



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA**

**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO E INVESTIGACIÓN**

**HOSPITAL GENERAL "DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ"**

**“ASOCIACIÓN DE LOS POLIMORFISMOS RS4148628, RS59852838,  
RS1799859 Y RS4148646 DEL GEN ABCC8 QUE CODIFICA  
PARA EL RECEPTOR DE SULFONILUREA TIPO 1, CON LA DIABETES  
MELLITUS TIPO 2”**

**TESIS:  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA**

**PRESENTA:  
DRA. CINDY ASTRID LEAL AHUMADA**

**ASESOR:  
DR. RICARDO GONZÁLEZ RAMÍREZ  
Investigador en Ciencias Médicas C, Adscrito al  
Departamento de Biología Molecular e Histocompatibilidad.  
Hospital General “Dr. Manuel Gea González”**

**CIUDAD DE MÉXICO, SEPTIEMBRE DE 2022**



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.

**"HOSPITAL GENERAL "DR. MANUEL GEA GONZÁLEZ"**

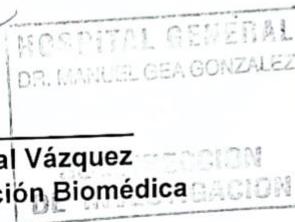
**AUTORIZACIONES**



**Dra. María Del Pilar Mata Miranda**  
**Directora de Enseñanza e Investigación**



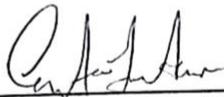
**Dra. Rosa Patricia Vidal Vázquez**  
**Subdirectora de Investigación Biomédica**



**Dr. Ricardo González Ramírez**  
**Departamento de Biología molecular**  
**e Histocompatibilidad**  
**Tutor principal**



**Dra. Erika Karina Tenorio Aguirre**  
**Jefe del servicio y profesor adjunto del curso**  
**de Medicina interna**



**Dra. Cindy Astrid Leal Ahumada**  
**Residente de Medicina Interna**  
**Sustentante**

Este trabajo de tesis con número de registro: **12-65-2022** presentado por el **Dra. Cindy Astrid Leal Ahumada** y se presenta en forma con visto bueno por el tutor principal de la tesis el Dr. Ricardo González Ramírez con fecha septiembre 2022.



---

Dra. Rosa Patricia Vidal Vázquez  
Subdirectora de Investigación Biomédica



---

Dr. Ricardo González Ramírez  
Investigador Principal

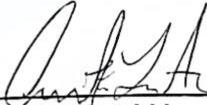
**“Asociación de los polimorfismos rs4148628, rs59852838, rs1799859 y rs4148646 del gen ABCC8 que codifica para el receptor de sulfonilurea tipo 1, con la diabetes mellitus tipo 2”**

Este trabajo fue realizado en el Hospital General "Dr. Manuel Gea González" en la División de Medicina Interna bajo la dirección del Dr. Ricardo González Ramírez con el apoyo de la Dra. Rosa Patricia Vidal Vázquez de la División de Investigación Biomédica, así como los adscritos de la división inicial quienes orientaron y aportaron a la conclusión de este trabajo.



---

**Dr. Ricardo González Ramírez**  
Investigador Principal



---

**Dra. Cindy Astrid Leal Ahumada**  
Investigador Asociado Principal

## ÍNDICE

I.	RESUMEN.....	1
II.	INTRODUCCIÓN.....	4
III.	JUSTIFICACIÓN.....	11
IV.	HIPÓTESIS.....	12
V.	OBJETIVOS.....	12
VI.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
VII.	CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	19
VIII.	RESULTADOS.....	20
IX.	DISCUSIÓN.....	21
X.	CONCLUSIÓN.....	23
XI.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25
XII.	FIGURAS.....	30
XIII.	TABLAS.....	32

## **I. RESUMEN**

**Introducción:** La diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) se encuentra clasificada como una enfermedad de atención prioritaria en nuestro país y tiene un aumento progresivo de la prevalencia en los últimos años. Esta enfermedad se caracteriza principalmente por la falta de secreción de insulina, la secreción de insulina está regulada por una gran variedad de proteínas, dentro de estas se encuentra el receptor a sulfonilureas 1 (codificado por el gen *ABCC8*), la evidencia ha mostrado que algunos polimorfismos en este gen se han asociado con la DMT2 en diferentes poblaciones. Con este estudio podremos precisar si los polimorfismos rs4148628, rs59852838, rs1799859 y rs4148646 encontrados en el gen *ABCC8* pueden estar asociados con un mayor riesgo a padecer la DMT2.

**Objetivo:** Establecer la asociación de los polimorfismos rs4148628, rs59852838, rs1799859 y rs4148646 del gen *ABCC8* con la DMT2.

### **Materiales y métodos:**

#### **a) Universo de estudio:**

Pacientes mayores de edad mexicanos (población contemporánea mestiza, nacido en México, tener un apellido de origen español y ancestros de origen mexicano tres generaciones hacia atrás) que acudan al Servicio de Medicina Interna del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”.

#### **b) Población de estudio:**

**Casos:** Pacientes mayores de edad mexicanos con diagnóstico de DMT 2, con glucosa en ayunas  $\geq 126$  mg/dl, con registros recientes de niveles de insulina y de hemoglobina glicosilada en el expediente, que acudan al Servicio de Medicina Interna del Hospital General “Dr. Manuel Gea González” y que deseen participar en el protocolo.

**Controles:** Pacientes mayores de edad mexicanos sin diagnóstico de DMT2, con glucosa en ayunas  $\leq 110$  mg/dl, con registros recientes de niveles de insulina y de hemoglobina glicosilada en el expediente, que acudan al Servicio de Medicina

Interna del Hospital General “Dr. Manuel Gea González” y que deseen participar en el protocolo.

**c)Tamaño de muestra (formula y parámetros o programa y parámetros):**

El tamaño de muestra se calculó con el software Epidat versión 4.2 (<https://www.sergas.es/Saude-publica/EPIDAT>). Proporción de casos expuestos 58%, Odds ratio a detectar 1.69, Nivel de confianza 95% y Potencia, 80%. Número de Pares 250.

**d)Tipo de Muestreo (en función al diseño del estudio):** Secuencial

**Resultados:** Se incluyeron 181 pacientes de la base de datos del servicio de Medicina Interna, 91 pacientes con diagnóstico de diabetes tipo 2 y 90 pacientes sanos entre enero del 2022 y octubre de 2022. Del total de pacientes, 90 eran hombres (49.7%) y 91 mujeres (50.3%). La media de edad fue de 52.155. La media del IMC fue de 26.2 kg/m<sup>2</sup>.

En cuanto a las características bioquímicas los controles presentaron un promedio de hemoglobina glicosilada de 4.9% en comparación con los pacientes con DMT2 que fue de 8.4%, los niveles de glucosa en ayunas en el grupo de pacientes con diabetes tipo 2 fue de 172 mg/dl y en los controles de 92 mg/dl. Respecto a las características alélicas de los polimorfismos del gen *ABCC8* se encontró la presencia del alelo rs1799859A en un 47 % de los casos y en un 41% de los controles, con este tamaño de muestra de 181 no se encontró una diferencia significativa (P=0.392883) OR: 1.2761, y del alelo rs4148646G estuvo presente en un 43% de los casos y en un 39% de los controles no se encontró una diferencia significativa (P=0.565659) OR: 1.799. La frecuencia genotípica se encontró el genotipo rs1799859A/A en un 25% de los casos y en un 15% de los controles no se encontró una diferencia significativa (P 0.076864) OR: 1.8889, rs4148646 en un 22% de los casos y un 15% de los controles no se encontró una diferencia significativa (P=0.203092) OR:1.5983. Dentro de los modelos de asociación del polimorfismo rs1799859 del gen *ABCC8* con la DMT2 el alelo recesivo A/A estuvo presente en un 13% de los casos y en un 15% de los controles no se encontró una diferencia significativa (P=0.09) OR:0.52. según la frecuencia de haplotipos

predomino rs1799859A, rs4148646G en un 2% de los casos y un 0.8% de los controles no se encontró una diferencia significativa ( $P=0.5$ ) OR: 2.020.

**Conclusiones:** El gen del receptor (SUR1) puede desempeñar un papel en la susceptibilidad a la DMT2. En este estudio concluimos que la frecuencia alélica y genotípica de los SNP rs1799859 A, A/A y rs4148646 G, G/G podrían ser un factor predisponente para esta enfermedad. El patrón de herencia Recesivo rs1799859 A/A podría ser un factor protector para DT2. La presencia de haplotipos de los SNP rs1799859A y rs4148646G podría dar un riesgo mayor de dos veces de padecer esta enfermedad. Si se confirmaran estas asociaciones, podrían sugerir una relación general entre los SNP del gen *ABCC8* y la DMT2. Por lo tanto, consideramos que se requieren de más estudios en población mexicana con un mayor tamaño de muestra que incluya pacientes de diferentes estados del país. De esta forma en un futuro disponer de más marcadores genéticos para detectar precozmente alteraciones genéticas que puedan predisponer a esta enfermedad.

## II. INTORDUCCIÓN

La prevalencia de la diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) es un problema importante de salud en todo el mundo y está aumentando a un ritmo acelerado, de un 6.4% (285 millones) entre adultos de 20 a 79 años en el año 2010, pasará a un 7.7% (438 millones) para el año 2030 (1). Aproximadamente el 5%-10% de los pacientes con diabetes están afectados por el tipo 1 (DMT1) y más del 90% por la DMT2 (1). La DMT2 es una enfermedad crónica caracterizada por niveles elevados de glucosa en sangre causados por una producción insuficiente de insulina por parte del páncreas o por una respuesta inadecuada de las células del cuerpo a la insulina. Aproximadamente el 90% de pacientes que tienen DMT2 presentan en etapas tempranas una serie de complicaciones como la hiperglucemia, polifagia, polidipsia, poliuria y visión borrosa y finalmente los lleva a desarrollar complicaciones tardías como enfermedad vascular, enfermedad cardíaca, accidente cerebrovascular, neuropatía periférica, nefropatía y predisposición a la infección (2). En México, la DMT2 lidera las tasas de mortalidad desde 2005 y en la actualidad representa la primera causa de muerte en el país con una prevalencia de 11.8%. Los costos asociados al tratamiento médico de la DMT2 son de 450 millones de dólares anuales, y el 75% de los pacientes diagnosticados no observan un control glucémico adecuado aún con asistencia médica. Estos factores hacen que la DMT2 sea una preocupación crítica para los sistemas de investigación y salud pública.

Las terapias actuales para la DMT2 incluyen modificaciones en el estilo de vida y el uso de medicamentos antidiabéticos orales, siendo las sulfonilureas las más utilizadas, como por ejemplo la glicazida, glibenclamida, glimepirida y glipizida. Sin embargo, el tratamiento con las sulfonilureas muestra variación en la respuesta hipoglucémica, con aproximadamente 10 a 20 % de los pacientes que tienen una reducción de menos de 20 mg/dl en la glucosa plasmática en ayunas (GPA) llamada falla primaria de sulfonilureas. Además, entre el 50 y el 60 % de los pacientes tendrán inicialmente una reducción de la GPA superior a 30 mg/dl, pero no alcanzarán los objetivos de tratamiento glucémico deseados (3). Esta respuesta inadecuada al tratamiento puede ser debida a que la DMT2 es una enfermedad multifactorial causada por la interacción de factores de riesgo genéticos y

ambientales (4). Los factores de riesgo ambientales incluyen la obesidad, la inactividad física, hipertensión, niveles anormales de colesterol, edad y tabaquismo. A los factores genéticos se les atribuye más del 70% del riesgo a padecer DMT2, ya que personas con antecedentes familiares de DMT1 y DMT2 tienen entre tres y seis veces más probabilidades de desarrollar esta enfermedad (4). Dentro de los factores genéticos se encuentran las mutaciones en el ADN genómico, de estas mutaciones, se sabe que los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) están asociados con la susceptibilidad a presentar diferentes tipos de diabetes mellitus (5). Los SNP son el tipo de variación genética más común y dispersa en el genoma humano con una frecuencia menor del 1% (5).

Estudios recientes de asociación del genoma completo (GWAS) han identificado más de 500 genes que aumentan el riesgo de tener DMT2 (5). De estos genes que han surgido en los estudios GWAS existen varios que han atraído mucho la atención por su relación con la DMT2, entre ellos se encuentran el gen *ABCC8* que codifican para el miembro 8 de la subfamilia C del casete de unión a ATP o receptor a sulfonilureas 1 (SUR1), el gen *KCNJ11* que produce al canal de potasio de rectificación entrante sensible a ATP  $K_{ir}6.2$  y el gen del receptor gamma activado por los proliferadores de peroxisomas (*PPARG*) entre otros (6). Los genes *KCNJ11* y *ABCC8* están involucrados en la función de las células beta pancreáticas específicamente en la secreción de la insulina, por lo que mutaciones en estos dos genes pueden eliminar la actividad de potenciación del canal de potasio sensible a ATP y por lo tanto producir diabetes neonatal y DMT2. El SUR1 ha sido blanco de una investigación intensa y se ha demostrado que varios SNP presentes en su secuencia están asociados con el aumento en la predisposición para desarrollar DMT2 en diversas poblaciones, por esta razón creemos importante explorar si los SNP del SUR1 pueden ser asociados a la DMT2 en una población mexicana.

### **Estructura del receptor a sulfonilurea 1**

El gen *ABCC8* está ubicado en el brazo corto del cromosoma 11 en la banda 15.1 y tiene un tamaño de aproximadamente de 100 kb, el gen *ABCC8* codifica a el

SUR1. La proteína SUR1 contiene dos dominios con seis segmentos transmembranales y un tercer dominio con cinco segmentos transmembranales (TMD0, TMD1 y TMD2), dos dominios citoplasmáticos de unión a nucleótidos como el ATP (NBD1 y NBD2) (7). Cada dominio NBD consta de las secuencias Walker A (WA) y Walker B (WB) responsables de la unión a nucleótidos (figura 1).

### **Papel de SUR1 en la secreción de insulina**

Las células  $\beta$  pancreáticas regulan la producción y secreción de insulina a través del metabolismo de la glucosa y la activación de una gran variedad de canales iónicos, uno de los canales más importante para la secreción de insulina es el canal de  $K^+$  sensible a ATP ( $K_{ATP}$ ) ubicado en la membrana plasmática de las células  $\beta$  pancreáticas. El canal  $K_{ATP}$  es un hetero-octámero compuesto por cuatro canales de potasio de rectificación entrante ( $K_{ir6.2}$ ) y cuatro de SUR1 (7) (figura 2). SUR1 es sensible al ATP y funciona como una subunidad reguladora de los  $K_{ir6.2}$  ayudando a modular la actividad de este canal.

El aumento del metabolismo de la glucosa eleva los niveles de ATP y este se une a SUR1 inhibiéndolo y provocando el cierre del canal  $K_{ir6.2}$ . Al cerrarse el canal  $K_{ir6.2}$ , los niveles de  $K^+$  aumentan despolarizando la membrana y activando a los canales de calcio dependientes de voltaje ( $Ca_v$ ). El  $Ca^{2+}$  extracelular entra rápidamente al citosol de la célula desencadenando que otros componentes de la vía de secreción de insulina liberen gránulos de insulina a través de la membrana plasmática (figura 3).

El metabolismo de la glucosa aumenta los niveles de ATP, el ATP se une al SUR1 y esto cierra al canal  $K_{ir6.2}$  desencadenando la secreción de insulina. La diabetes puede ser ocasionada por cambios en el funcionamiento de alguna de las proteínas involucradas en la secreción de insulina. Interesantemente, se sabe que las mutaciones en el gen que codifica a SUR1 pueden causar varios tipos de diabetes como la hipoglucemia hiperinsulinemia de la infancia (8) y la DMT2 (9).

## Relación del gen *ABCC8* con la DMT2

En el gen *ABCC8* se han descrito 2318 SNPs comunes y raros, entre las variantes comunes 29 (1.25%) se han relacionado con diabetes en diversas poblaciones (10), de estos SNP comunes 9 están localizadas en regiones codificantes y 20 en regiones no codificantes. La mayoría de los informes sobre DMT2 se han centrado en las variantes rs757110, rs1799854, rs1799859 y rs1801261.

El polimorfismo rs757110 está localizado en el exón 31 del gen *ABCC8*. La sustitución de G por T (GCC → TCC) cambia el aminoácido de alanina en el residuo 1369 a serina (Ala1369Ser). La alanina es una molécula hidrofóbica y ambivalente, mientras que la serina es un aminoácido hidrofílico o polar. A pesar de que esta sustitución de aminoácidos no tiene teóricamente una influencia notable en la estructura y función de la proteína SUR1, numerosos estudios identificaron un importante papel del alelo G de este locus en algunos tipos de diabetes. De estudios anteriores en poblaciones de Japón, Turquía, Gran Bretaña y Estados Unidos demostraron la asociación entre este polimorfismo y el riesgo de DMT2 (11-13).

El polimorfismo rs1799854 está localizado en un intrón del gen *ABCC8*. A partir de los estudios de poblaciones asiáticas y caucásicas se encontró la asociación entre este locus y el riesgo de DMT2 y DMG en poblaciones japonesas, chinas, francesas, turcas y holandesas. Los japoneses y turcos portadores del genotipo CT tienen una mayor predisposición a tener DMT2 (14 y 15), mientras que el genotipo TT es más frecuente en los pacientes chinos y franceses (16). El genotipo CC tiende a tener un mayor riesgo a padecer DMT2 en las poblaciones china y holandesa (17). El estudio de este SNP en particular ha sido complejo, porque en los estudios anteriores se demostró una asociación directa entre el SNP y el riesgo a padecer DMT2, sin embargo, existen algunos reportes que demostraron que no existía ningún tipo de asociación (18 y 19).

En polimorfismo rs1799859 la sustitución del alelo G por el alelo A (AGG→AGA) no produce ningún cambio en el aminoácido del residuo 1273 (Arg1273Arg) situado en el dominio NBD2. Es un aminoácido con carga positiva que desempeña un papel importante en el mantenimiento del equilibrio de carga global de la proteína SUR1.

Estudios, de poblaciones en Estados Unidos y Japón no demostraron asociación entre este locus y la DMT2 (20 y 15). Otros estudios encontraron una mayor frecuencia del genotipo GA en los pacientes con DMT2 comparados con los controles (21 y 22).

El polimorfismo rs1801261 (que se localiza en un exón del gen *ABCC8*) cambia el alelo C por el alelo T (ACC→ ACT), pero no produce ningún cambio en el aminoácido treonina en el residuo 759 (Thr759Thr) que tiene una propiedad hidrofóbica. Este aminoácido se localiza en el dominio citoplasmático del SUR1. Dos estudios previos realizados en poblaciones danesa y canadiense han demostrado la asociación entre esta variante y el riesgo de tener DMT2. Los portadores del alelo T con DMT2 tienen niveles de insulina en sangre más bajos que las personas sanas (23) y el genotipo CC está relacionado con un mayor riesgo a padecer la DMT2 a diferencia de los genotipos TT y TG (17).

En un estudio de 228 pacientes Caucásicos de origen europeo con DMT2 en terapia con sulfonilureas se determinó una relación entre los polimorfismos SUR -1 (Exón 16 (-3C/T), exón 31 (Arg1273Arg; AG G→AG A) y exón 33(S1369A) y *KCNJ11* (E23K). Dentro de los resultados no presentaron diferencias en la concentración de glucosa plasmática en ayunas y glucosa postprandial. Sin embargo, los diabéticos con el genotipo C/C del polimorfismo del exón 16 de SUR-1 tenían una concentración de HbA1c significativamente más baja en comparación con los pacientes con el genotipo T/T [6.9 (6.2–7.7) mmol/L frente a 8.1 (6.7– 8.8) milimoles/litro p=0.009]. Además, los pacientes con el genotipo G/G del polimorfismo del exón 31 de SUR-1 tenían una concentración de HbA1c significativamente mayor en comparación con los pacientes con el genotipo A/A variante [7.8 (6.9–8.8) mmol/L frente a 6.3 (5.7– 6.8) milimoles/litro; p<0.001]. Se concluyó que los polimorfismos del exón 16 y del exón 31 del canal SUR1 están significativamente asociados a la concentración de HbA1c (25).

Se debe tener en cuenta que el fracaso de la terapia con hipoglucemiantes orales conduce no solo a un estado glucémico mal regulado, sino también a dislipidemia y aumento del peso corporal y del índice de masa corporal (IMC). Se realizó un

estudió en el Hospital universitario de la facultad de medicina Sestre milosrdnice en Zagreb, Croacia. Se inscribieron 251 diabéticos tipo 2 que habían recibido tratamiento con sulfonilureas durante más de dos años. El objetivo del estudio fue explorar una asociación de los polimorfismos *ABCC8* exón 16 (-3C/T), exón 31 (Arg1273Arg) y exón 33 (S1369A) con la concentración de lípidos y el IMC en diabéticos tipo 2 en tratamiento con sulfonilureas. Dentro de los resultados se encontró que los portadores de alelos de tipo silvestre para el polimorfismo del exón 31 de SUR-1 (Arg1273Arg) tenían una concentración de triglicéridos significativamente mayor en comparación con los portadores de dos alelos mutantes ( $p=0.023$ ). Los alelos polimórficos portadores del polimorfismo SUR-1 exón 16 (-3C/T) fueron más frecuentes en el subgrupo de pacientes con aumento de la concentración de triglicéridos a los 6 meses ( $p$  para genotipo y diferencias alélicas: 0.024 y 0.015, respectivamente). Se concluyó que Los polimorfismos del gen *ABCC8* en el exón 16 y 31 están asociados con la concentración de triglicéridos en diabéticos tipo 2 en terapia con sulfonilureas (26).

Varios estudios han proporcionado evidencia de asociación de polimorfismos con diabetes tipo 2 en poblaciones caucásicas de ascendencia europea noroccidental. Se realizó un estudio en donde se incluyeron 388 pacientes con diabetes tipo II y 336 sujetos sanos seleccionados al azar de dos estudios, (Hoorn y Rotterdam) y de otros 3 estudios los cuales permitieron evaluar la homogeneidad de la población holandesa para los SNP en el exón 16 y el exón 18 del gen *ABCC8*. Se realizaron estimaciones de las frecuencias de haplotipos en poblaciones diabéticas y pacientes sanos. El ADN se tipificó para las variantes en el exón 16 (-3 C → variante T en el sitio de *splicing*) y el exón 18 (Thr 759 Thr, AC C→AC T). Dentro los resultados se determinaron que las frecuencias genotípicas en ambas poblaciones fueron similares. Se observó una asociación de la variante T del exón 16-3 con la DMT2 (frecuencias alélicas 0.41 % frente a 0.48 % en NGT y DMT2, respectivamente,  $p = 0.01$ ). No hubo asociación entre la DMT2 y la variante en el exón 18 o la combinación de ambas variantes ( $p>0.5$ ). Se observó un fuerte desequilibrio de ligamiento entre las variantes del exón 16 y el exón 18 en los grupos de diabéticos, pero no, o menos pronunciado, en los grupos de control de los

diferentes estudios. La estimación de haplotipos muestra que existen varios haplotipos de riesgo diferentes en diferentes poblaciones caucásicas. Se concluyó que el alelo t del exón 16–3 del gen SUR1 está asociado con la diabetes tipo II en los Países Bajos. Además, en las frecuencias estimadas de haplotipos en diferentes poblaciones caucásicas, se concluyó que múltiples haplotipos en el gen SUR1 parecen conferir un riesgo de desarrollar diabetes tipo II en caucásicos (27).

Otro estudio realizado en pacientes mexicoamericanos se detectó una variante en el exón 31 de SUR1 (AGG-->AGA). Los alelos normales y mutantes se designaron G y A, respectivamente. Entre los no diabéticos, los que tenían el genotipo AA tenían valores de insulina en ayunas más altos que los que tenían los genotipos AG y GG (113.4 pmol/l para AA frente a 82.8 pmol/l para AG/GG  $p=0.043$ ). Se observaron resultados similares para la insulina de 2 h (849.6 pmol/l para AA frente a 498.6 pmol/l para AG/GG  $p=0.0003$ ) y para la proporción de proinsulina a insulina específica (0.068 para AA frente a 0.056 para AG/GG  $p=0.030$ ). Los niveles específicos de insulina también difirieron significativamente entre las tres clases genotípicas ( $p=0.021$ ). No se observaron diferencias en la glucosa en ayunas, el índice de masa corporal o la circunferencia de la cintura según el genotipo. La glucosa a las dos horas fue modestamente más alta en individuos con el genotipo AA. Dado que previamente se informó sobre la relación entre SUR1 e hiperglucemia, la presente asociación entre una variante de SUR1 e hiperinsulinemia en individuos normales de un grupo étnico con alto riesgo de diabetes plantea la posibilidad de hipersecreción primaria de insulina como antecedente de diabetes tipo 2 en al menos algunos individuos de esta población (28).

Un estudio realizado por la asociación finlandesa de prevención de la diabetes en 490 sujetos con intolerancia a la glucosa encontró que el alelo 1273AGA del gen SUR1 se asoció con un riesgo doble de DMT2 [odds ratio (OR), 2.00; Intervalo de confianza (IC) del 95 %, 1.19-3.36  $p=0.009$ ]. Este polimorfismo estaba en desequilibrio de ligamiento con tres polimorfismos (G-2886A, G-1561A y A-1273G), y formaban un haplotipo de alto riesgo (OR, 1.89; 95 % IC, 1.09-3.27,

p=0.023). Además, sujetos con el haplotipo de alto riesgo del gen SUR1 y el alelo 23K de Kir6 tenían un riesgo 6 veces mayor de conversión a diabetes en comparación con aquellos sin ninguno de estos genotipos de riesgo (OR, 5.68; IC del 95 %, 1.75-18.32 p= 0.004). Por lo tanto, se concluyó que los polimorfismos del gen SUR1 predijeron la conversión de intolerancia a la glucosa a diabetes tipo 2 y que el efecto de estos polimorfismos sobre el riesgo de diabetes fue aditivo con el polimorfismo E23K del gen Kir6.2 (29).

La contribución del receptor a sulfonilureas a la liberación de insulina es incuestionable y se ha demostrado que las variaciones genéticas en el gen *ABCC8* pueden comprometer este mecanismo molecular, dando lugar al desarrollo de la DMT 2. Aunque diversas variaciones genéticas de este gen se han asociado a esta enfermedad, es necesario estudiar otros SNP que puedan predisponer a desarrollar DMT2.

En este trabajo pretendemos estudiar cuatro SNPs, los rs4148628 y rs59852838, estos dos polimorfismos no han sido estudiados en ninguna población y en consecuencia se desconoce si están asociados con la DMT2 y si están en desequilibrio de ligamiento, por lo tanto, los hallazgos serán de gran utilidad para estudios futuros. Por otro lado, el polimorfismo rs1799859 se ha estudiado en diversas poblaciones principalmente en caucásicos donde se encontró una asociación con la DMT2 (24). El último SNP, rs4148646 se estudió en una población japonesa y se asocia con la DMT2 (13). Se eligieron estos polimorfismos porque no se han estudiado en la población mexicana y se ha observado que su asociación con la DMT2 es alta.

### **III. JUSTIFICACIÓN**

Dado que la DMT2 se encuentra clasificada como una enfermedad de atención prioritaria en nuestro país, con un aumento progresivo de la prevalencia en los últimos años y, además, se sabe que figura como una causa principal en el número de defunciones por año, es necesario hacer frente a esta enfermedad estudiando

los factores genéticos que podrían representar un marcador relacionado a la aparición de la enfermedad. Una de las principales características de la DMT2 es la falta de secreción de insulina, este proceso se encuentra regulado por varias proteínas, dentro de estas se encuentra el receptor a sulfonilureas 1 (codificado por el gen *ABCC8*), algunos polimorfismos de este gen se han asociado con la DMT2 en varias poblaciones. Con este estudio podremos precisar si los polimorfismos rs4148628, rs59852838, rs1799859 y rs4148646 encontrados en el gen *ABCC8* pueden estar asociados con un mayor riesgo a padecer la DMT2.

#### **IV. HIPÓTESIS**

Si los polimorfismos rs4148628, rs59852838, rs1799859 y rs4148646 del gen *ABCC8*, están asociados a DMT2 entonces serán más frecuentes en los pacientes en comparación con los controles.

#### **V. OBJETIVOS**

- **OBJETIVO GENERAL**

Establecer la asociación de los polimorfismos rs4148628, rs59852838, rs1799859 y rs4148646 del gen *ABCC8* con la DMT2.

- **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Objetivo Primario:

Calcular el riesgo de la presencia de los polimorfismos rs4148628, rs59852838, rs1799859 y rs4148646 del gen *ABCC8* para el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2.

Objetivos Secundarios:

Determinar las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos del gen *ABCC8*.

Calcular las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos.  
Probar asociaciones significativas entre los alelos y la presencia de DM2.  
Determinar desequilibrio de ligamiento entre los SNPs.

## VI. MATERIALES Y MÉTODOS

**Manipulación por el investigador:** Es un estudio de Casos y Controles no pareado, es comparativo (se consideran dos o más poblaciones), observacional (solo se observan los fenómenos sin alterarlos), ambispectivo (información que se recopila de manera retrospectiva y prospectiva) y transversal (las variables solo se miden una vez).

**Universo de estudio:** Pacientes mayores de edad mexicanos (población contemporánea mestiza, nacido en México, tener un apellido de origen español y ancestros de origen mexicano tres generaciones hacia atrás) que acudan al Servicio de Medicina Interna del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”.

**Población de estudio:** Casos: Pacientes mayores de edad mexicanos con diagnóstico de DMT 2, con glucosa en ayunas  $\geq 126$  mg/dl, con registros recientes de niveles de insulina y de hemoglobina glicosilada en el expediente, que acudan al Servicio de Medicina Interna del Hospital General “Dr. Manuel Gea González” y que deseen participar en el protocolo.

Controles: Pacientes mayores de edad mexicanos sin diagnóstico de DMT2, con glucosa en ayunas  $\leq 110$  mg/dl, con registros recientes de niveles de insulina y de hemoglobina glicosilada en el expediente, que acudan al Servicio de Medicina Interna del Hospital General “Dr. Manuel Gea González” y que deseen participar en el protocolo.

**Tamaño de muestra:** El tamaño de muestra se calculó con el software Epidat versión 4.2 (<https://www.sergas.es/Saude-publica/EPIDAT>). Para nuestro estudio se calculó un tamaño de no pareada. En Epidat 4.2, el cálculo del tamaño de muestra para estudiar si existe asociación entre la exposición y la enfermedad en

un estudio de casos y controles, cuando los dos grupos están emparejados, se basa en la prueba de Connor) (20).

Los factores que intervienen en el cálculo son:

- Proporción de casos expuestos o prevalencia de la exposición en los casos (P1).
- Proporción de controles expuestos o prevalencia de la exposición en los controles (P2).
- Relación de momios a detectar (Odds ratio, OR).

Estos tres valores están relacionados entre sí del modo siguiente:

$$P_1 = \frac{OR P_2}{(1 - P_2) + OR P_2}, P_2 = \frac{P_1}{OR(1 - P_1) + P_1}.$$

La expresión queda finalmente así:

$$OR = \frac{P_1(1 - P_2)}{P_2(1 - P_1)},$$

Por lo que, especificando dos de estos parámetros, el otro queda perfectamente determinado. Epidat 4.2 permite que el usuario decida cuál pareja de valores desea introducir y calcula automáticamente el tercero. Tomando en cuenta esta información y la incidencia de los SNP publicado por Reis, A. F., et.al 2000 (24). se calculó el tamaño de muestra para la población de estudio con los siguientes parámetros:

Proporción de casos expuestos 58%

Odds ratio a detectar 1.69

Nivel de confianza 95%

## Resultados

Potencia 80%

Número de Pares 250

La asignación de los casos será secuencial y no pareados. Es importante mencionar que en el laboratorio ya contamos con muestras de casos (n=99) y controles (n=100) de los proyectos: “Asociación de los polimorfismos de los genes *KCNQ1*, *CACNA1D*, *CACNA1E* y *KCNJ1* que codifican para los canales CaV1.3, CaV2.3, KV1.9 y KATP, como factor de riesgo para desarrollar diabetes mellitus tipo 2”. No. Registro 12-92-2019 y “Asociación de los polimorfismos rS312480 T>C, rS312486 G>C y rS9841978 G>A del gen que codifica para el Canal de Calcio dependiente de Voltaje 1.3 (CaV1.3) como factor de riesgo para el desarrollo de complicaciones microvasculares en pacientes con diabetes tipo 2 del Hospital General “Dr. Manuel Gea González” en el período de marzo a agosto de 2020”. No. Registro 12-04-2020.

Estos estudios anteriores cumplen con los criterios de selección que establecemos en este protocolo. Además, contamos con las cartas de consentimiento informado. La intención principal del presente protocolo es recolectar las 250 muestras de pacientes y las 250 muestras de los controles y adicionar las muestras que ya tenemos para hacer más robusto el análisis, los resultados y las conclusiones.

**Tipo de muestreo:** Secuencial

**Criterios de selección:** Criterios de inclusión. Casos: Pacientes hombres y mujeres mayores de edad mexicanos, con diagnóstico confirmado de diabetes mellitus tipo 2, atendidos en la consulta externa del Servicio de Medicina Interna, del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”, de septiembre de mayo del 2022 a enero del 2023 y que cuenten con datos de niveles de insulina recientes en el expediente clínico y consentimiento informado por parte del paciente. Controles: Pacientes hombres y mujeres mayores de edad mexicanos, sin diagnóstico confirmado de diabetes mellitus tipo 2, atendidos por alguna otra enfermedad en la consulta externa del Servicio de Medicina Interna, del Hospital General “Dr. Manuel Gea

González”, de mayo del 2022 a enero del 2023 y que cuenten con datos de niveles de insulina recientes en el expediente clínico y consentimiento informado por parte del paciente.

**Criterios de exclusión.** Casos: Enfermedades hepáticas, tiroideas o reumatológicas documentadas y/o enfermedades crónicas documentadas, como por ejemplo cáncer, que serán confirmadas de acuerdo con el cuadro clínico del paciente y laboratorios de rutina del expediente clínico, solicitados en la consulta externa de medicina interna. Controles: Enfermedades hepáticas, tiroideas o reumatológicas documentadas y/o enfermedades crónicas documentadas como cáncer, que serán confirmadas de acuerdo con el cuadro clínico del paciente y laboratorios de rutina del expediente clínico solicitados en la consulta externa de medicina interna.

**Criterios de eliminación:** Casos: Pacientes que retiren su consentimiento informado durante el estudio. Muestras de sangre con DNA insuficiente o con baja pureza. Muestras de DNA de los pacientes en las que no se logre amplificar el polimorfismo. Controles: Pacientes que retiren su consentimiento informado durante el estudio. Muestras de sangre con DNA insuficiente o con baja pureza. Muestras de DNA de los pacientes en las que no se logre amplificar el polimorfismo.

**Definición operacional de las variables:**

Clasificación Variables: Independientes (X) o Principales ()		Clasificación Variables: Dependientes (X)/Generales ()	
Variable	Escala e índice Ejem.: Cuantitativa discreta: años cumplidos.  Ordinal: bueno, regular, malo.  Nominal: SI, NO	Variable	Escala e índice Ejem.: Cuantitativa discreta: años cumplidos.  Ordinal: bueno, regular, malo.  Nominal: SI, NO
rs4148628	Nominal Dicotómica (Sí/No)	Diabetes mellitus tipo 2	Nominal Dicotómica (Sí/No)
rs59852838	Nominal Dicotómica (Sí/No)		
rs1799859	Nominal Dicotómica (Sí/No)		
rs4148646	Nominal Dicotómica (Sí/No)		

Hemoglobina glicosilada	Cuantitativa (%)		
Niveles de Insulina	Cuantitativa (mg/dl)		
Sexo	Nominal Dicotómica (mujer/hombre)		
Edad	Cuantitativa (años)		

**Definición de variables confusoras y modificadoras de efecto:**

Variables Confusoras		Variables Modificadoras de efecto	
Variable	Escala e índice Ejem.: Cuantitativa discreta: años cumplidos.  Ordinal: bueno, regular, malo.  Nominal: SI, NO	Variable	Escala e índice Ejem.: Cuantitativa discreta: años cumplidos.  Ordinal: bueno, regular, malo.  Nominal: SI, NO

**Definición conceptual de las variables:**

Independientes o principales	Conceptual	Operacional
rs4148628 rs59852838 rs1799859 rs4148646	Polimorfismos del gen <i>ABCC8</i> que codifican para el receptor a sulfonilurea tipo 1.	Presencia de los alelos poco comunes de ciertas regiones de los genes
Hemoglobina glicosilada	Mide el nivel promedio de glucosa o azúcar en la sangre durante los últimos tres meses.	Expresada en porcentaje
Niveles de Insulina	Niveles de hormona producida por el páncreas, que se encarga de regular la cantidad de glucosa en sangre.	Expresada en mg/dl
Sexo	Es la condición orgánica que distingue al hombre de la mujer	Puede ser femenino o masculino
Edad	Tiempo que ha vivido una persona.	Expresada en años

**Procedimiento de recolección de datos:** En los meses de septiembre a diciembre del 2022 se seleccionará y se reclutará a los sujetos de estudio de acuerdo con los

criterios de inclusión y exclusión, también se aplicará la carta de consentimiento informado, se realizará una revisión del expediente clínico de cada paciente, de donde se tomarán los datos más recientes de hemoglobina glucosilada, glucosa en ayunas y niveles de insulina. A los pacientes que se encuentren con ayuno de 12 a 14 horas se les tomarán 10 ml de sangre periférica de la vena del antebrazo, utilizando EDTA como anticoagulante. Posteriormente se extraerá el DNA genómico por el método de fenol/cloroformo de la siguiente manera: Se obtendrá el DNA a partir de sangre periférica, se vaciarán 10 ml de sangre a un tubo de 15 ml. Se centrifugarán a 3,000 rpm durante 8 min y separara el plasma. Al plasma se le agregara solución de lisis 1 hasta llenar el tubo y se agitara suavemente. Se Centrifugará a 3,000 rpm durante 8 min. Luego se desechará cuidadosamente el sobrenadante. Se repiten los pasos 4 y 5 hasta que queden las células blancas libres de eritrocitos (generalmente con 2 lisis es suficiente). Se obtendrá DNA por digestión con Proteinasa K, Se suspenderá el botón de leucocitos en 0.5 a 1 ml de solución de lisis. Se añadirá 2.5 ml del amortiguador de lisis para glóbulos blancos (WCLB) conteniendo 400 µg/ ml de proteinasa K. Se debe dejar incubando toda la noche a 53°C en baño maría. Se realizará extracción con fenol/cloroformo y centrifugar 8 min a 3,000 rpm, la fase acuosa se transfiere a un tubo nuevo y se precipita el DNA con isopropanol absoluto y 100 mM de NaCl, posteriormente lavar el DNA con etanol al 70%. Cuando ya no hay exceso de etanol, se suspende el DNA en un volumen variable de TE, dependiendo de la cantidad que se obtenga. Para obtener la concentración del DNA se leerá a 260 nm. La lectura se multiplicará por 50 y se expresa en µg/ml. Puede leerse todo el DNA o hacer una dilución (1:100 o 1:50).

Genotipificación: Se limpiará con etanol el área de trabajo. Se Colocará PCR Master Mix en hielo, descongelar la sonda Taqman y colocarla en hielo. Durante este lapso se rotulará perfectamente la placa y se enciende el termociclador. Se realizará la mezcla de reacción tomando en consideración la concentración de la sonda: Reactivos Sonda (20X), Universal PCR Master Mix (225.0µL), Sonda (11.0µL), H2O (295.0µL), Se mezclarán los reactivos 4 veces por pipeteo y se dará un pulso en la picofuga. Alicuotar 61 µL de la mezcla de reacción en tubos de 8 tiras. Se

Dispensará 5  $\mu$ L de la mezcla de reacción a cada muestra con una pipeta multicanal y se mezclarán por pipeteo. Se Sellará la placa con una cubierta óptica. Se Colocará la placa en la centrífuga Allegra 25R y se dará un pulso. Se Asegurará de eliminar las burbujas en la mezcla de reacción. Se colocara la placa en el termociclador Roche Lightcycler 96 siguiendo el programa para la discriminación alélica.

**Análisis estadístico:** Se utilizará estadística descriptiva para calcular las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos. Para probar asociaciones significativas entre los alelos y la presencia de DM2, se utilizará la prueba de  $X^2$  con la corrección de Yates, o la prueba exacta de Fisher. En el caso de asociación de alelos particulares, se calculará la razón de momios y los intervalos de confianza al 95% con la aproximación de Cornfield. Estos cálculos se llevarán a cabo usando el programa SPSS v20. El desequilibrio de ligamiento entre los SNPs se calculará utilizando el programa Haploview v4.2 y los valores de  $D'$  serán calculados con in intervalo de confianza del 95%. Se realizará una regresión logística multivariada para examinar las diferencias en la distribución de genotipos para los SNP nominalmente asociados. El nivel de significancia para rechazar la hipótesis nula ( $H_0$ ) será  $\leq 0.05$ .

## VII. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Título segundo, capítulo I, Artículo 17, Sección II, investigación con riesgo mínimo, se anexa hoja de consentimiento informado.

"Todos los procedimientos estarán de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud".

## VIII. RESULTADOS

Se incluyeron 181 pacientes de la base de datos del servicio de Medicina Interna, 91 pacientes con diagnóstico de DMT2 y 90 pacientes sanos entre enero del 2022 y octubre de 2022. Del total de pacientes, 90 eran hombres (49.7%) y 91 mujeres (50.3%). La media de edad fue de 52.155. La media del IMC fue de 26.2 kg/m<sup>2</sup>.

En cuanto a las características bioquímicas de los pacientes al momento del reclutamiento el promedio de hemoglobina glicosilada del total de los controles fue de 6.7%. Los pacientes con diagnóstico de DMT2 manejaron niveles de hemoglobina glicosilada más elevados con una media de 8.4%, comparado con los controles con de 4.9%, los niveles de glucosa en ayunas en el grupo de pacientes fueron de 172 mg/dl y en los controles de 92 mg/dl.

Respecto a las características alélicas de los polimorfismos del gen *ABCC8* se encontró la presencia del alelo rs1799859A en un 47 % de los casos y en un 41% de los controles no se encontró una diferencia significativa ( $p=0.392883$ ) OR: 1.2761, y del alelo rs4148646G estuvo presente en un 43% de los casos y en un 39% de los controles no se encontró una diferencia significativa ( $p=0.565659$ ) OR: 1.799.

La frecuencia genotípica se encontró el genotipo rs1799859A/A en un 25% de los casos y en un 15% de los controles no se encontró una diferencia significativa ( $P=0.076864$ ) OR: 1.8889, rs4148646 en un 22% de los casos y un 15% de los controles no se encontró una diferencia significativa ( $p=0.203092$ ) OR:1.5983. Dentro de los modelos de asociación del polimorfismo rs1799859 del gen *ABCC8* con la diabetes tipo 2 el alelo recesivo A/A estuvo presente en un 13% de los casos y en un 15% de los controles no se encontró una diferencia significativa ( $p=0.09$ ) OR:0.52. Según la frecuencia de haplotipos predominó rs1799859A, rs4148646G en un 2% de los casos y un 0.8% de los controles no se encontró una diferencia significativa ( $p=0.5$ ) OR: 2.020.

## IX. DISCUSIÓN

En nuestro estudio, el objetivo fue determinar la asociación de polimorfismos SUR 1 del gen ABCC8 con diferentes parámetros relacionados con el control metabólico y relación a diabetes tipo 2 en un hospital de segundo nivel de la Ciudad de México.

En nuestro estudio concluimos que la frecuencia alélica y genotípica de los SNP rs1799859 A, A/A y rs4148646 G, G/G podrían ser un factor predisponente para esta enfermedad. Patrón de herencia recesivo rs1799859 A/A podría ser un factor protector para DT2. La presencia de haplotipos de los SNP rs1799859A y rs4148646G podría dar un riesgo mayor a dos veces de padecer esta enfermedad.

Los informes de la literatura sobre la asociación de las variantes de los genes SUR en relación con la susceptibilidad a la diabetes tipo 2 son controvertidos. Varios estudios han encontrado la asociación del polimorfismo y diabetes en pacientes caucásicos europeos, también en relación con la alteración de parámetros de laboratorio como HbA1c Y triglicéridos aumentados. Se realizó un estudio en el Hospital universitario de la facultad de medicina Sestre Milosrdnice en Zagreb, Croacia. Dentro de los resultados se encontró que los portadores de alelos de tipo silvestre para el polimorfismo del exón 31 de SUR-1 (Arg1273Arg) tenían una concentración de triglicéridos (TG) significativamente mayor en comparación con los portadores de dos alelos variantes ( $p=0.023$ ). Los alelos polimórficos portadores del polimorfismo SUR-1 exón 16 (-3C/T) fueron más frecuentes en el subgrupo de pacientes con aumento de la concentración de TG a los 6 meses ( $p$  para genotipo y diferencias alélicas: 0.024 y 0.015, respectivamente). Se concluyó que Los polimorfismos *ABCC8* en el exón 16 y 31 están asociados con la concentración de triglicéridos en diabéticos tipo 2 en terapia con sulfonilureas. (26). Sin embargo, en nuestro estudio no se realizó la medición de estos biomarcadores.

Varios estudios han proporcionado evidencia de asociación de polimorfismos con diabetes tipo 2 en poblaciones caucásicas de ascendencia europea noroccidental. Se realizó un estudio en donde se incluyeron 388 pacientes con diabetes tipo II y 336 sujetos sanos seleccionados al azar de dos estudios, (Hoorn y Rotterdam) y de otros 3 estudios los cuales permitieron evaluar la homogeneidad de la población

holandesa para los SNP en el exón 16 y el exón 18 del gen SUR 1. Se realizaron estimaciones de las frecuencias de haplotipos en poblaciones diabéticas y pacientes sanos. Dentro los resultados se observó una asociación de la variante t del exón 16–3 con la diabetes tipo II (frecuencias alélicas 0.41 % frente a 0.48 % en NGT y diabetes tipo II, respectivamente,  $p = 0.01$ ). No hubo asociación entre la diabetes tipo II y la variante en el exón 18 o la combinación de ambas variantes ( $p > 0.5$ ). Se observó un fuerte desequilibrio de ligamiento entre las variantes del exón 16 y el exón 18 en los grupos de diabéticos, pero no, o menos pronunciado, en los grupos de control de los diferentes estudios. La estimación de haplotipos muestra que existen varios haplotipos de riesgo diferentes en diferentes poblaciones caucásicas. Se concluyó que el alelo t del exón 16–3 del gen SUR1 está asociado con la diabetes tipo II en los Países Bajos. Además, en las frecuencias estimadas de haplotipos en diferentes poblaciones caucásicas, se concluyó que múltiples haplotipos en el gen SUR1 parecen conferir un riesgo de desarrollar diabetes tipo II en caucásicos. (27)

Otro estudio realizado en pacientes mexicoamericanos. Como resultados entre los no diabéticos, los que tenían el genotipo AA tenían valores de insulina en ayunas más altos que los que tenían los genotipos AG y GG (113.4 pmol/l para AA frente a 82.8 pmol/l para AG/GG,  $P = 0.043$ ). Se observaron resultados similares para la insulina de 2 h (849.6 pmol/l para AA frente a 498.6 pmol/l para AG/GG,  $P = 0.0003$ ) y para la proporción de proinsulina a insulina específica (0.068 para AA frente a 0.056 para AG/GG,  $P = 0.030$ ). Los niveles específicos de insulina también difirieron significativamente entre las tres clases genotípicas ( $P=0.021$ ). No se observaron diferencias en la glucosa en ayunas, el índice de masa corporal o la circunferencia de la cintura según el genotipo. La glucosa a las dos horas fue modestamente más alta en individuos con el genotipo AA. (28). Sin embargo, en nuestro estudio no se valoraron niveles insulina.

Se realizó un estudio finlandés de prevención de la diabetes en 490 sujetos con intolerancia a la glucosa. Se observó que el alelo 1273AGA del gen SUR1 se asoció con un riesgo doble de diabetes tipo 2 [odds ratio (OR), 2,00; Intervalo de confianza

(IC) del 95 %, 1.19-3,36; P = 0.009]. Este polimorfismo silencioso estaba en desequilibrio de ligamiento con tres polimorfismos promotores (G-2886A, G-1561A y A-1273G), y formaban un haplotipo de alto riesgo que tenía el doble de riesgo de diabetes tipo 2 (OR, 1.89; 95 % IC, 1.09-3.27, p = 0.023). Sujetos con el haplotipo de alto riesgo del gen SUR1 y el alelo 23K de Kir6. El gen 2 tenía un riesgo 6 veces mayor de conversión a diabetes en comparación con aquellos sin ninguno de estos genotipos de riesgo (OR, 5.68; IC del 95 %, 1.75-18.32; P = 0.004). Por lo tanto, se concluyó que los polimorfismos del gen SUR1 predijeron la conversión de intolerancia a la glucosa a diabetes tipo 2 y que el efecto de estos polimorfismos sobre el riesgo de diabetes fue aditivo con el polimorfismo E23K del gen Kir6.2. (29)

Se pueden destacar varias limitaciones en el presente estudio. En primera instancia, se trata de un estudio ambispectivo, con un tamaño de muestra pequeño con información obtenida de expedientes clínicos, proviniendo de un único centro hospitalario de segundo nivel de la Ciudad de México, por lo que no se pueden generalizar los resultados a diferentes poblaciones. De igual forma, este estudio no tuvo información acerca de los niveles de insulina ni de perfil de lípidos, no es posible medir el impacto de esta intervención en nuestro grupo de pacientes, por lo que no se puede contrastar con la información descrita previamente en otros estudios.

## **X. CONCLUSIONES**

El gen del receptor (SUR1) puede desempeñar un papel en la susceptibilidad a la DT2. En este estudio concluimos que la frecuencia alélica y genotípica de los SNP rs1799859 A, A/A y rs4148646 G, G/G podrían ser un factor predisponente para esta enfermedad. El patrón de herencia Recesivo rs1799859 A/A podría ser un factor protector para DT2. La presencia de haplotipos de los SNP rs1799859A y rs4148646G podría dar un riesgo mayor a dos veces de padecer esta enfermedad. Si se confirmaran estas asociaciones, podrían sugerir una relación general entre los genes que se mutan para causar un riesgo hereditario o ser un factor protector para pacientes con diabetes tipo 2. Por lo tanto, consideramos que se requieren de más estudios en población mexicana con un mayor tamaño de muestra que incluya

pacientes de diferentes estados del país. De esta forma en un futuro disponer de más marcadores genéticos para detectar precozmente alteraciones genéticas que puedan predisponer a esta enfermedad.

## XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zimmet, P. Z., Magliano, D. J., Herman, W. H., & Shaw, J. E. (2014). Diabetes: a 21st century challenge. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 2(1), 56–64. [https://doi.org/10.1016/s2213-8587\(13\)70112-8](https://doi.org/10.1016/s2213-8587(13)70112-8).
2. Wilkin, T. J. (2009). The accelerator hypothesis: a review of the evidence for insulin resistance as the basis for type I as well as type II diabetes. *International Journal of Obesity*, 33(7), 716–726. <https://doi.org/10.1038/ijo.2009.97>.
3. Wang, H., Ren, Q., Han, X., Chen, J., Zhou, L., Chen, Y., & Ji, L. (2017). Factors of primary and secondary sulfonylurea failure in type 2 diabetic subjects. *Journal of Diabetes*, 9(12), 1091–1099. <https://doi.org/10.1111/1753-0407.12542>.
4. Wu, Y., Ding, Y., Tanaka, Y., & Zhang, W. (2014). Risk Factors Contributing to Type 2 Diabetes and Recent Advances in the Treatment and Prevention. *International Journal of Medical Sciences*, 11(11), 1185–1200. <https://doi.org/10.7150/ijms.10001>.
5. Kwak, S. H., & Park, K. S. (2016). Recent progress in genetic and epigenetic research on type 2 diabetes. *Experimental & Molecular Medicine*, 48(3), e220. <https://doi.org/10.1038/emm.2016.7>.
6. Schwenk, R. W., Vogel, H., & Schürmann, A. (2013). Genetic and epigenetic control of metabolic health. *Molecular Metabolism*, 2(4), 337–347. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2013.09.002>.
7. Nichols, C. G. (2006). KATP channels as molecular sensors of cellular metabolism. *Nature*, 440(7083), 470–476. <https://doi.org/10.1038/nature04711>.
8. Darendeliler, F., Fournet, J. C., Baş, F., Junien, C., Gross, M. S., Bundak, R., Saka, N., & Günöz, H. (2002). ABCC8 (SUR1) and KCNJ11 (KIR6.2) Mutations in Persistent Hyperinsulinemic Hypoglycemia of Infancy and Evaluation of Different Therapeutic Measures. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*, 15(7). <https://doi.org/10.1515/jpem.2002.15.7.993>.

9. Gloyn, A. L., Siddiqui, J., & Ellard, S. (2006). Mutations in the genes encoding the pancreatic beta-cell KATPchannel subunits Kir6.2 (KCNJ11) and SUR1 (ABCC8) in diabetes mellitus and hyperinsulinism. *Human Mutation*, 27(3), 220–231. <https://doi.org/10.1002/humu.20292>.
10. Meigs, J. B., Manning, A. K., Fox, C. S., Florez, J. C., Liu, C., Cupples, L. A., & Dupuis, J. (2007). Genome-wide association with diabetes-related traits in the Framingham Heart Study. *BMC Medical Genetics*, 8(Suppl 1), S16. <https://doi.org/10.1186/1471-2350-8-s1-s16>.
11. Barroso, I., Luan, J., Middelberg, R. P. S., Harding, A. H., Franks, P. W., Jakes, R. W., Clayton, D., Schafer, A. J., O’Rahilly, S., & Wareham, N. J. (2003). Candidate Gene Association Study in Type 2 Diabetes Indicates a Role for Genes Involved in  $\beta$ -Cell Function as Well as Insulin Action. *PLoS Biology*, 1(1), e20. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0000020>.
12. Florez, J. C., Burt, N., de Bakker, P. I., Almgren, P., Tuomi, T., Holmkvist, J., Gaudet, D., Hudson, T. J., Schaffner, S. F., Daly, M. J., Hirschhorn, J. N., Groop, L., & Altshuler, D. (2004). Haplotype Structure and Genotype-Phenotype Correlations of the Sulfonylurea Receptor and the Islet ATP-Sensitive Potassium Channel Gene Region. *Diabetes*, 53(5), 1360–1368. <https://doi.org/10.2337/diabetes.53.5.1360>.
13. Sakamoto, Y., Inoue, H., Keshavarz, P., Miyawaki, K., Yamaguchi, Y., Moritani, M., Kunika, K., Nakamura, N., Yoshikawa, T., Yasui, N., Shiota, H., Tanahashi, T., & Itakura, M. (2007). SNPs in the KCNJ11-ABCC8 gene locus are associated with type 2 diabetes and blood pressure levels in the Japanese population. *Journal of Human Genetics*, 52(10), 781–793. <https://doi.org/10.1007/s10038-007-0190-x>.
14. Gonen, M. S., Arikoglu, H., Erkoc Kaya, D., Ozdemir, H., Ipekci, S. H., Arslan, A., Kayis, S. A., & Gogebakan, B. (2012). Effects of Single Nucleotide Polymorphisms in KATP Channel Genes on Type 2 Diabetes in a Turkish Population. *Archives of Medical Research*, 43(4), 317–323. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2012.06.001>.

15. Yokoi, N., Kanamori, M., Horikawa, Y., Takeda, J., Sanke, T., Furuta, H., Nanjo, K., Mori, H., Kasuga, M., Hara, K., Kadowaki, T., Tanizawa, Y., Oka, Y., Iwami, Y., Ohgawara, H., Yamada, Y., Seino, Y., Yano, H., Cox, N. J., & Seino, S. (2006). Association Studies of Variants in the Genes Involved in Pancreatic  $\beta$ -Cell Function in Type 2 Diabetes in Japanese Subjects. *Diabetes*, 55(8), 2379–2386.
16. Meirhaeghe, A., Helbecque, N., Cottel, D., Arveiler, D., Ruidavets, J. B., Haas, B., FerriRes, J., Tauber, J. P., Bingham, A., & Amouyel, P. (2001). Impact of sulfonylurea receptor 1 genetic variability on non-insulin-dependent diabetes mellitus prevalence and treatment: A population study. *American Journal of Medical Genetics*, 101(1), 4–8. <https://doi.org/10.1002/ajmg.1297>.
17. Hansen, T., Echwald, S. M., Hansen, L., Møller, A. M., Almind, K., Clausen, J. O., Urhammer, S. A., Inoue, H., Ferrer, J., Bryan, J., Aguilar-Bryan, L., Permutt, M. A., & Pedersen, O. (1998). Decreased tolbutamide-stimulated insulin secretion in healthy subjects with sequence variants in the high-affinity sulfonylurea receptor gene. *Diabetes*, 47(4), 598–605. <https://doi.org/10.2337/diabetes.47.4.598>.
18. Molęda, P., Bińczak-Kuleta, A., Homa, K., Safranow, K., Celewicz, Z., Syrenicz, A., Stefański, A., Fronczyk, A., & Majkowska, L. (2012). The Common C49620T Polymorphism in the Sulfonylurea Receptor Gene SUR1 (ABCC8) in Patients with Gestational Diabetes and Subsequent Glucose Metabolism Abnormalities. *Experimental Diabetes Research*, 2012, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2012/712617>.
19. Dworacka, M., Winiarska, H., & Jagodziński, P. P. (2007). Impact of the sulfonylurea receptor 1 (SUR1) exon 16–3c/t polymorphism on acute hyperglycaemia in type 2 diabetic patients. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 77(2), 258–262. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2006.12.002>.
20. Odgerel, Z., Lee, H. S., Erdenebileg, N., Gandbold, S., Luvsanjamba, M., Sambuughin, N., Sonomtseren, S., Sharavdorj, P., Jodov, E., Altaisaikhan, K., & Goldfarb, L. G. (2012). Genetic variants in potassium channels are

- associated with type 2 diabetes in a Mongolian population. *Journal of Diabetes*, 4(3), 238–242. <https://doi.org/10.1111/j.1753-0407.2011.00177.x>.
21. Chistiakov, D. A., Potapov, V. A., Khodirev, D. C., Shamkhalova, M. S., Shestakova, M. V., & Nosikov, V. V. (2008). Genetic variations in the pancreatic ATP-sensitive potassium channel,  $\beta$ -cell dysfunction, and susceptibility to type 2 diabetes. *Acta Diabetologica*, 46(1), 43–49. <https://doi.org/10.1007/s00592-008-0056-5>.
22. Laukkanen, O., Pihlajamäki, J., Lindström, J., Eriksson, J., Valle, T. T., Hämäläinen, H., Ilanne-Parikka, P., Keinänen-Kiukaanniemi, S., Tuomilehto, J., Uusitupa, M., & Laakso, M. (2004). Polymorphisms of the SUR1 (ABCC8) and Kir6.2 (KCNJ11) Genes Predict the Conversion from Impaired Glucose Tolerance to Type 2 Diabetes. The Finnish Diabetes Prevention Study. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(12), 6286–6290. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-1204>.
23. Weisnagel, S. J., Rankinen, T., Nadeau, A., Rao, D., Chagnon, Y. C., Pérusse, L., & Bouchard, C. (2001). Decreased Fasting and Oral Glucose Stimulated C-peptide in Nondiabetic Subjects with Sequence Variants in the Sulfonylurea Receptor 1 Gene. *Diabetes*, 50(3), 697–702. <https://doi.org/10.2337/diabetes.50.3.697>.
24. Reis, A. F., Ye, W. Z., Dubois-Laforgue, D., Bellanné-Chantelot, C., Timsit, J., & Velho, G. (2000). Association of a variant in exon 31 of the sulfonylurea receptor 1 (SUR1) gene with type 2 diabetes mellitus in French Caucasians. *Human Genetics*, 107(2), 138–144. <https://doi.org/10.1007/s004390000345>.
25. Nikolac, N., Simundic A., Saracevic A., (2009). Metabolic Control in Type 2 Diabetes Is Associated with Sulfonylurea Receptor-1 (SUR-1) but not with KCNJ11 Polymorphisms. *Archives of medical Research*, 387-392.
26. Nikolac, N., Simundic A., Saracevic A., (2012). ABCC8 Polymorphisms Are Associated with Triglyceride Concentration in Type 2 Diabetics on Sulfonylurea Therapy. *Genetic Testing And Molecular Biomarkers*, volume 16, number 8.

27. Kniff, P., Dekker, J., Stolk R., (1999) Variants In The Sulphonylurea Receptor Gene: Association of the exon 16-3t variant with Type II Diabetes Mellitus In Dutch Caucasians. *Diabetologia* 42: 617-620.
28. Goksel, D., Fischbach K., Duggirala R., (1998) Variant in sulfonylurea receptor 1 gene is associated with high insulin concentrations in non-diabetic Mexican Americans: SUR 1 gene variant and hyperinsulinemia, *Human genetics* 103 (3)280-285.
29. Laukkanen, O, Lindstrom, J., (2004) Polymorphisms of the SUR 1 (ABCC8) and Kir 6.2 (KCNJ11) genes predict the conversion from impaired glucose tolerance to type 2 diabetes. The Finnish Diabetes prevention study. *Journal of clinical endocrinology and metabolism* 89 (12), 6286-6290.

## XII. FIGURAS

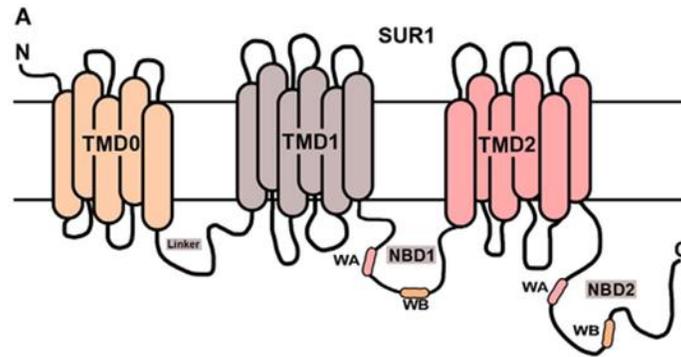


Figura 1. Esquema que representa la estructura del SUR1. Se muestran los dominios TMD, los dominios NBD y las secuencias Walker.

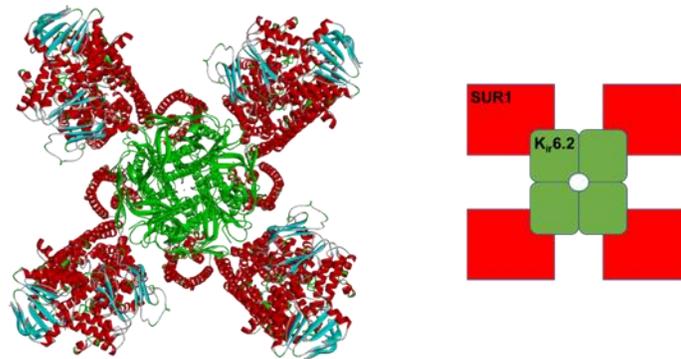


Figura 2. Conformación del canal  $K_{ATP}$ . Izquierda; estructura cristalizada del  $K_{ATP}$ , en verde se muestran las cuatro subunidades del canal  $K_{ir6,2}$  y en rojo con azul las cuatro subunidades del SUR1. Derecha; esquema simplificado de la conformación del canal  $K_{ATP}$ .

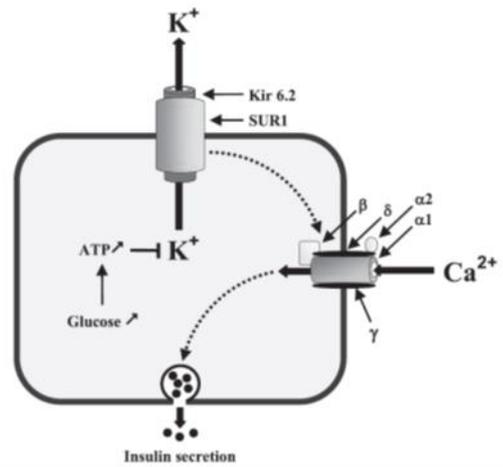


Figura 3. Secreción de insulina por las células  $\beta$  pancreáticas. El receptor SUR1 detecta los cambios en el ATP y desencadena la actividad de los canales iónicos para disparar la secreción de insulina.

### XIII. TABLAS

**Tabla 1.** Características de los grupos de estudio.

Característica	Total (N=181)	Casos (DT2#) (N=91)	Controles (N=90)
Edad (años) Mediana (RIQ)*	52.155 (40.5- 63.0)	58.3 (52-65)	45.8 (28.7-58.0)
Género no. (%)	H=90 (49.7%) M=91 (50.3%)	H=43 (47.2%) M=48 (52.8%)	H=47 (52%) M=43 (48%)
IMC (kg/m <sup>2</sup> ) Mediana (RIQ)	26.2 (22.6- 29.1)	26.6 (23.6-28.9)	25.9 (22.0-29.7)
HbA1C (%) Mediana (RIQ)	6.7 (5.0-8.0)	8.4 (6.6-9.1)	4.9 (4.8-5.0)
Glucosa en ayunas (mg/dL) Mediana (RIQ)	135.6 (89- 144)	178.6 (122-190)	92 (85-99)

# Diabetes tipo 2. \* Rango Inter cuartil. H: Hombre y M: Mujer. IMC: Índice de masa corporal. HbA1C: Hemoglobina glucosilada.

**Tabla 2.** Información de los SNPs estudiados\*

SNP	Cromosoma	Posición en el gen	Alelos reportados	Ubicación
rs1799859	11	17397732	C>A	Transcrito no codificante
rs4148646	11	53511427	C>G	Intrón

\*Información tomada de la base de datos dbSNP encontrada en el NCBI <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>.

Tabla 3. Frecuencia alélica de los polimorfismos del gen *ABCC8*.

Alelos	Casos (%)	Controles (%)	p	OR (95%CI) *
rs1799859G	53	59	0.392883	0.7836 (0.4478-1.3712)
rs1799859A	47	41	0.392883	1.2761 (0.7293-2.2329)
rs4148646C	57	61	0.565659	0.8475 (0.4821-1.4898)
rs4148646G	43	39	0.565659	1.1799 (0.6712-2.0742)

\* Odds ratio (95% Intervalo de confianza). Valor de p con Chi cuadrada de Pearson, nivel de significancia en  $p \leq 0.05$ .

Tabla 4. Frecuencia genotípica de los polimorfismos del gen *ABCC8*.

Genotipos	Casos (%)	Controles (%)	p	OR (95%CI) *
rs1799859 A/A	25	15	0.076864	1.8889 (0.9273- 3.8476)
rs1799859 G/A	43	52	0.203092	0.6964 (0.3988- 1.2159)
rs1799859 G/G	31	33	0.764177	0.9122 (0.5034- 1.6528)
rs4148646 C/C	35	37	0.764177	0.9168 (0.5146- 1.6336)
rs4148646 C/G	43	48	0.4795	0.8173 (0.4681- 1.427)
rs4148646 G/G	22	15	0.203092	1.5983 (0.7743- 3.299)

\* Odds ratio (95% Intervalo de confianza). Valor de p con Chi cuadrada de Pearson, nivel de significancia en  $p \leq 0.05$ .

Tabla 5. Modelos de asociación del polimorfismo rs1799859 del gen *ABCC8* con la DMT2.

Modelo	Genotipo	Casos (%)	Controles (%)	P	OR (95%CI) *
Codominante	G/G	31	33		1.0
	A/G	43	52	0.23	1.12 (0.56-2.23)
	A/A	25	15		0.56 (0.48-1.74)
Dominante	G/G	31	33	0.78	1.0
	A/G-A/A	69	67		0.91 (0.48-1.74)
Recesivo	G/G-A/G	74	85	<b>0.09</b>	1.0
	A/A	13	15		<b>0.52 (0.24-1.12)</b>
Aditivo	G/G-A/A	57	48	0.28	1.0
	A/G	43	52		1.4 (0.76-2.56)

Tabla 6. Modelos de asociación del polimorfismo rs4148646 del gen *ABCC8* con la DMT2.

Modelo	Genotipo	Casos (%)	Controles (%)	P	OR (95%CI) *
Codominante	C/C	35	37		1.0
	C/G	43	48	0.47	1.08 (0.53-2.18)
	G/G	22	15		0.63 (0.25-1.57)
Dominante	C/C	35	37	0.82	1.0
	C/G-G/G	65	63		0.93 (0.48-1.79)
Recesivo	C/C-C/G	78	85	0.23	1.0
	G/G	22	15		0.60 (0.27-1.37)
Aditivo	C/C-G/G	57	52	0.48	1.0
	C/G	43	48		1.26 (0.67-2.37)

Tabla 7. Frecuencia de haplotipos de los polimorfismos del gen *ABCC8*.

Haplotipos		Casos (%)	Controles (%)	p	OR (95%CI) *
rs1799859	rs4148646				
A	C	44	39	0.475139	1.2289 (0.6996-2.1587)
G	G	38	38	1.0	1.0 (0.5649-1.7701)
G	C	15	21	0.143502	0.5798 (0.2781-1.209)
A	G	2	0.8	0.5	2.020 (0.1803-22.6462)

\* Odds ratio (95% Intervalo de confianza). Valor de  $p$  con chi cuadrada de Pearson, nivel de significancia en  $p \leq 0.05$ .