5 ± 15.5	83.0 ± 19.4 ²	94.7 ± 17.1
FG (mg/dL) ³	115.0 (93-192)	122.0 (125-275)	95.0 (87-101) ²	87.0 (82-92) ²	98.0 (84-95) ⁴	91.0 (84-97) ²
2-h glucose (mg/dL) ²			109.5 (92-125)	95.0 (81-112)	97.0 (81-110)	101.0 (88-122) ⁷
HbA1c (%) ²	9.4 (6.4-12.1)	9.7 (7.4-11.9)	5.6 (5.5-6.0) ²	5.6 (5.4-5.9) ²	5.6 (5.4-5.7) ²	5.7 (5.5-6.0) ²
HbA1c (mmol/mol)	79.2 (16.5-108.5)	84.7 (57.9-106.6)	39.9 (36.6-42.1) ²	37.7 (35.5-41.0) ²	37.7 (35.5-38.9) ²	38.8 (36.6-42.1) ²
FI (mU/mL) ²	9.9 (6.2-15)	5.0 (3.2-8.1)	8.4 (4.6-12.6)	6.4 (4.3-10.4) ³	7.6 (3.62-15.6) ⁴	6.9 (3.6-10.4)
2-h insulin (mU/mL) ²			49.7 (27.5-78.5)	36.9 (21.6-75.9)	45.2 (23.9-80.3)	42.4 (25.2-62.7)
C-peptide (ng/dL) ²	2.1 (1.0-2.4)	2.1 (1.0-2.8)	2.6 (2.0-3.5) ²	2.0 (1.5-2.6)	2.3 (1.6-3.9)	2.5 (1.8-3.3)
HOMA-IR ²	3.2 (1.5-5.3)	2.5 (1.6-3.9)	1.9 (1.1-3.1) ²	1.3 (0.9-2.2) ²	1.6 (1.0-3.0) ²	1.6 (1.0-2.3) ²
HOMA-B ²	69.4 (27.2-138.4)	15.5 (5.4-43.7)	91.9 (60.2-149.5) ²	101.8 (65.4-171.0) ²	103.0 (62.5-187.9) ²	81.8 (54.1-130.0) ²
QUICKI ²	0.3 (0.3-0.4)	0.3 (0.3-0.4)	0.3 (0.3-0.4) ²	0.4 (0.3-0.4) ³	0.4 (0.3-0.4) ²	0.4 (0.3-0.4) ²

Abbreviations: BMI: body mass index; FG: fasting glucose; FI: fasting insulin; HbA1c: glycated hemoglobin; HOMA-B: homeostatic model assessment of beta-cell function; HOMA-IR, homeostatic model assessment of insulin resistance; WC: waist circumference.

¹ The values expressed as n (%).

² Means (SD).

³ Medians (interquartile ranges).

⁴ P < .05: children with diabetes vs children without diabetes.

⁵ Siblings.

⁶ Parents with T2D vs parents without T2D of case families.

⁷ Parents without T2D of case families vs parents without T2D of control families.

⁸ Parents with T2D vs parents without T2D of control families.

P = 4.8e-3 in adults and OBadj: 5.52; P = 3.6e-04 in children). The other analyzed SNPs were not associated with disease in those families (Table 3). Similarly, no differences in terms of allele and genotype frequencies were observed between the sibling pairs.

A total of 57 trios with an offspring of T2D were analyzed. The allelic TDT did not show any significance between SNPs and T2D. The estimate of the combined OR of the case-controls and TDT for the SLC16A11/rs13342232 was 1.43 (P = .023) (Table 4).

The robust linear regression analysis revealed that in T2D patients, the TCF7L2/rs12255372 was associated with C-peptide after adjusting for age, sex, and BMI classification (β = -0.76, P = .005). Furthermore, participants without diabetes do not exhibit any association with C-peptide but did show associations with TCF7L2/rs12255372 and the fasting glucose (β = 2.05, P = .009) and HOMA-B (β = -32.14, P = .025) levels after adjusting for age, sex, and BMI classification (Table 5).

4 | DISCUSSION

Our study reveals the existence of an association between rs13342232 of the SLC16A11 gene and the presence of T2D;

however, the comparison of these results with those of previous studies of adult populations revealed that the role of this variant also affects risk when the disease occurs at 'ultra-early' ages (younger than 19 years). To the best of our knowledge, no previous reports of the association between this gene and T2D in childhood have been published.

Most studies involving genetic susceptibility to T2D have included individuals with an average age of approximately 50 years, and although the incidence of this disease is increasing in younger age groups, the prevalence of T2D in the pediatric population remains low. Therefore, the data from this group of 99 patients with T2D that presented before age 19 are of particular interest.

We analyzed 4 SNPs that have been associated with T2D in previous studies: 2 SNPs of the TCF7L2 gene, which have shown the most consistency in different populations,^{22,28} and 2 variants that have been described specifically in a Mexican population, although in patients who were older than the participants included in our study (SLC16A11/rs13342232 and ABCA1/rs9252541).^{23,24}

As mentioned, we identified the association between T2D and rs13342232 of the SLC16A11 gene in both pediatric and adult individuals through an additive model. This model assumes that the disease risk of heterozygous individuals is exactly half of that of homozygous

TABLE 2 Allelic and genotypic frequencies

Genotype/ allele	Caucasian families			Control families		
	Children with T2D (n = 99)	Parents with T2D (n = 57)	Parents without T2D (n = 85)	Siblings without T2D (n = 86)	Children without T2D (n = 83)	Parents without T2D (n = 129)
rs7903145						
CC	72.7	75.8	78.1	75.3	75.7	72.7
CT	25.0	22.5	19.2	19.8	20.3	26.4
TT	2.3	1.6	2.7	4.9	4.1	0.9
T	14.0	12	11.3	14.3	14.2	14.1
rs12255372						
CC	80.2	81.1	74.1	77.7	77.4	76
GT	18.7	18.9	24.7	21.3	23.7	21.6
TT	1.1	0	1.2	1.1	4.0	3.5
T	10.1	9.1	13.5	11.7	15.7	14.2
rs13347317						
AA	31.9	26.9	36.1	23.4	41.3	32.7
AG	38.5	48.1	48.8	50	49.3	57.4
GG	29.7	25	15.1	26.6	9.3	7
G	48.9	49	39.5	51.6	34.0	32.7
rs202541						
CC	75.8	74.1	73.3	74.5	77.3	78.3
CT	23.1	25.9	25.6	24.5	22.7	20.9
TT	1.1	0	1.2	1.1	0	0.9
T	12.6	12.9	13.9	13.1	11.3	11.3

individuals. However, 10% of the participants carrying 2 copies of the risk allele and, interestingly, of the participants in the group of children and adolescents, the homozygous carriers had more than twice the expected odds for T2D than what had been expected under a purely additive model. To the best of our knowledge, no previous study has shown an association with this SNP under a recessive model.

The overall frequency of allele G in the 1000 Genomes Project was noted to equal 0.16²⁷; however, higher frequencies have been reported in people of Mexican ancestry (0.20)²⁸ and a frequency similar to that observed in our study (0.19) was found in a mestizo Mexican population (0.48).¹⁹ The high frequency of allele G supports the

role of this SNP as an important risk marker in our population, independent of covariates such as age, sex, and the presence of overweight or obesity. Other researchers have described that haplotypes with this variant confer an approximately 2-year earlier risk of T2D ($P = 0.1 \times E-4$) and a 0.9 kg/m² lower BMI ($P = 5.2 \times E-4$) compared with non-carriers.¹⁹ The biological hypothesis for this association might be the fact that the expression of the rs16611 gene results in an increase in intracellular triglycerides, which might participate in hepatic lipid metabolism.¹⁹ This intracellular accumulation of lipids has been involved in the process of insulin resistance, which in turn, is the prelude for the development of T2D.²⁴

TABLE 3 Association of rs13842282, rs7903145, rs12255372 and rs202541 with T2D

Chr n	RA /OA	MA /AA	Patients with diabetes vs. participants without diabetes		Adults (>19 years)		Child-adolescents (<19 years)		Children with diabetes vs. children without diabetes	
			(n = 529)	(n = 928)	(n = 272)	(n = 102)	(n = 303)	(n = 303)		
7CF2.2	C/T	A/G	1.33	0.519	0.92	0.801	1.15	0.650	0.76	0.925
rs7903145			0.79; 1.61	0.222	0.49; 1.74	0.69; 2.34	0.69; 2.34	0.46; 2.00	0.38	0.733
7CF2.2	G/T	A/G	0.77	0.222	0.65	0.301	0.74	0.377	0.38	0.733
rs12255372			0.51; 1.17	0.002	0.35; 1.22	0.39; 1.3	0.39; 1.3	0.73; 1.80	0.31	0.763
rs16611	C/A	A/G	1.52	0.002	1.89	0.009	1.94	0.003	0.31	0.763
			1.16; 2.00	4.00E-04	1.16; 3.06	4.00E-03	1.25; 3.00	0.56; 1.17	0.56; 1.17	0.541
rs13347317	Rec	2.3	1.45; 3.64	0.0004	3.24	4.00E-03	5.53	3.60E-04	1.02	0.941
ABC41	C/T	A/G	0.98	0.938	1.34	0.351	1.05	0.887	0.33	0.955
rs202541			0.65; 1.48	0.79; 2.48	0.79; 2.48	0.57; 2.14	0.57; 2.14	0.43; 1.53	0.43; 1.53	0.955

Abbreviations: Add: additive; Rec: recessive; OA = risk allele; AA: other allele; ORad: OR adjusted by age, sex and BMI classification. In bold, P values < 0.05 .

TABLE 4 Allelic TDT results for the SNPs

SNPs	RA	T	NT	p value	TDT			Case-control			Combined Results			p value	P value ^a
					OR	95% CI		OR	95% CI		OR	95% CI			
rs7903146	C	13	0	.805	0.94	0.43	- 1.46	1.07	0.58	- 1.97	1.03	0.62	- 1.43	.896	.021
rs12255372	G	15	1	.852	0.93	0.37	- 1.50	0.67	0.36	- 1.25	0.80	0.38	- 1.28	.807	.122
rs13342232	C	26	21	.890	1.04	0.61	- 1.47	1.91	1.74	- 2.93	1.43	1.19	- 1.74	.023	.036
rs9282541	C	10	7	.818	0.90	0.21	- 1.59	1.07	0.53	- 2.13	0.96	0.50	- 1.46	.940	.779

Abbreviations: NT, non-transmitted; RA, risk allele; SNP, single-nucleotide polymorphism; T, transmitted; TDT, transmission disequilibrium test.
^aP value for test of homogeneity of odd ratios. In bold, P values < 0.05.

ABCA1 polymorphisms have been associated with decreased serum levels of HDL-cholesterol. This condition has been considered to be involved in insulin resistance and pancreatic β -cell cholesterol, which might contribute to β -cell dysfunction.^{29,30} Villareal-Molina et al, who analyzed Mexican individuals aged 20 to 69 years identified an association between rs9282541 in the ABCA1 gene in a dominant model of risk and early-onset T2D (OR: 2.75; P = 9.4E-8), and this association was somewhat lower in the later-onset forms (OR: 1.82; P = .010).²⁴ Similar findings were reported by Lara-Riegos et al in Mayas (OR: 2.29; 95% CI: 1.33-3.92, P = .003) however, this study did not consider the age of presentation in the analysis.²⁴ In contrast to these results, Campbell et al did not identify an association for this variant in adults of Native American ancestry from Colombia.²³ The frequency of this variant in our study is higher than that obtained in the 1000 Genomes Project (0.12 vs <0.01).²⁷ However, we did not identify an association with this SNP, but we cannot

conclude a lack of association due to the low statistical power of our study.

We observed lower frequencies in the TCF7L2 gene variants compared with the 1000 Genomes Project (0.13 vs 0.28 for rs7903146 and 0.13 vs 0.21 for rs12255372).²⁷ The SNPs in TCF7L2 have been consistently associated with T2D (rs7903146 with OR 1.39; 95% confidence interval [CI]: 1.34-1.45; and rs12255372 with OR: 1.33; 95% CI: 1.34-1.42) in different populations.^{12,26} Other studies have already described this association in Mexicans,²²⁻²⁴ although other studies of different populations have not identified this association.^{24,26-27} Regarding the age of presentation, this association has been reported in Caucasians, Mexican and Mexican-American populations at a younger age at onset.^{9,38,39} In a pediatric population, Dabaha et al also identified an association of rs7903146 with T2D risk in African Americans (OR: 1.97; 95% CI: 1.37-2.82, P = .0002), but this association was not observed in non-Hispanic

TABLE 5 Associations of rs13342232, rs7903146, rs12255372, and rs9282541 with related glyemic traits in individuals with and without diabetes

Trait	rs7903146		rs12255372		rs13342232		rs9282541	
	β	P	β	P	β	P	β	P
Participants with diabetes (n = 150)								
FG (mg/dL)	-0.21	.984	2.00	.903	6.66	.787	3.59	.826
HbA1c (%)	1.0	.051	0.34	.560	-0.13	.732	-0.07	.973
HbA1c (mmol/mol)	11.2	.051	3.7	.560	-1.5	.752	-0.22	.973
FI (mU/mL)	-1.55	.431	-3.88	.098	-3.08	.162	-0.27	.921
C-peptide (ng/dL)	-0.15	.540	-0.76	.005 ^f	-0.30	.175	-0.21	.502
HOMA-IR	-0.02	.977	-1.03	.139	-0.85	.169	-0.04	.957
HOMA-B	-59.79	.032	-94.47	.090	-52.31	.061	25.81	.496
QUICKI	0.01	.538	0.01	.533	0.01	.471	-0.01	.064
Participants without diabetes (n = 303)								
FG (mg/dL)	-0.72	.424	2.05	.089	0.77	.316	-0.22	.831
2-h glucose (mg/dL)	0.83	.768	-3.91	.108	-1.07	.575	5.24	.071
HbA1c (%)	0.11	.791	-0.06	.729	-0.05	.948	-0.03	.569
HbA1c (mmol/mol)	1.3	.291	-0.70	.229	-0.52	.349	-0.05	.569
FI (mU/mL)	-0.03	.973	-0.73	.563	-0.20	.793	0.68	.397
2-h insulin (mU/mL)	4.74	.454	-2.03	.268	-5.58	.262	10.17	.030
C-peptide (ng/dL)	-0.22	.151	0.02	.905	-0.10	.701	-0.02	.865
HOMA-IR	0.01	.961	-0.08	.720	-0.05	.747	0.19	.308
HOMA-B	-13.11	.338	-32.14	.025	-6.48	.555	-0.10	.993
QUICKI	0.01	.236	0.01	.320	0.01	.825	0.01	.899

The data expressed as β coefficient is under an additive model adjusted by age, sex, and BMI classification.

Abbreviations: FG, fasting glucose; FI, fasting insulin; HbA1c, glycated hemoglobin; HOMA-B, homeostatic model assessment of beta cell function; HOMA-IR, homeostatic model assessment of insulin resistance; QUICKI, quantitative insulin sensitivity check index. In bold, P values < 0.05.

^f Significant association after Bonferroni correction.

whites, and an association with rs12255372 was not found.¹⁶ This lack of association might be explained by the small sample size similar to that of this study, which revealed a power less than 60% for TCF7L2 SNPs.

However, in diabetic patients, we observed that TCF7L2 rs12255372 was associated with lower levels of C-peptide independent of age, sex, and BMI classification. T2D is a progressive disease characterized by a continuous loss of β -cell function. These cells synthesize the proinsulin pro-peptide, which is processed by proteases to form mature insulin by removing C-peptide. This peptide is secreted at an equimolar ratio to insulin and helps endogenous insulin secretion.¹⁷ In this sense, the SNPs in the TCF7L2 gene can modify the processing of pro-insulin in the β cell¹⁸ and have been associated with detrimental β -cell function in newly diagnosed T2D cases.¹⁹

In individuals without diabetes, we found that rs12255372 in the TCF7L2 gene was associated with higher fasting glucose levels ($\beta = 2.05$, $P = 0.09$) and less HOMA-B ($\beta = -32.34$, $P = 0.05$) independent of age, sex, and the presence of overweight or obesity. Other researchers have observed similar results for these and other glycemic and insulin variables²⁰ and have also observed them in children.²¹ The findings regarding β -cell function in individuals without T2D might be explained by the involvement of the TCF7L2 gene in the entero-insular axis (cell gene expression, and insulin secretion)²² and although this gene does not increase the risk of obesity, its effect on T2D can be modulated by the BMI.²³ Other studies have also identified the association of SNPs with quantitative variables related to glucose and insulin. In individuals without diabetes,²⁴ however, prospective studies are needed to corroborate their association with T2D.

Although the number of cases of early-onset T2D is increasing, the low prevalence of T2D in pediatric patients has made patient recruitment difficult; therefore, the low sample size is the main limitation of this study. In addition, the role of variants in the pathogenesis of the disease needs to be confirmed by prospective studies. Furthermore, the methods used to measure resistance, secretion, and insulin sensitivity, which were evaluated through surrogate variables, are limited in their interpretation.

In conclusion, the rs13042223 SNP of the SLC6A13 gene was associated with the risk of early-onset and "late-onset/young" T2D in Mexican families. Moreover, the rs129545371 SNP in the TCF7L2 gene was found to be associated with pancreatic reserve in patients with T2D and with fasting glucose and β -cell function in individuals without diabetes.

ACKNOWLEDGMENTS

Some of the results of this article were obtained during the S.A.G.F. program (some of which is supported by a US Public Health Service Resource Grant [R01DK05555] from the National Center for Research Resources).

REFERENCES

- Jimenez-Corona A, Aguilar-Salinas CA, Rojas-Martinez R, Hernandez-Avila MA. Diabetes mellitus tipo 2 y frecuencia de alelos por su prevalencia y etiológico. *Salud Publica Mex*. 2015;55:137-143.

- Jimenez-Corona A, Rojas R, Gomez-Perez EJ, Aguilar-Salinas CA. Family-based type 2 diabetes in a Mexican sibpair: results from the National Health and Nutrition Survey 2006. *Stat Med*. Mar 2010;29:527-535.
- Guerrero-Romero F, Wilkink F, Rodriguez-Koca M. Distribution of fasting plasma glucose and prevalence of impaired fasting glucose, impaired glucose tolerance and type 2 diabetes in the Mexican paediatric population. *Pediatr Res*. Oct 2007;220:369-369.
- Pat Fane S. Role of glycaemia and glycaemia in the pathophysiology of type 2 diabetes mellitus and emerging treatment strategies. *Diabetologia*. 2007;25:1185-1192.
- Zeller P, Fu J, Tandon A, et al. Type 2 diabetes in the third and subsequent Mexican Diabetes 2014. *Diabetologia*. 2014;57:46-46.
- Leroux-Gauthier I, Aguilar-Salinas C, Tade-Luna T, et al. Early-onset type 2 diabetes mellitus: The experience from a third level medical institution. *Car Metabol*. 2010;9:46709-184.
- Rivera Vega MY, Hiler A, Winger TK, Fomon L, Arvanian S. Obesity and youth diabetes: distinguishing characteristics between self-reported positive vs. negative parents over time. *Pediatr Diabetes*. 2012;16:375-381.
- Langerberg C, Stamp SJ, Furlow PW, et al. Gene-environment interaction and type 2 diabetes: the EPPIC internet case-control study. *Endo Metab*. 2014;11:1070-1047.
- Sanchez-Medina R, Hernandez-Vergara A, Moreno-Ramos M, et al. Contribution of common genetic variation in the risk of type 2 diabetes in the Mexican population. *Diabetes*. 2012;61:3324-3331.
- Calderon D, Datta LM, D'Aquino R, et al. Association leading of TCF7L2 polymorphisms with type 2 diabetes in multi-ethnic youth. *Diabetologia*. 2011;54:839-839.
- Sanchez R, Flores CG, Que Y, et al. Large scale gene-environment analyses across 39 studies identifies type 2 diabetes hot. *Am J Hum Genet*. 2012;90:450-455.
- Wang J, Zhang J, Li L, et al. Association of rs12255372 in the TCF7L2 gene with type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis. *BMC J Med Biol Res*. 2012;24:6202-272.
- Wallgren A, Larbes SP, Moreno-Manes R, et al. Sequence variants in SLC16A11 and a common risk factor for type 2 diabetes in Mexican Mestizo. 2014;69:97-101.
- Williams-Mannan MT, Fagan-Duranis MT, Melnick-Campos O, et al. Association of the ATP-binding cassette transporter A1 B39C variant with early-onset type 2 diabetes in a Mexican population. *Diabetes*. 2007;56:509-513.
- James AS, Vignati V, Bakker A, et al. Impact of type 2 diabetes susceptibility variants on quantitative glycemic traits reveals mechanistic heterogeneity. *Diabetes*. 2014;63:188-197.
- Mortinez-Konigz V, Villedores A, Cameron E, et al. Mixture in Mexican CR1: implications for admixture mapping of type 2 diabetes genetic risk factors. *Hum Genet*. 2004;110:307-307.
- Perez EJ, Bellow JE, Kothika S, et al. Genome-wide association study of type 2 diabetes in a sample from Mexico City and a meta-analysis of a Mexican American sample from Starr County, Texas. *Diabetes*. 2011;60:3038-3044.
- Calderon JM, Fernandez Lopez JC, Cignoux CR, et al. Development of a panel of genome-wide ancestry informative markers to study admixture throughout the Americas. *PLoS Genet*. 2012;8:e1002254.
- American Diabetes Association. Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care*. 2012;35:978-991.
- Matthew DR, Hosker DR, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28:977-982.
- Katz A, Nambi SS, Mather K, et al. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;89:2502-2510.
- Saunier R, Vaugier BF, Lyssenko V, et al. Common-variant association analyses identifies Loci for type 2 diabetes and triglyceride levels. *Sci Transl Med*. 2009;1:31ra1331-1335.
- Kacour GR, Farwell M. Integrating case-control and TDT studies. *Am Hum Genet*. 2005;69:329-335.

24. Lara-Ringes JL, Ortiz-Lopez MG, Pena-Espinosa RI, et al. Diabetes susceptibility in Mayas: Evidence for the involvement of polymorphisms in HHEX, HNF4alpha, KCNU11, PPARgamma, CDKN2A/2B, SLC30A8, CDC123/CAMK1D, TCF7L2, ABCA1 and SLC16A11 genes. *Gene*. 2015;565:63–75.
25. Fisher RC, Gray-McGuire C. A review of the 'Statistical Analysis for Genetic Epidemiology' (S.A.G.E.) software package. *Hum Genomics*. 2004;1:455–459.
26. Peng S, Zhu Y, Li R, Xu F, Li X, Jai M. TCF7L2 gene polymorphisms and type 2 diabetes risk: a comprehensive and updated meta-analysis involving 121,174 subjects. *Mutagenesis*. 2013;28:25–37.
27. Aburatani H, Auton A, Rumble IO, et al. An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. *Nature*. 2017;549:1–66.
28. Savage DB, Sempke RK. Recent insights into fatty liver, metabolic dyslipidemia and their links to insulin resistance. *Curr Opin Lipidol*. 2010;21:329–335.
29. Bushnam LR, Knitt JK, Verheem CB, Hayden MR. Cholesterol in islet dysfunction and type 2 diabetes. *J Clin Invest*. 2008;118:403–408.
30. Surek JM, Castle JD, Trace AP, et al. An intracellular role for ABCG1-mediated cholesterol transport in the regulated secretory pathway of mouse pancreatic B cells. *J Clin Invest*. 2010;120:2575–2589.
31. Campbell DD, Parra MV, Duque C, et al. Amerind ancestry, socioeconomic status and the genetics of type 2 diabetes in a Colombian population. *PLoS One*. 2012;7:e33570.
32. Cruz M, Valladares-Salgado A, Garcia-Mena J, et al. Candidate gene association study conditioning on individual ancestry in patients with type 2 diabetes and metabolic syndrome from Mexico City. *Diabetes Metab Res Rev*. 2010;26:261–270.
33. Martínez-Gómez LE, Cruz M, Martínez-Nava GA, et al. A replication study of the IRS1, CAPN10, TCF7L2, and PPARγ gene polymorphisms associated with type 2 diabetes in two different populations of Mexico. *Ann Hum Genet*. 2011;75:611–620.
34. Parra E, Cameron E, Simmonds L, et al. Association of TCF7L2 polymorphisms with type 2 diabetes in Mexico City. *Clin Genet*. 2007;71:359–366.
35. Kalveit C, Koldemir M, Caplaty P, et al. Relationship of transcription factor 7-like 2 gene rs7903146 variation with type 2 diabetes and obesity related parameters. *Diabetes Metab Syndr*. 2012;4:48–53.
36. Seadi H, Nagallerka N, Carnithers SG, et al. Association of TCF7L2 polymorphism with diabetes mellitus, metabolic syndrome, and markers of beta cell function and insulin resistance in a population based sample of Finnish subjects. *Diabetes Res Clin Pract*. 2008;80:392–398.
37. Park SE, Lee WY, Oh KW, et al. Impact of common type 2 diabetes risk gene variants on future type 2 diabetes in the non-diabetic population in Korea. *J Hum Genet*. 2012;53:265–268.
38. Sibemaghi G, Renner W, Grammer TB, et al. Association of TCF7L2 SNPs with age at onset of type 2 diabetes and proinsulin/insulin ratio but not with glucagon-like peptide 1. *Diabetes Metab Res Rev*. 2011;27:499–505.
39. Lehman DM, Hunt KI, Leach RJ, et al. Haplotypes of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene and its upstream region are associated with type 2 diabetes and age of onset in Mexican Americans. *Diabetes*. 2002;51:389–393.
40. Saitoh Y. Postprandial C-peptide to glucose ratio as a marker of B cell function: Implication for the management of type 2 diabetes. *Int J Med Sci*. 2016;17:744.
41. Inos R, Franks PW, Francis RW, et al. TCF7L2 polymorphisms moderate proinsulin levels and beta-cell function in a British European population. *Diabetes*. 2007;56:1943–1947.
42. Ronetti S, Trombetta M, Maltoni G, et al. Variants and haplotypes of TCF7L2 are associated with beta-cell function in patients with newly diagnosed type 2 diabetes: the Verona Newly Diagnosed Type 2 Diabetes Study (VNDS) 1. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;95:4389–4393.
43. Delgado-Lista I, Perez-Martinez P, Garcia-Rios A, et al. Pleiotropic effects of TCF7L2 gene variants and its modulation in the metabolic syndrome: from the LIPGENE study. *Atherosclerosis*. 2011;214:110–116.
44. Marz C, Huth C, Kolt M, et al. Variants of the transcription factor 7-like 2 gene (TCF7L2) are strongly associated with type 2 diabetes but not with the metabolic syndrome in the MONICA/KORA surveys. *Hum Metab Res*. 2007;33:46–52.
45. Wegner L, Hussain ME, Pilgaard K, et al. Impact of TCF7L2 rs7903146 on insulin secretion and action in young and elderly Danish twins. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;93:4013–4019.
46. Palmer ND, Lehtinen AR, Langefeld CD, et al. Association of TCF7L2 gene polymorphisms with reduced acute insulin response in Hispanic Americans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:304–309.
47. Chaihan G, Spurgeon CJ, Tabassum R, et al. Impact of common variants of PPARγ, KCNU11, TCF7L2, SLC30A8, HHEX, CDKN2A, IGF2BP2, and CDKAL1 on the risk of type 2 diabetes in 5,151 Indians. *Diabetes*. 2010;59:2058–2074.
48. Steleman ES, Manning AK, McAteer JR, et al. TCF7L2 variants are associated with increased proinsulin/insulin ratios but not obesity traits in the Framingham Heart Study. *Diabetologia*. 2009;52:614–620.
49. Gambino R, Bo S, Gentile I, et al. Transcription factor 7-like 2 - (TCF7L2) polymorphism and hyperglycemia in an adult Italian population based cohort. *Diabetes Care*. 2010;33:1233–1235.
50. Chandak GR, Janpalli CS, Bhasani S, et al. Common variants in the TCF7L2 gene are strongly associated with type 2 diabetes mellitus in the Indian population. *Diabetologia*. 2007;50:63–67.
51. Roth CL, Hinney A, Rander T, et al. TCF7L2 polymorphism rs7903146 and predisposition for type 2 diabetes mellitus in obese children. *Hum Metab Res*. 2008;34:713–717.
52. Lysenko V, Ludl R, Marchetti P, et al. Mechanisms by which common variants in the TCF7L2 gene increase risk of type 2 diabetes. *J Clin Invest*. 2007;117:2155–2163.
53. Cauchi S, Choquet H, Gutierrez-Agullar R, et al. Effects of TCF7L2 polymorphisms on obesity in European populations. *Obesity (Silver Spring)*. 2008;16:476–482.
54. Kuvaci J, Šušter Tomovski T, Rozmanič T, et al. DEPTOR promoter genetic variants and insulin resistance in obese children and adolescents. *Pediatr Diabetes*. 2016. doi:10.1111/pedi.12371. [Epub ahead of print]

How to cite this article: Miranda-Lora AL, Cruz M, Molina-Diaz M, Gutierrez J, Flores-Huerta S, Klinder-Klinder M. Associations of common variants in the SLC16A11, TCF7L2, and ABCA1 genes with pediatric-onset type 2 diabetes and related glycaemic traits in families: A case-control and case-parent trio study. *Pediatr Diabetes*. 2017. doi: 10.1111/pedi.12497

ANEXO 12. Constancias de premios



Sociedad Mexicana de
Endocrinología y Pediatría, A.C.

Otorga la presente constancia de

Primer Lugar

a la

Dra. América Liliana Miranda Lora

con la presentación oral del trabajo libre titulado

Agregación familiar, transmisión parental y heredabilidad de la Diabetes Mellitus tipo 2 en familias de niños y adolescentes mexicanos.

Dentro del marco del 13 Congreso Anual
Querétaro, Qro. 29 de agosto al 1 de septiembre del 2012

América L. Miranda
Dra. América Liliana Miranda
Presidente

Carlos Robles Valdés
Dr. Carlos Robles Valdés
Vicespresidente

Margarita Torres Tamayo
Dra. Margarita Torres Tamayo
Secretaría Tesorera



LA ACADEMIA MEXICANA DE PEDIATRÍA, A.C.

Otorga la 11° Distinción Nacional de Investigación
Pediátrica - Academia Mexicana De Pediatría 2014

A los Doctores América Lilianna Miranda Lora

Comisarios

Dr. Miguel Alvarado Alvarado - Dr. Samuel Flores Huerta

Por su Obra Titulada:

*"Agregación familiar, transición neonatal y heredabilidad de la diabetes mellitus tipo 2 de
inicio en la edad pediátrica en familias de niños y adolescentes mexicanos.*

Según dictamen del jurado de selección y edición del presente

Diploma México, D.F. a 04 de Diciembre de 2014

M. en C. José Esteban Ballsteros del Olmo

Presidente

Dr. David Villegas Pichas

Secretario



La Academia Mexicana de Pediatría, A.C. y
La Asociación Mexicana de Pediatría, A.C.

Otorga el presente

DIPLOMA

A América Liliana Miranda Lora, Mario Molina Díaz, Miguel Cruz López,
Jorge Gutiérrez Cuevas, Samuel Flores Huerta y Miguel Klünder Klünder.
Por haber obtenido el premio

“DR. LÁZARO BENAVIDES VÁZQUEZ”

Por su trabajo titulado:

**NO TODOS LOS SNPs DE RIESGO PARA DM2 SE ASOCIAN A LA PRESENTACIÓN TEMPRANA DE LA
ENFERMEDAD PERO SI A LA FUNCIÓN PANCREÁTICA Y RESISTENCIA A LA INSULINA
¿CUESTIÓN DE TIEMPO?**

En el marco del 34º Congreso Nacional de Pediatría.

México, D.F., a 31 de julio del 2015.

Dra. Ma. de la Luz Iracheta Gerez
Presidenta
Asociación Mexicana de Pediatría, A.C.

M. en C. Julio César Ballesteros del Olm
Presidente
Academia Mexicana de Pediatría, A.C.



" La Salud del Niño es Nuestra Misión "

ASOCIACION MEXICANA DE PEDIATRIA, A.C.

MIEMBRO DE LA ASOCIACION INTERNACIONAL DE PEDIATRIA
AFILIADO INTERNACIONAL DE LA AMERICAN ACADEMY OF PEDIATRICS
MIEMBRO DE LA ASOCIACION LATINOAMERICANA DE PEDIATRIA

Otorga el presente

DIPLOMA

A: América Miranda Lora, Mario Díaz Molina, Miguel Cruz,
Samuel Flores Huerta y Miguel Klünder Klünder.

**Por haber obtenido el 1er. Lugar del Premio
"DR. LEOPOLDO VEGA FRANCO"**

Por su trabajo libre titulado:

**"ASOCIACIÓN DEL PUNTAJE DE RIESGO GENÉTICO Y
FACTORES HEREDOFAMILIARES Y AMBIENTALES CON DIABETES MELLITUS TIPO 2
DE INICIO EN LA EDAD PEDIÁTRICA"**

En el marco de la XVII Asamblea Mexicana de Pediatría.

Ciudad de México a 29 de Julio del 2016.

Dra. Ma. de la Luz Iracheta Gerez
Presidenta AMP, A.C.

Dr. Miguel Angel Villasis Keever
Coordinador del Premio



**SOCIEDAD MEXICANA DE
ENDOCRINOLOGÍA PEDIÁTRICA, A. C.**

**SMEP
2016**

OTORGA LA PRESENTE

CONSTANCIA

Miranda-Lora Al, Cruz-López M, Molina-Díaz M, Klünder-Klünder

Por haber obtenido el 1er Lugar en la sesión de Trabajos Libres con la Investigación:

**ANÁLISIS DE DESEQUILIBRIO DE TRANSMISIÓN DE POLIMORFISMOS DE UN SOLO
NUCLEÓTIDO ASOCIADOS A DIABETES MELLITUS TIPO 2 DE INICIO EN LA EDAD
PEDIÁTRICA.**

Durante el XVII Congreso Anual, celebrado del 24 al 27 de
Agosto de 2016 en la Ciudad de Campeche, México

Dra. Ninel Coyote Estrada
Vicepresidente SMEP

Dra. Margarita Torres Tamayo
Presidenta SMEP

Dra. Blanca Estela Aguilar Herrera
Secretario Tesorero SMEP