



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD
FACULTAD DE QUÍMICA INVESTIGACIÓN CLÍNICA EXPERIMENTAL EN SALUD

TÍTULO

“IDENTIFICACIÓN DE VARIANTES GENÉTICAS ASOCIADAS CON REACCIONES ADVERSAS A HIPOGLUCEMIANTES ORALES EN LA POBLACIÓN MAYA DE MÉXICO”

TESIS

PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

FELIPE DE JESÚS PÉREZ HERNÁNDEZ

TUTORES PRINCIPALES:

DRA. MARTA ALICIA MENJÍVAR IRAHETA, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM,
DRA. ALEJANDRA CERVERA TABOADA, INSTITUTO NACIONAL DE MEDICINA
GENÓMICA

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:

DR. ANDRÉS MORENO ESTRADA, UNIDAD DE GENÓMICA AVANZADA, CINVESTAV
DR. HELGI JUNG COOK, FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX. JULIO DE 2024


Dra. Marta Alicia Menjivar Iraheta
Tutora

Coordinadora del campo Bioquímica Clínica



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.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS	4
RESUMEN	5
I. INTRODUCCIÓN.....	7
II. ANTECEDENTES.....	8
II.1 DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN.....	8
II.2 EPIDEMIOLOGÍA	9
II.3 FACTORES DE RIESGO.....	10
II.4 POBLACIÓN INDÍGENA MAYA.....	11
II.5 DIAGNÓSTICO DE DIABETES TIPO 2	12
II.6 GENÉTICA DE LA DIABETES TIPO 2	14
II.7 FARMACOGENÉTICA	16
II.8 REACCIONES ADVERSAS MEDICAMENTOSAS.....	16
II.9 BASES DE DATOS PharmGKB	16
II.10 GWAS, MICROARREGLOS Y VARIANTES GENÉTICAS	17
II.11 MICROARREGLO APMDA.....	19
II.12 GENES RELACIONADOS CON FÁRMACOS EN DIABETES	19
II.13 VARIANTES CANDIDATAS ASOCIADAS A ANTIDIABÉTICOS ORALES	22
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	25
IV. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	26
V. MATERIAL Y MÉTODOS.....	27
V.1 TIPO DE ESTUDIO.....	27
V.2 TAMAÑO DE MUESTRA PARA LA COHORTE DE VALIDACIÓN:.....	27
V.3 RECOLECCIÓN DE DATOS	28
V.4 MÉTODOS MICROARREGLO.....	31
V.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	31
V.6 TOMA DE MUESTRA DE SANGRE	32
V.7 EXTRACCIÓN DE ADN	32
V.8 CUANTIFICACIÓN DE ADN	32
VI. RESULTADOS	33
VI.1 DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	37
VI.2 COMPARACIÓN GRUPOS DE ESTUDIO	37

VI.4 ASOCIACIÓN DE VARIANTES GENÉTICAS.....	39
VII. DISCUSIÓN.....	40
VIII. CONCLUSIÓN.....	43
IX. REFERENCIAS	44

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla 1. Clasificación actual y nueva propuesta por subgrupos de diabetes	9
Tabla 2. Criterios diagnósticos de diabetes en adultos	12
Tabla 3. Criterios definitorios de prediabetes en adultos	13
Tabla 4. Criterios para la detección de diabetes o prediabetes en adultos asintomáticos	14
Tabla 5. Descripción general de siete pasos de control de calidad que se deben de realizar antes del análisis de asociación genética	18
Tabla 6. Resumen de variantes genéticas que influyen en los resultados de la terapia con metformina	20
Tabla 7. Resumen de variantes genéticas que influyen en los resultados de la terapia con sulfonilureas y metiglitinidas	21
Tabla 8. Características genéticas y fenotípicas de los genes propuestos	24
Tabla 9. Criterios de inclusión y exclusión de la cohorte de replicación	27
Tabla 10. Frecuencia de los polimorfismos candidatos en el microarreglo	34
Tabla 11. Descripción de la población maya en estudio	35
Tabla 12. Características clínicas y bioquímicas de la población maya	36
Tabla 13. Frecuencias alélicas de los genes estudiados en la población maya	38
Tabla 14. Asociación de las variantes genéticas con reacciones adversas a medicamentos	39
Figura 1. Prevalencia de diabetes en México.....	10
Figura 2. Prevalencia de diabetes por estado en México.....	11
Figura 3. Metodología del estudio.....	29
Figura 4. Selección de variantes de nucleótido único	30
Figura 5. Análisis de ancestría de la población del microarreglo.....	33

RESUMEN

Antecedentes: La diabetes tipo 2 (DT2) es el tipo más frecuente de diabetes tanto en México como en el resto del mundo. Esta enfermedad afecta a más de ocho millones de personas en nuestro país, lo que representa el 11.7% de la población. Así mismo, la DT2 y sus complicaciones son la principal causa de muerte en nuestro país. La DT2 es una enfermedad compleja condicionada por factores genéticos y ambientales. Estudios previos han señalado que la población latina y mexicana se encuentra con mayor riesgo (intermedio-alto) de desarrollo de diabetes y que la presencia de reacciones adversas a medicamentos (metformina y glibenclamida, del grupo de las sulfonilureas) es frecuente en nuestra población. Yucatán se distingue de otros estados del país por su elevada proporción de ancestría amerindia explicada por el alto porcentaje del grupo indígena maya. Al mismo tiempo, Yucatán se encuentra dentro de los 5 estados del país con mayor prevalencia de diabetes. Considerando la elevada prevalencia de DT2 (11.7-15%) en adultos y a la alta frecuencia de reacciones adversas a medicamentos es importante determinar si el factor genético predispone a la población maya a la presencia de mayor frecuencia de reacciones adversas a hipoglucemiantes orales metformina y/o sulfonilureas. **Objetivos:** Identificar variantes genéticas asociadas con la presencia de reacciones adversas a hipoglucemiantes orales en pacientes con diabetes tipo 2 de la población maya de Yucatán. **Metodología:** Estudio observacional transversal en dos fases. En la primera fase, el estudio es descriptivo. Primero, se identificaron variantes genéticas que estuvieran previamente reportadas en relación con la respuesta a los medicamentos metformina y sulfonilureas y a las reacciones adversas integrando dos fuentes de datos. En esta misma fase se hizo la genotipificación, mediante un microarreglo, de una cohorte de 95 pacientes mestizos y mayas diabéticos con reacciones adversas a medicamentos para conocer las frecuencias de las variantes candidatas y se realizó análisis de ancestría de estos pacientes. En la segunda fase se realizó un estudio de casos y controles donde se validaron mediante genotipificación por PCR las frecuencias de tres variantes seleccionadas en la primera fase. La cohorte de validación es de 350 pacientes adultos con DT2 mayas de comunidades rurales de Yucatán. En ambas cohortes se evaluaron parámetros somatométricos, bioquímicos y clínicos. De acuerdo con la distribución de los datos se describieron en media, mediana, desviación estándar y cuartiles. Las comparaciones de frecuencias entre los grupos con y sin reacciones adversas se realizaron con la prueba chi-cuadrada. **Resultados:** Se reclutaron 350 pacientes diabéticos mayas en la cohorte de replicación, 136 (38.5%) presentaron RAM. Los pacientes sin RAM tienen mejor control glucémico que los pacientes con RAM (62.6% vs 43.4%). En nuestra cohorte de población maya

se presentó una mayor frecuencia, 35%, de la variante alélica de riesgo (cambio de citosina C/T por timina) en el polimorfismo rs1799853 del gen CYP2C9*2, respecto a lo reportado en diferentes poblaciones americanas, europeas, africanas y asiática en bases de datos públicas donde la frecuencia de este polimorfismo es del 8%, 11%, 2% y 0% respectivamente. El 71.8% de los individuos de los pacientes portadores del alelo de riesgo presentaron RAM versus 59.4%. No se encontraron asociaciones significativas con las frecuencias de los otros dos polimorfismos evaluados. **Conclusión:** Se encontró que, en nuestra cohorte, los portadores de la variante rs1799853 del gen CYP2C9*2 presentan mayor frecuencia de RAM a sulfonilureas y sulfonilureas con metformina ($p=0.025$ y 0.001). Las variantes rs5219 del gen KCNJ11 y la variante rs3889348 del gen SLC24A9 no presentaron asociación significativa con RAM a antidiabéticos orales en nuestra población estudiada.

I. INTRODUCCIÓN

La diabetes tipo 2 (DT2) es uno de los principales factores de riesgo de enfermedad cardiovascular y ocupa uno de los primeros lugares como causa de muerte en adultos alrededor del mundo (1). En los últimos años, el porcentaje de población afectada por DT2 en México ha ido en aumento con una prevalencia de 9.2% en 2012, 10.3% en el año 2018 y llegando a 11.7% en el último informe de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) en 2021 (2). Alrededor del mundo, la DT2, es la primera causa de ceguera, enfermedad renal crónica (ERC) y amputaciones no traumáticas en adultos. La Ciudad de México y Yucatán se sitúan entre los estados de mayor prevalencia de diabetes del país (2).

La DT2 es una enfermedad poligénica y multifactorial que se explica por la presencia de un conjunto de factores genéticos y ambientales (3). En cuanto a los factores genéticos, existen diversos estudios de asociación del genoma completo (GWAS) y de genes candidatos que han identificado variantes genéticas que confieren un mayor riesgo al desarrollo de diabetes, disminuyen la respuesta a antidiabéticos orales (ADO) y aumentan la frecuencia de aparición de reacciones adversas a medicamentos (RAM) (3). Dichos estudios han sido reproducidos de manera reducida en México con un número pequeño de variantes genéticas identificadas en población mexicana (4,5).

Yucatán cuenta con el mayor número de habitantes del grupo indígena maya. En este grupo se ha determinado que cuenta con un componente genético ancestral (4,6). Por lo anterior, es importante estudiar la frecuencia de variantes genéticas asociadas con reacciones adversas en esta población.

El presente estudio busca identificar polimorfismos genéticos, a partir de una lista de variantes candidatas de bases de datos de farmacogenómica, que se asocien con la respuesta y/o la presencia de reacciones adversas a ADO en la población maya de Yucatán. Durante la primera fase del estudio se seleccionaron las variantes genéticas de los genes CYP2C9*2 (rs1799853), SLC29A4 (rs3889348), KCNJ11 (rs5219), mismas que se han previamente reportadas como asociadas a diferencias en la respuesta y a la presencia de reacciones adversas a hipoglucemiantes orales (7,8). En la segunda fase del estudio se analizó la presencia de estas variantes en una cohorte de 350 individuos mayas con diabetes de poblaciones rurales de Yucatán y se identificó que los portadores del alelo de riesgo T para el polimorfismo rs1799853 de CYP2C9*2 presentaron una mayor frecuencia de RAM ($p < 0.05$).

II. ANTECEDENTES

II.1 DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN

La diabetes comprende un grupo de trastornos heterogéneos que comparten el fenotipo de la hiperglucemia (1). La diabetes ha sido clasificada en cuatro tipos de acuerdo con la última guía de la Asociación Americana de Diabetes (ADA) (7):

- **Diabetes tipo 1**, secundaria a la destrucción autoinmunitaria de células beta pancreáticas;
- **Diabetes tipo 2**, secundaria a la pérdida de secreción beta pancreática de insulina en el contexto de resistencia periférica a la insulina;
- **Diabetes gestacional** (del embarazo) y
- **Otros tipos específicos de diabetes** (diabetes monogénica, MODY, deficiencia de páncreas exógeno de diferentes etiologías como quirúrgicas, fibrosis quística, medicamentosa, etc.).

La clasificación históricamente se ha hecho con base en mecanismos fisiopatológicos y características clínicas previas de las personas con DT2. Sin embargo, en los últimos años se han detectado casos con apariciones más tempranas y una sintomatología más agresiva, que ha sido controlada con el uso indiscriminado de insulina. Se ha sugerido una clasificación que contempla cinco características, tomando en cuenta los factores fisiopatológicos, bioquímicos y clínicos, con la intención de identificar a tiempo a pacientes con mayor riesgo de complicaciones tempranas y establecer tratamientos farmacológicos individualizados (7,8). La nueva propuesta de clasificación incluye pacientes de inicio temprano, presencia de anticuerpos anti GADA positivos o negativos, pacientes insulinoresistentes, presencia de exceso de peso y pacientes de la tercera edad.

La clasificación del subgrupo 1, está caracterizado por inicio a edad temprana de diabetes, IMC relativamente bajo, deficiencia de insulina y presencia de anticuerpos anti GADA positivos, nombrada diabetes autoinmune severa (SAID). El subgrupo 2 nombrada diabetes con deficiencia de insulina severa (SIID), se caracteriza por tener anticuerpos anti GADA negativos, pero con las mismas características que el subgrupo 1. Subgrupo 3, con el nombre de diabetes insulinoresistente severo (SIRD) que se caracteriza por resistencia a insulina (HOMA 2-IR elevado) y IMC elevado. El subgrupo 4 también cuenta con IMC

elevado, sin embargo, sin evidencia bioquímica de resistencia a insulina, por lo que ha sido nombrado diabetes leve relacionada con obesidad (MOD). Finalmente, el 5to subgrupo comprende pacientes con características similares al subgrupo 4, pero en adultos mayores y únicamente con alteraciones metabólicas leves a moderadas, llamado diabetes leve relacionada con la edad (MARD). Sin embargo, es necesario mencionar, que la clasificación por subgrupos aún está siendo considerada por guías y consejos internacionales y aún no ha sido establecida, en definitiva, aunque ya es brevemente mencionada como novedad en la nueva guía de la Asociación Americana de Diabetes (ADA) 2024 (7). Ambas clasificaciones se encuentran resumidas en la Tabla 1.

Tabla 1. Clasificación actual y nueva propuesta por subgrupos de diabetes.

Clasificación Actual	Clasificación por subgrupos (propuesta)
Diabetes tipo 1	Diabetes autoinmune severa (SAID)
Diabetes tipo 2	Diabetes con deficiencia de insulina severa (SIID)
Diabetes Gestacional	Diabetes insulinoresistente severo (SIRD)
Otros tipos de diabetes	Diabetes leve relacionada con obesidad (MOD)
	Diabetes leve relacionada con la edad (MARD)

Modificado. Lancet diabetes Endocrinología 2018 y ADA 2024 (7,8)

II.2 EPIDEMIOLOGÍA

La DT2 se encuentra dentro de las primeras cinco causas de muerte a nivel mundial en personas mayores de 20 años. Actualmente, alrededor del mundo es la primera causa de ceguera, enfermedad renal crónica terminal y amputaciones no traumáticas en adultos (1,2). En México, la DT2 representa, junto con el infarto agudo al miocardio (IAM), la primera causa de muerte en la población adulta.

Como se puede ver en la Figura 1, en la última Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) llevada a cabo por el Instituto Nacional de Geografía e Información (INEGI) en 2021 se reporta una prevalencia de 11.9% de personas con diagnóstico establecido de diabetes en personas mayores de 20 años. Además, se estima que 4.6% de personas mayores de 20 años tienen diabetes, pero no han sido

formalmente diagnosticados. Por lo anterior se estima una prevalencia del 15.7% con intervalo de confianza (IC 95%) del 13.9-17.6%. Por género, se reporta que el 15.6% de los hombres y el 15.8% de las mujeres mayores de 20 años en México padecen diabetes. En cuanto a grupos etarios, en la población de 20 a 39 años, 4.5% padece diabetes; de 40 a 59 años 22.8% padece diabetes y la población de 60 años o más el 28.8% (2). Por otro lado, como se ve en la Figura 2, Yucatán se encuentra dentro de los estados de la República Mexicana con mayor prevalencia de diabetes.

Figura 1. Prevalencia de diabetes en México.

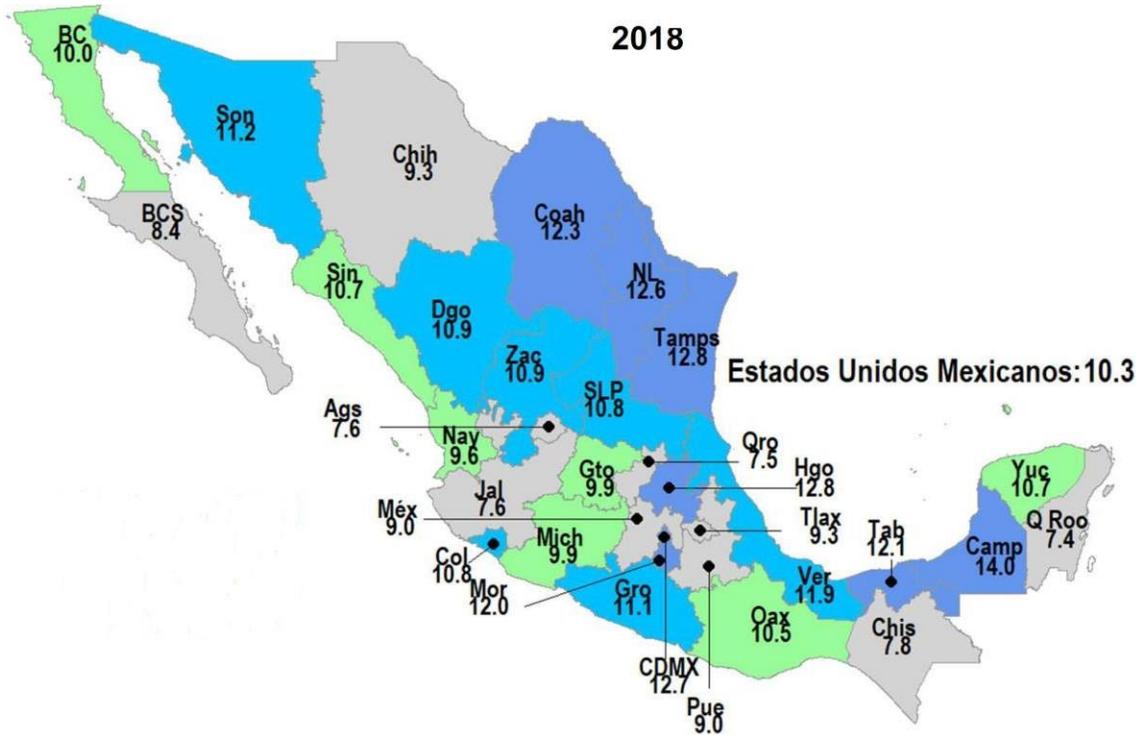
	Muestra expandida (miles)	Diabetes diagnosticada		Diabetes no diagnosticada		Diabetes total	
		Prop (%)	IC95%	Prop (%)	IC95%	Prop (%)	IC95%
Total	81.5	11.1	9.5,12.8	4.6	3.7,5.8	15.7	13.9,17.6
Hombre	38.9	9.4	7.4,12.0	6.1	4.5,8.4	15.6	12.9,18.7
Mujer	42.6	12.5	10.5,14.9	3.2	2.3,4.5	15.8	13.5,18.4
Grupos de edad (años)							
20-39	36.8	2.3	1.5,3.4	2.2	1.4,3.5	4.5	3.4,6.0
40-59	29.5	15.4	12.5,18.8	7.4	5.5,9.9	22.8	19.2,26.9
60 y más	15.2	23.8	19.5,28.7	5.0	3.0,8.2	28.8	24.2,33.8

Prevalencia total, por grupos etarios y género de diabetes diagnosticada y estimada de acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición del Instituto Nacional de Estadística y Geografía 2021 (2).

II.3 FACTORES DE RIESGO

Existen diferentes factores de riesgo para desarrollo de diabetes como lo son los antecedentes familiares en línea directa, sobrepeso, obesidad, sedentarismo, hipertensión arterial sistémica (HAS), síndrome de ovarios poliquístico, dislipidemias u otras comorbilidades cardiovasculares. Dentro de los factores de riesgo, llama especial atención la ancestría étnica (africana, afroamericana, hispano americana e hispana), debido a que se ha referido que presentan mayor riesgo a desarrollo de diabetes comparado con otras etnias (europeas o norteamericanas). Incluso únicamente por ancestría, de acuerdo con la Guía de Práctica Clínica Mexicana (GPC), ser mexicano se encuentra como factor de riesgo aislado, catalogado como riesgo intermedio-alto para padecer diabetes (1,9).

Figura 2. Prevalencia de diabetes por estados en México.



Prevalencia de diabetes en México por estados. Señalados se encuentran los estados con mayor prevalencia y destaca la zona de la península de Yucatán como una de las regiones con mayor prevalencia (10).

La diabetes al igual que otras enfermedades crónico-degenerativas es una enfermedad compleja (multifactorial) en la que existen factores de riesgo ambientales y genéticos (poligénicos). Dentro de los factores ambientales anteriores encontramos el tipo de alimentación, la presencia de sobrepeso, obesidad, sedentarismo, edad, HAS, etc. En cuanto a los factores genéticos encontramos los antecedentes familiares directos de diabetes, ancestría y variantes de nucleótido único (SNVs) (3).

II.4 POBLACIÓN INDÍGENA MAYA

El grupo indígena maya es el segundo pueblo mesoamericano más grande de México y el estado de Yucatán concentra a la mayor parte de la población indígena maya. Un estudio realizado por investigadores del Instituto Nacional de Medicina Genómica (Inmegen) reportó que la genética yucateca está compuesta en un 59% por ancestría maya, 38% por ancestría europea, ~2% por asiática y menor a

1% de africana (11). Así mismo, otro estudio genómico del Inmegen, en colaboración con otros investigadores, sobre varios grupos indígenas de México, observó que el componente amerindio predominante en los mayas de Yucatán y Chiapas se encuentra en muy baja proporción en grupos indígenas del centro del país y está completamente ausente en las poblaciones de los estados del norte. Por lo anterior se ha propuesto que la ancestría maya representa un grupo étnico genética y geográficamente diferente a los demás grupos indígenas de la república (6,11,12).

II.5 DIAGNÓSTICO DE DIABETES TIPO 2

El diagnóstico de diabetes se basa en los niveles plasmáticos de hemoglobina glucosilada (HbA1c) o glucosa. Existen diferentes opciones diagnósticas, en cuanto los niveles plasmáticos de glucosa, se puede establecer diagnóstico a través de glucosa en ayuno (GPA), curva de tolerancia oral a la glucosa 2 horas posteriores a ingesta de 75g de glucosa o mediante glucosa plasmática aleatoria (sin necesidad de ayuno) siempre y cuando sea igual o mayor a 200mg/dl, acompañado de síntomas clásicos de hiperglucemia o en el contexto de una crisis glucémica como cetoacidosis diabética (CKD) o estado hiperglucémico hiperosmolar (EHH). En la Tabla 2, se esquematiza los criterios diagnósticos actualizados por la ADA 2024, con valores de corte para cada prueba y método (7).

Tabla 2. Criterios diagnósticos de diabetes en adultos.

A1C $\geq 6.5\%$ (≥ 48 mmol/mol). La prueba debe ser realizada en un laboratorio usando un método que esté certificado por la NGSP y estandarizado para el ensayo DCCT. *

O

Glucosa en ayunas ≥ 126 mg/dL (≥ 7.0 mmol/L). Ayuno está definido por evitar la ingesta calórica por al menos 8 hr.

O

2-h GP ≥ 200 mg/dL (≥ 11.1 mmol/L) durante CTOG. La prueba debe ser realizada como describe la OMS, usando una carga de glucosa que contenga el equivalente a 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua. *

O

Individuo con síntomas clásicos de hiperglucemia o crisis hiperglucémica, una toma de glucosa plasmática aleatoria ≥ 200 mg/dL (≥ 11.1 mmol/L). Aleatoria es cualquier momento del día sin importar el tiempo transcurrido desde la última comida.

NGSP= Programa Nacional de Estandarización de hemoglobina glucosilada por sus siglas en inglés (National Glycohemoglobin Standardization Program) DCCT, Ensayo de control de la diabetes y complicaciones por sus siglas en inglés);CTOG, curva de tolerancia oral a la glucosa; OMS, Organización Mundial de la Salud;2-h GP, 2-h glucosa plasmática; En ausencia de hiperglucemia inequívoca, el diagnostico requiere 2 resultados anormales obtenidos en el mismo momento (ej. A1C y glucosa en ayunas) o en dos momentos diferentes (7).

Existe una parte de la población con trastorno en el metabolismo de carbohidratos que no cumple criterios para diagnóstico de diabetes, sin embargo, se encuentra fuera de las cifras óptimas de homeostasis en el metabolismo de carbohidratos y ha sido catalogada con el nombre de prediabetes. Esto toma vital importancia porque estas personas se encuentran en mayor riesgo de padecer diabetes a corto plazo y otras alteraciones de síndrome metabólico. Por lo anterior, en muchas ocasiones se opta por iniciar tratamiento antidiabético para prevenir el desarrollo (7). En la Tabla 3 se resumen los criterios diagnósticos de prediabetes.

Tabla 3. Criterios definatorios de prediabetes en adultos.

A1C \geq 5.7-6.4% (39-47 ml/mol)

O

Glucosa en ayunas 100 mg/dL (5.6 mmol/L) a 125 mg/dL (6.9 mmol/L) (IFG)

O

2-h GP durante prueba de CTOG con carga de 75 g de 140 mg/dL (7.8 mmol/L) a 199 mg/dL (11.0 mmol/L) (IGT)

Para las tres pruebas, el riesgo es continuo, se extiende por debajo del límite inferior del rango y se vuelve desproporcionadamente mayor en el extremo superior del rango. IFG= impaired fasting glucosa (alteración de glucosa en ayunas); CTOG= curva de tolerancia oral a la glucosa; 2-h GP, 2-h glucosa plasmática, IGT= impaired glucosa tolerance (intolerancia a la glucosa) (7).

En cuanto al tamizaje para DT2 la Asociación Latinoamericana para el Estudio de la Diabetes (ALAD) y la guía ADA 2024 recomiendan iniciar el cribado en personas sin factores de riesgo claros a partir de los 35 años y en todo adulto independientemente de la edad si presenta alguno de los factores de riesgo descritos. En caso de que los resultados de las pruebas de laboratorio sean normales, se recomienda repetirlas al menos cada 3 años. Debe considerarse repetirlas antes en caso de que se desarrollen factores de riesgo o exista incremento de peso durante este período (7,13).

Cualquiera de los estudios diagnósticos de diabetes se puede usar para tamizaje de la enfermedad. En caso de utilizar la curva de tolerancia oral, se recomienda asegurar una ingesta mínima de 150 gramos al día de carbohidratos en los 3 días previos a la prueba (7). Se debe considerar tamizaje para diabetes en personas tomando cierto tipo de medicamentos como glucocorticoides, inmunosupresores, tratamiento

antirretroviral para virus de inmunodeficiencia humana (VIH), antipsicóticos, estatinas, tiazídicos y etc.

(7). En la tabla 4 se resumen criterios para tamizaje de diabetes o prediabetes en la población.

Tabla 4. Criterios para la detección de diabetes o prediabetes en adultos asintomáticos

1. Se debe considerar realizar las pruebas en adultos con sobrepeso u obesidad ($IMC \geq 25$ kg/m² o ≥ 23 kg/m² en individuos asiático-americanos) que tienen uno o más de los siguientes factores de riesgo
 - a. Familiares de primera línea con diabetes
 - b. Raza y etnias de alto riesgo (ej. Africanos, latinos, americano nativo, asiático-americano, islas del pacífico)
 - c. Antecedente de enfermedad cardiovascular
 - d. Hipertensión ($\geq 130/80$ mmHg o hipertensión sin tratamiento)
 - e. Niveles de colesterol HDL < 35 mg/dL (< 0.9 mmol/L) y/o niveles de triglicéridos > 250 mg/dL (> 2.8 mmol/L)
 - f. Diagnóstico de síndrome de ovario poliquístico
 - g. Inactividad física
 - h. Otras condiciones médicas asociadas con resistencia a la insulina (ej. obesidad mórbida, acantosis nigricans)
2. Personas con prediabetes ($A1C \geq 5.7\%$ [≥ 39 mmol/mol], IGT o IFG) se deben realizar pruebas anualmente.
3. Personas que fueron diagnosticadas con DG deben realizarse pruebas de por vida al menos cada 3 años.
4. Para todas las personas, las pruebas deben iniciar a realizarse a los 35 años.
5. Si los resultados son normales, se deben repetir las pruebas mínimo con intervalos de 3 años, con consideración de disminuir la frecuencia dependiendo de los resultados iniciales o de la condición de riesgo.
6. Personas con VIH, exposición a medicamentos de alto riesgo, antecedente de pancreatitis.

IGT= impaired glucose tolerance (intolerancia a la glucosa), IFG= impaired fasting glucosa (alteración de glucosa en ayunas, DG= diabetes gestacional (7).

II.6 GENÉTICA DE LA DIABETES TIPO 2

Desde el siglo pasado se han desarrollado diferentes fármacos para el tratamiento de la diabetes. Los medicamentos tienen como objetivo controlar los niveles séricos de glucosa con el propósito de prevenir complicaciones metabólicas y cardiovasculares. Dentro de las opciones terapéuticas se han desarrollado fármacos de uso enteral los cuales han sido denominados antidiabéticos o hipoglucemiantes orales (ADO) (1,7).

Los primeros en su clase fueron el grupo de las sulfonilureas, los cuales se lanzaron al mercado en los años 50's del siglo pasado y fueron clasificados en tres generaciones conforme fueron surgiendo de

acuerdo con su perfil farmacocinético (4). Su mecanismo de acción es de tipo secretagogo, promoviendo la secreción de insulina en la célula beta pancreática. La glibenclamida es una sulfonilurea de 2da generación la cual ha sido ampliamente comercializada en el mundo y en nuestro país, siendo aún hoy en día su uso frecuente por su alta eficacia en la reducción de cifras de glucosa plasmática, bajo costo y disponibilidad, sin embargo, con efectos adversos serios como hipoglucemia, ganancia de peso, temblores y morbimortalidad cardiovascular, entre otros (14).

La reacción adversa medicamentosa más temida con el uso de ADO es la hipoglucemia por su relación con complicaciones y mortalidad (4,7,14). Recientemente, un estudio piloto encontró que aquellos portadores de dos variantes en el gen CYP2C9 (CYP2C9*2 Y CYP2C9*3) se asociaron con mayor riesgo de hipoglucemia en población maya de México (4). Así mismo, Sánchez-Ibarra y colaboradores encontraron que los portadores heterocigotos de la variante de riesgo del gen ABCC8-Ala1369Ser presentaron mejor respuesta al tratamiento con sulfonilureas, mientras que, los portadores homocigotos de la variante de riesgo del gen KCNJ11-Glu23Lys presentaron una menor respuesta al mismo (14). Estas dos variantes han mostrado tener impacto en la respuesta al uso de sulfonilureas. Sin embargo, Rodríguez-Rivera, aunque con menor tamaño muestra, no lograron demostrar asociación estadísticamente significativa en los polimorfismos E23K (KCNJ11) y R1273R (ABCC8) en cuanto al control glucémico en pacientes mestizos mexicanos tratados con hipoglucemiantes orales (5).

Existe otro grupo de fármacos de suma importancia, el grupo de las biguanidas, representado principalmente por la metformina que sigue siendo hoy en día el fármaco de elección para iniciar control de tratamiento de la diabetes tipo 2. Se recomienda iniciar en monoterapia o en combinación con otros fármacos, debido a su perfil de seguridad, ausencia de efectos adversos cardiovasculares, ganancia de peso, disponibilidad, bajo coste y ausencia de riesgo de hipoglucemia (7,9,15). Su mecanismo de acción es dual al inhibir la producción hepática de glucosa, inhibiendo la gluconeogénesis, así como, aumentando la captación de glucosa por tejido muscular periférico.

Los efectos secundarios de metformina (MTF) son mayormente gastrointestinales (náusea, flatulencias, pirosis, diarrea, dispepsia), siendo la acidosis láctica el efecto adverso más temido (1,14,15). Múltiples estudios han identificado variantes genéticas asociadas a la farmacocinética y farmacodinamia de este grupo de medicamentos alrededor del mundo (16–18). Sin embargo, existen pocos estudios que estudien la asociación de la variante genética con el desarrollo de efectos adversos en la población maya y mestiza de México (14,15,19). En un estudio de cohorte con más de 300 participantes mexicanos de Reséndiz-Abarca y colaboradores, encontraron asociación entre un polimorfismo en el gen SLC22A1 que codifica proteína catiónica

orgánica I (OCT I), con niveles alterados de glucosa, hemoglobina glucosilada (HbA1c) comparado con los participantes que no tenían este polimorfismo, en pacientes que recibieron metformina como monoterapia durante tres años (20). En contraparte, en la población de la India se estudiaron polimorfismos para los genes SLC47A1 y su asociación en el control glucémico a través de HbA1c y la presencia de RAM, sin encontrar resultados significativos (21). Estos polimorfismos no han sido estudiados en población maya de México.

II.7 FARMACOGENÉTICA

En los últimos años, ha aumentado el interés en cuanto a la posibilidad de otorgar un diagnóstico y tratamiento individualizado. La farmacogenética involucra la personalización de los tratamientos basados en el genotipo del paciente, para asegurar una adecuada respuesta, con la posibilidad de ajuste de dosis, disminuir toxicidad y reacciones adversas medicamentosas. La variabilidad interindividual en la respuesta a fármacos es uno de los problemas presentes en la práctica clínica diaria y la existencia de variantes genéticas que modulan la actividad de diferentes enzimas metabolizadoras de fármacos representan una de las principales fuentes de variabilidad (22–24).

II.8 REACCIONES ADVERSAS MEDICAMENTOSAS

Se define como reacciones adversas a medicamentos o medicamentosas (RAM) a cualquier respuesta nociva y no intencionada a un medicamento. Las RAM son muy relevantes porque representan una causa muy importante de morbilidad, se encuentran dentro de las principales causas de ingresos hospitalarios e incrementan costos en salud (1,25,26). De igual forma, la respuesta a fármacos o su utilidad terapéutica, usualmente se valora en cuanto a su eficacia y seguridad (reacciones adversas).

II.9 BASES DE DATOS PharmGKB

Como se mencionó previamente, la farmacogenómica comprende el estudio de cómo la genética cambia la respuesta de un individuo a los medicamentos. Existen bases de datos internacionales que proporcionan información de cómo la variación genética humana afecta la respuesta de individuos a los medicamentos. Los Institutos Nacionales de Salud (NIH por sus siglas inglés) de Estados Unidos de América han creado

una base de datos en línea denominada “Pharmacogenomics Knowledgebase” (PharmGKB) que concentra dicha información. La PharmGKB recopila, selecciona y difunde conocimientos sobre asociaciones de genes y fármacos clínicamente procesables y relaciones entre genotipo y fenotipo. (<https://www.pharmgkb.org/whatIsPharmgkb>).

II.10 GWAS, MICROARREGLOS Y VARIANTES GENÉTICAS

En las últimas décadas se han dedicado muchos esfuerzos a la determinación de variantes y genes que pueden estar involucrados de manera importante en el riesgo de padecer diabetes y a la respuesta a los medicamentos utilizados en diabetes. Se han utilizado varias estrategias, pero recientemente, los estudios de asociación de genoma completo (GWAS) han sido una herramienta esencial para la identificación de genes involucrados en enfermedades complejas (21). Se han realizado muchos estudios a nivel global donde se han propuesto variantes de nucleótido único (SNVs) asociados con la respuesta a ADO (27,28). Estos estudios consisten en establecer una asociación entre la frecuencia alélica de millones de marcadores tipo SNVs distribuidos a lo largo del genoma y un fenotipo de enfermedad en estudio (29).

Los microarreglos de polimorfismos de un solo nucleótido son una tecnología muy utilizada en biología molecular que consta de miles de secuencias de ADN sobre una placa o chip. Estas secuencias están marcadas con sustancias fluorescentes que se activan cuando una secuencia complementaria se hibridiza. De esta manera los microarreglos permiten genotipificar a escala genómica el ADN de pacientes a un costo menor que el de la secuenciación masiva de ADN (30). Una vez obtenidos los resultados preliminares del genotipificado de las muestras con el microarreglo, es necesario realizar varios pasos de control de calidad y postprocesamiento de los datos. Un resumen de estos pasos se esquematiza en la Tabla 5.

Tabla 5. Descripción general de siete pasos de control de calidad que se deben realizar antes del análisis de asociación genética

Paso	Función	Umbral y explicación
1. Faltante de SNP e individuos	Excluye los SNP que faltan en una gran proporción de los sujetos. En este paso, los SNP con llamadas de genotipo bajo se eliminan.	Se recomienda filtrar primero los SNP y los individuos. basado en un umbral relajado (0.2; >20%), ya que esto filtra SNP e individuos con niveles muy altos de faltante. Luego un filtro con un más estricto umbral se puede aplicar (0.02). El filtrado SNP debe realizarse antes del filtrado individual
2. Discrepancia sexual	Comprueba si hay discrepancias entre el sexo del individuo registrado en el conjunto de datos y su sexo según la heterocigosidad del cromosoma X/tasas de homocigosidad.	Puede indicar mezclas en las muestras. Si muchos sujetos tienen esta discrepancia, los datos deben comprobarse cuidadosamente. Los hombres deben tener una estimación de homocigosidad del cromosoma X >0.8 y las mujeres deben tener un valor <0.2.
3. Frecuencia del alelo menor (MAF minor allele frequency)	Incluye solo SNP por encima del umbral MAF establecido.	Los SNP con un MAF bajo son raros, por lo tanto, hay falta de potencia para detectar asociaciones de fenotipo SNP. Estos SNP también son más propensos a errores de genotipado. El umbral MAF debe depender del tamaño de la muestra, las muestras más grandes pueden utilizar umbrales MAF más bajos. Respectivamente, para muestras grandes (N = 100,000) vs moderados (N = 10,000), 0.01 y 0.05 son comúnmente utilizado como umbral MAF.
4. Equilibrio Hardy-Weinberg	Excluye marcadores que se desvían del equilibrio de Hardy-Weinberg.	Indicador común de error de genotipado, también puede indicar selección evolutiva.
5. Heterocigosidad	Excluye a personas con alta o baja tasas de heterocigosidad	Las desviaciones pueden indicar contaminación de la muestra, endogamia. Se sugiere eliminar a los individuos que se desvían ± 3 DE de la media de la tasa de heterocigosidad de las muestras
6. Relación	Calcula la identidad por descendencia (IBD) de todos los pares de muestras. Establece un umbral y crea una lista de personas con parentesco superior al umbral elegido. Lo que significa que los sujetos que están relacionados, por ejemplo, $\pi\text{-hat} > 0.2$ (es decir, parientes de segundo grado) pueden ser detectados.	Utiliza SNP independientes (recorte) para este análisis y limita a los cromosomas autosómicos únicamente. La relación críptica puede interferir con el análisis de asociación. Si tiene una muestra basada en la familia (p. ej. padre-hijo), no es necesario eliminar los pares relacionados, pero el análisis estadístico debe tener en cuenta el parentesco familiar.
7. Estratificación de la población	Calcula la identidad por descendencia (IBD) de todos los pares de muestras. Produce una representación k dimensional de cualquier subestructura en los datos, basada en IBS.	Utiliza SNP independientes (recorte) para este análisis y limita a los cromosomas autosómicos únicamente. K es el número de dimensiones que deben definirse (normalmente 10). Este es un paso importante del control de calidad que consta de múltiples procedimientos.

Modificado de Marees AT, de Kluiver H, Stringer S, et al. Int J Methods Psychiatr Res. 2018 (31)

II.11 MICROARREGLO APMDA

El chip (microarreglo) “Axiom Precision Medicine Diversity Array” (APMDA) es una herramienta de biología molecular elaborada por la empresa ThermoFisher Scientific que contiene más de 850 mil variantes de nucleótido único (SNV por sus siglas en inglés). Cuenta con una cobertura amplia de genoma completo, más de 15 mil variantes de 59 genes recomendados por el Colegio Americano de Genética asociados con condiciones de salud potencialmente graves, más de 5,000 marcadores farmacogenómicos en más de 1,100 genes, incluyendo genes relacionados con absorción, distribución, metabolismo y eliminación de medicamentos (ADME). Además, contiene cobertura de alelos y genes con relevancia conocida para el metabolismo de fármacos, incluidos los de la familia de citocromos (CYPs). Se utilizó el microarreglo de AMPDA para la primera fase de estudio. Se incluye más información y características del microarreglo en anexos.

II.12 GENES RELACIONADOS CON FÁRMACOS EN DIABETES

Existen diversos genes involucrados en el metabolismo de los ADO y asociados en la respuesta a los mismos o la presencia de RAM. En la Tabla 6 y Tabla 7, a manera de ejemplo, se ilustran algunos genes reportados en la bibliografía científica global y sus variantes genéticas más estudiadas, asociados con el metabolismo, respuesta o a reacciones adversas a metformina y sulfonilureas respectivamente. Finalmente, es importante determinar cuáles variantes están presentes en nuestra población y su asociación con RAM.

Tabla 6. Resumen de variantes genéticas que influyen en los resultados de la terapia con metformina.

Gen	SNP	Alelos	Región	Características asociadas	Efectos adversos
ATM	rs11212617	C/A	11q22.3	Reacción de MET	
SLC2A2	rs8192675	A/G	3q26.2	Reacción de MET	
SLC22A2	rs316019	G/T	6q25.3	MET PK, HbA1c	Tolerancia de MET
SLC22A2	rs145450955	G/A		MET PK, HbA1c	
IRS1	rs1801278	G/A	2q36.3	Falla secundaria	
SLC22A1	rs34447885	C/T	6q25.3	MET PK	
SLC22A1	rs1867351	A/G		MET PK, HbA1c	
SLC47A1	rs77630697	G/A	17p11.2	MET PK	
SLC47A1	rs2289669	G/A		MET PK, reacción de MET, HbA1c	
SLC47A2	rs34399035	C/T	17p11.2	HbA1c	
SLC47A2	rs373244724	T/C		MET PK	

MET= metformina, PK=farmacocinética HbA1c=hemoglobina glucosilada, PD, farmacodinámica.

Tomado y modificado de: Mannino GC, Andreozzi F, Sesti G. Pharmacogenetics of type 2 diabetes mellitus, the route toward tailored medicine. *Diabetes Metab Res Rev.* 2019;35: e3109. <https://doi.org/10.1002/dmrr.3109> (32).

Tabla 7. Resumen de variantes genéticas que influyen en los resultados de la terapia con sulfonilureas/meglitinidas.

Gen	SNP	Alelos	Región	Características asociadas	Efectos adversos asociados
CYP2C8	rs10509681 (*3)	T/C	10q23.33	SUF PK	
CYP2C9	rs1799853 (*2)	C/T	10q23.33	SUF PK	Hipoglucemia
SLCO1B1	rs4149015	G/A	12p12.1	Reacción de repaglinide	
ABCC8	rs757110	T/G	11p15.1	Reacción de SUF	
ABCC8	rs1799859	G/A		Reacción de SUF, TG	
KCNJ11	rs5210	G/A	11p15.1	Reacción de SUF	
KCNQ1	rs2237892	C/T	11p15.4	Reacción de repaglinide	
	rs2237895	A/C		Reacción de repaglinide	
NOS1AP	rs10494366	G/T	1q23.3	Reacción de SUF	Mortalidad
IRS1	rs1801278	G/A	2q36.3	Reacción de SUF, secreción de insulina	Falla secundaria
TCF7L2	rs7903146	C/T	10q25.2	Reacción de SUF	Falla secundaria
TCF7L2	rs290487	C/T	10q25.3	Reacción de repaglinide	

SUF=sulfonilureas, PK= farmacocinética, PD=farmacodinámica,

Tomado y modificado de: Mannino GC, Andreozzi F, Sesti G. Pharmacogenetics of type 2 diabetes mellitus, the route toward tailored medicine. *Diabetes Metab Res Rev.* 2019;35: e3109. <https://doi.org/10.1002/dmrr.3109> (32).

II.13 VARIANTES CANDIDATAS ASOCIADAS A ANTIDIABÉTICOS ORALES

Se describen a continuación tres variantes candidatas que se evaluaron en la población en estudio.

GEN CYP2C9*2: variante rs1799853

El gen CYP2C9 se encuentra en el brazo largo del cromosoma 10 en la región 24 (10q24) codifica para la proteína con el nombre CYP2C9 que pertenece a la familia de citocromos P450. Esta familia de citocromos tiene como función el metabolismo de fármacos. Hoy en día se sabe que al menos el 15-25% de los fármacos utilizados son metabolizados en el hígado por la familia de citocromos (33).

La enzima CYP2C9 es miembro del sistema oxidasa de función mixta descrita. El gen que codifica presenta más de 60 variantes genéticas de tipo SNV y se han descrito seis variantes alélicas de importancia clínica. El alelo CYP2C9*1 está descrito como el metabolismo normal, lo que correspondería a una actividad enzimática del 100%, sin embargo, se han estudiado otras variantes de importancia clínica, implicadas en disminución del metabolismo de medicamentos. Ejemplo de lo anterior son las variantes CYP2C9*2 y CYP2C9*3, cuyas frecuencias alélicas difieren en diferentes grupos étnicos y han sido estudiadas en población mundial, latinoamericana, mexicana e incluso yucateca (4,5,33).

La variante alélica CYP2C9*2 rs1799853, presenta un cambio de citosina a timina en el exón 3 lo que representa un cambio en la proteína arginina por cisteína (Arg144Cys). Lo anterior se asocia a menor interacción de la enzima con su cofactor, reduciendo la velocidad máxima (Vmax) de 12 a 50% con respecto a la enzima con actividad normal (33). Por otro lado, la glibenclamida, fármaco ADO usado con mayor frecuencia junto con la metformina en México para tratamiento de diabetes, presenta metabolismo hepático a través de éstas enzimas y se ha propuesto que ésta variante se asocia con presencia de mayor frecuencia de reacciones adversas, incluyendo graves y frecuentes como hipoglucemia (4,5,33).

GEN SLC29A4: variante rs3889348

El gen SLC29A se encuentra en el cromosoma 7 brazo corto, región 22, codifica para un miembro de la familia transportadora de solutos 29, Transportador de Monoaminas de Membrana Plasmática (PMAT), la cual tiene como función la recaptación de monoaminas en neuronas presinápticas y se ha reportado que participa con un rol importante en la absorción intestinal de metformina. La proteína PMAT se expresa en la membrana apical de los enterocitos y participa junto con la proteína Transportadora de Cationes

Orgánicos tipo 1 (OCT1) en la absorción a este nivel de la metformina (22).

En un estudio denominado IMI Direct por Dawed et al, se reportó que las personas portadoras de la variante rs3889348 del gen SLC29A4 homocigotas para el alelo G presentan mayor riesgo de intolerancia gastrointestinal a la metformina (22). Lo anterior podría ser objeto de estudio para investigar una posible asociación a mayor abandono de tratamiento y aparición de complicaciones tempranas de diabetes.

GEN KCNJ11: variante rs5219

El gen KCNJ11 recibe su nombre por pertenecer a la subfamilia J del canal rectificador interno de potasio, miembro 11, se encuentra en el brazo largo del cromosoma 6 en la región 24 (6q24), codifica para la proteína Kir 6.2 la cual es una subunidad del canal de potasio ATP sensible de la célula pancreática (34), junto con la subunidad de alta afinidad a la sulfonilurea (SUR1) desempeña un papel importante en la secreción de insulina estimulada por glucosa en las células beta pancreáticas. Varios estudios han demostrado que variaciones genéticas incluidas SNVs están relacionadas con el desarrollo de resistencia a la insulina, diabetes y alteración en el metabolismo de sulfonilureas como glibenclamida. Entre los SNVs del gen KCNJ11, la variante rs5219 es un cambio de citocina por timina que produce a su vez un cambio de glutamato por lisina en la posición 23 del exón 1, lo cual causa disminución en la secreción de insulina (35).

A pesar de que se ha relacionado con mayor evidencia al desarrollo de diabetes, incluida diabetes neonatal, la relación con el metabolismo de glibenclamida ha sido controversial en diversas poblaciones. Como ejemplos del papel controversial en la presencia de reacciones adversas, encontramos el estudio de Ragia et al, en el 2012, donde se encontró que el polimorfismo en esta región no se asocia a riesgo de hipoglucemia, sin embargo, en un estudio conducido por Sesti et al, se sugirió que la presencia de esta variante podría estar relacionada con la respuesta a sulfonilureas (36,37).

La Tabla 8, resume de manera breve las características genéticas y de frecuencia poblacional más importantes de los genes descritos anteriormente.

La población mexicana cuenta con bajos porcentajes de adherencia farmacológica por lo que es importante estudiar la frecuencia de variantes relacionadas con reacciones adversas. Este estudio podría identificar si hay polimorfismos presentes en nuestra población maya que se asocien a RAM de fármacos de uso frecuente en nuestro medio para tratamiento de diabetes. Identificar la presencia de los polimorfismos en nuestra población podría ayudar a iniciar a establecer bases de medicina personalizada que permitirían

mejorar la atención de la población maya con DT2.

Tabla 8. Características genéticas y de frecuencia poblacional de los genes candidatos.

Gen/SNP ID	Tipo de variante	Función	Fenotipo	Autores/Revista
Localización				
CYP2C9 Sistema de Oxidasas de Función Mixta 2C9	rs1799853 Cambio de Citosina a Timina en el exón 3 Cambio de Arginina por Cisteína	Codifica a un miembro de la familia del sistema de oxidas de función mixta de la familia citocromo P450. Participa en el metabolismo de fármacos.	Mayor frecuencia de RAM con Glibenclamida.	Dujic et al. (2018) Front Genet
Variante: CYP2C9*2				
SLC29A4	rs3889348	Recaptación de monoaminas en neuronas presinápticas y participa con un rol importante en la absorción intestinal de metformina.	Mayor riesgo de intolerancia gastrointestinal a la metformina	Pearson ER, et al. (2006) N Engl J Med. Yun JH, et al. (2021) Sci Rep
Variante: rs3889348				
KCNJ11	rs5219 Sustitución de Citocina por Timina con cambio de glutamato por lisina en la posición 23 del exón 1	Relacionado con el desarrollo de resistencia a la insulina, diabetes y alteración en el metabolismo de sulfonilureas como glibenclamida.	Disminución en la secreción de insulina y respuesta a sulfonilureas	Baye AM, et al. (2021) Front Genet Sesti G, et al. (2019) J Clin Endocrinol Metab
Variante: rs5219				
SNP ID= Identificador de polimorfismo, GnomAD= Base de datos de agregación del genoma/Genome aggregation. (32,34–36,38)				

La información farmacogenética serviría de apoyo para que el médico tratante pueda tomar una decisión documentada sobre la dosificación adecuada de los medicamentos para cada individuo de nuestra población. Adicionalmente, se espera que éste manejo ayude a disminuir las reacciones adversas a los medicamentos por lo tanto el abandono del tratamiento y la aparición temprana de complicaciones de diabetes.

Por otro lado, la población maya de México tiene poco acceso a servicio de salud y fármacos novedosos para el tratamiento de diabetes por lo que consideramos importante el estudio de los medicamentos de mayor uso en esta población (metformina y glibenclamida), los cuales juntos representan el 70% de las combinaciones usadas para tratamiento de DT2. Estudiar el componente genético y las variantes relacionadas RAM podría ayudar a prevenir y disminuir la progresión de la enfermedad y crear herramientas o intervenciones importantes para el contexto de la población en estudio.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La diabetes es actualmente una pandemia y uno de los principales problemas de salud pública en nuestro país. La diabetes ocupa el primer lugar como causa de muerte en conjunto con el infarto agudo al miocardio en la población adulta y su prevalencia es aproximadamente de 1-1.5 personas de cada 10 personas mayores a 20 años. La alta incidencia, prevalencia y morbimortalidad de la diabetes hace importante continuar estudiando la enfermedad.

Yucatán es uno de los estados con mayor prevalencia de diabetes en nuestro país y es el estado que concentra la mayor parte de la población maya de México, de igual forma, se ha demostrado que cuenta con un componente ancestral único. La glibenclamida y la metformina son los principales medicamentos que se utilizan para el manejo ambulatorio de diabetes tipo 2 en México y en Yucatán. Llama la atención que la mayor parte de la población maya y mestiza de México no tiene un control glucémico adecuado y uno de los principales motivos se ha relacionado con la poca adherencia a los tratamientos farmacológicos secundaria al desarrollo de efectos adversos medicamentos como la hipoglucemia y la intolerancia gastrointestinal. Diversos estudios han propuesto que la presencia de polimorfismos genéticos implicados en el metabolismo de la glibenclamida y metformina predisponen al desarrollo de reacciones adversas, sin embargo, estos estudios han sido reproducidos de manera escasa en la población maya.

La identificación de variantes genéticas asociadas a DT2 y a RAM a los hipoglucemiantes orales podría ayudar a comprender los motivos por los cuales la población maya de México tiene menor adherencia farmacológica y aparición temprana de complicaciones. Estas acciones podrían brindar la pauta para la aplicación de medicina personalizada en nuestra población.

IV. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

OBJETIVO GENERAL:

Identificar variantes genéticas asociadas con la presencia de reacciones adversas a hipoglucemiantes orales en pacientes con diabetes tipo 2 de la población maya de Yucatán.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Describir los parámetros bioquímicos y somatométricos de las cohortes del microarreglo y cohorte de validación.
2. Seleccionar polimorfismos a evaluar en la cohorte de validación.
3. Identificar y determinar la frecuencia alélica y genotípica de las variantes genéticas encontradas en el microarreglo.
4. Verificar la presencia de los polimorfismos encontrados en el microarreglo en la población maya en estudio (cohorte de validación).
5. Determinar la asociación de las variantes genéticas encontradas con la presencia de reacciones adversas a hipoglucemiantes orales en la población maya (cohorte de validación).

HIPÓTESIS

H1: Los polimorfismos seleccionados estarán asociados de manera significativa a la presencia de reacciones adversas en la población maya de México con diabetes bajo tratamiento de sulfonilureas y biguanidas (metformina).

V. MATERIAL Y MÉTODOS

V.1 TIPO DE ESTUDIO

Este trabajo de investigación se realizó en dos fases. En la primera fase, se llevó a cabo un estudio observacional transversal descriptivo, donde se integraron pacientes diabéticos mestizos de la Ciudad de México quienes habían presentado RAM y pacientes diabéticos representantes del grupo maya de un municipio de Yucatán, Xocccén, quienes también habían presentado RAM. Estos pacientes fueron recolectados en protocolos, previos a este trabajo, del laboratorio de genómica en diabetes de la UNAM, en los cuales se realizó el microarreglo. Para la segunda fase, se realizó un estudio transversal de casos y controles (aquellos que presentaron RAM y aquellos libres de RAM). Los pacientes fueron recabados en el área de hospitalización y consulta externa del Hospital Regional de Alta Especialidad de la Península de Yucatán (HRAEPY) en un período de septiembre de 2021 a marzo de 2023.

V.2 TAMAÑO DE MUESTRA PARA LA COHORTE DE VALIDACIÓN:

Para calcular la muestra se utilizó la fórmula de poblaciones finitas (ver Ecuación 1).

$$n = \frac{N * Z^2 * p * q}{d^2 * (N - 1) + Z^2 * p * q}$$

Ecuación 1

Donde: n= Tamaño de la muestra. N= Tamaño de población =1,404,452 en Yucatán

Z²: Valor crítico de Z para significancia de 0.05 y nivel de confianza a 95%= 1.96

p: Frecuencia de DT2 en el sureste de México. q: Proporción esperada de fenómeno en la población no expuesta (1-p). e: Error admitido. d²: Precisión absoluta.

$$n = (1,404,457) * 1.962 * 0.102 * (1 - 0.102) / (1,404,457) * 0.052 + 1.962 * 0.102 * (1 - 0.102)$$

El tamaño de muestra fue de 163 individuos, sin embargo, fueron evaluados 350 individuos para fines del proyecto por conveniencia.

Tabla 9. Criterios de exclusión.

Criterios de inclusión	Criterios de exclusión
<ul style="list-style-type: none"> • Edad mayor o igual a 18 años. • Diabetes tipo 2 menor o igual a 5 años de diagnóstico. • Lengua o apellidos mayas en 1era o 2da línea para la población maya en estudio. • Aceptación de participación en el estudio y firma del consentimiento informado. 	<ul style="list-style-type: none"> • Edad menor a 18 años. • Mayor de 5 años de diagnóstico de diabetes. • Otro tipo de diabetes diferente a DT2. • Tasa de filtrado glomerular <30ml/min/1.73m2 • Insuficiencia hepática de cualquier tipo.

V.3 RECOLECCIÓN DE DATOS

La recolección de los datos se hizo en dos partes. En la primera cohorte, denominada cohorte de descubrimiento, se utilizó información clínica y muestras sanguíneas de 95 pacientes diabéticos con RAM que se encontraban en resguardo en el Laboratorio de Genómica en Diabetes. Esta información y muestras habían sido recolectadas previamente en una tesis realizada por integrantes del laboratorio y Acosta Tun en el año 2019, se contó con autorización de los autores. De estos 95 pacientes, 47 pertenecían a la población mestiza del Hospital Juárez de la Ciudad de México y 48 pertenecían a la población maya del municipio de Xocón en Yucatán.

Para la segunda cohorte, denominada cohorte de replicación o validación, se realizó un estudio de casos y controles donde se recopiló información clínica de una muestra de 350 pacientes mayas del Hospital Regional de Alta Especialidad de la Península de Yucatán (HRAEPY). Se realizó cuestionario médico con historia clínica completa a los nuevos participantes del proyecto y se obtuvo muestra sanguínea periférica para la realización de pruebas bioquímicas donde se incluyó citometría hemática, química sanguínea, perfil de lípidos, química hepática y hemoglobina glicada (HbA1c).

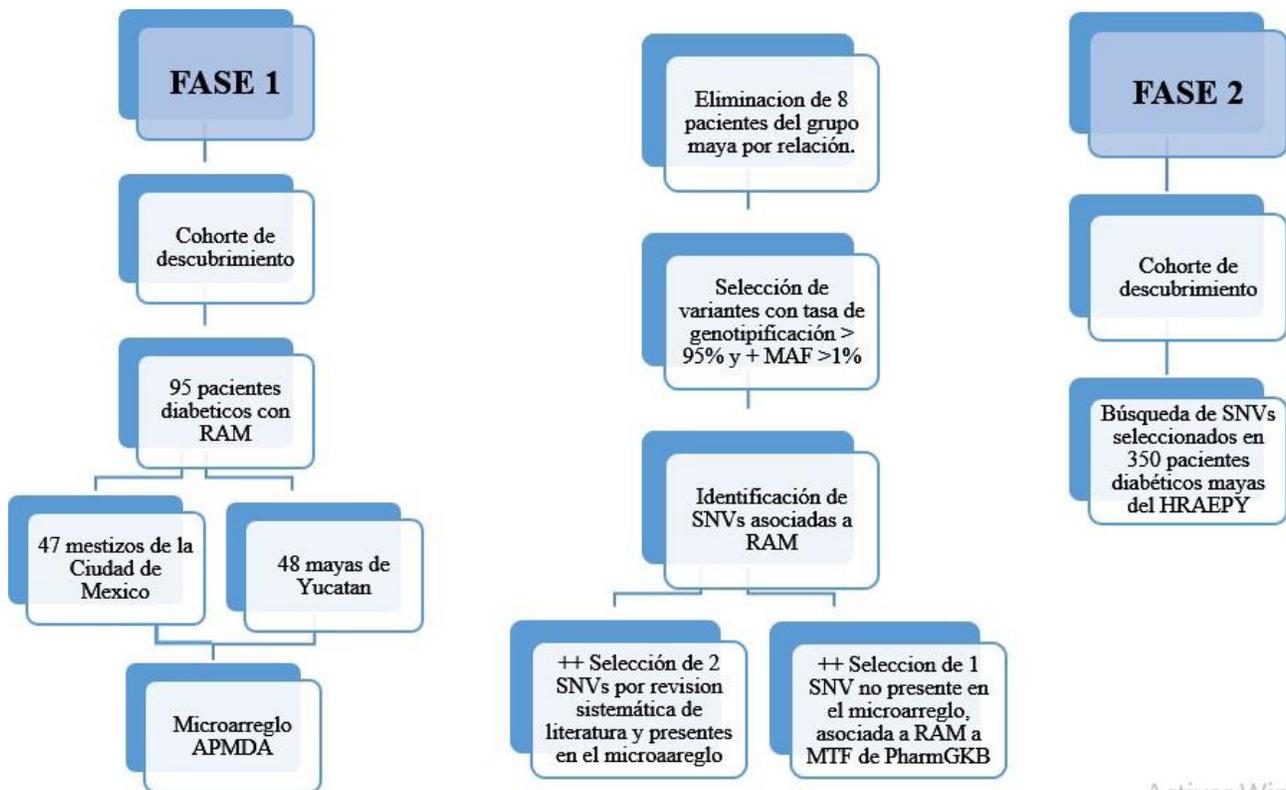
El protocolo fue autorizado por el comité de Investigación y Ética del HRAEPY y todos los participantes fueron informados y firmaron consentimiento informado para la obtención de datos y extracción de sangre. El formato de cuestionario de historia clínica puede verse en el anexo.

El protocolo se realizó en dos fases, las cuales se resumen en la Figura 3.

Para el cálculo de la ancestría se utilizó “ADMIXTURE” (39), con referencias de individuos de ancestría nativa, europea y africana obtenidos de estudios realizados por Silva-Zolezzi, I et al y Auton, A et al. Se utilizó como parámetro para el número de clústers $k=3$ (11,40), (ver Figura 5).

La selección de variantes se realizó conjuntando la información del microarreglo con la base de datos PharmGKB. En primer lugar, se seleccionaron de PharmGKB aquellos que tuvieran identificador rs y que en la entrada relacionada con interacciones con medicamentos estuvieran metformina o sulfonilureas. Por otro lado, del microarreglo se seleccionaron las sondas que tuvieran las palabras claves diabetes, glucémico, insulina, metformina, sulfonilureas y glucosa. Se restringió la búsqueda a las que tuvieran la anotación Pharmacogenetics/ADME y se eliminaron los polimorfismos intergénicos. Finalmente se escogieron dos variantes presentes tanto en la base de datos de PharmGKB y el microarreglo (rs1799853 del CYP2C9 y el rs5219 del KCNJ11) y se añadió un polimorfismo de PharmGKB a pesar de no estar presente en el microarreglo por estar asociado a reacciones adversas a metformina.

Figura 3. Metodología del estudio.



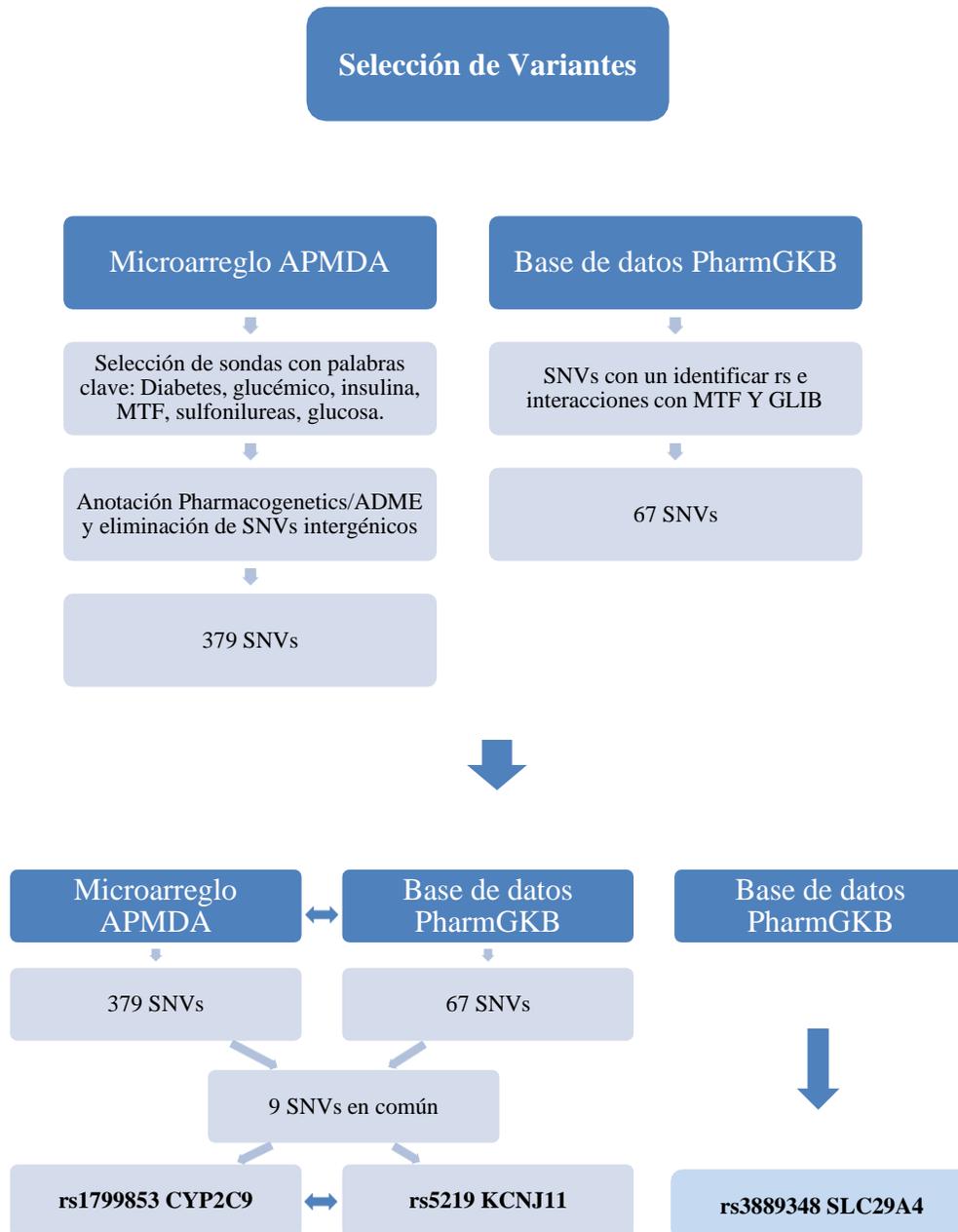
Activar Windo

APMDA: Axiom Precision Medicine Diversity Array (microarreglo), HRAEPY: Hospital Regional de Alta Especialidad de la Península de Yucatán, MAF: Frecuencia alélica menor, MTF: Metformina, SNVs: Variantes de nucleótido único, RAM: Reacción adversa a medicamentos.

*Control de calidad ejemplificado en Tabla 5.

++Ver metodología de selección de variantes en Figura 4.

Figura 4. Selección de Variantes de Nucleótido Único



ADME: Absorción, distribución, metabolismo y eliminación, APMDA: Microarreglo Axiom precision medicine diversity array, CYP2C9: Citocromo P450 2C9, GLIB: Glibenclamida, KCNJ11: Subfamilia J del canal rectificador interno de potasio miembro 11, MTF: Metformina, PharmGKB: Base de datos pharmacogenomics knowlegde implementations, SLC29A4: Familia de portadores de solutos 27 miembro 4.

V.4 MÉTODOS MICROARREGLO

Se utilizó el Software PLINK en su versión 1.9 para el análisis del microarreglo, siguiendo los pasos de control de calidad referidos en la Tabla 5. Se utilizaron los comandos `--geno` y `--mind` con un punto de corte de 0.02 para el retiro de individuos o SNPs con información faltante de los 95 individuos del microarreglo, durante este paso no se eliminó ninguna muestra. Posteriormente se realizó el análisis de discrepancia de sexo mediante el comando `--check-sex`, sin presentar discrepancias. Se procedió al análisis de frecuencia alélica menor (MAF) mediante el comando `--maf` con un punto de corte de 0.05. Después se realizó el análisis del equilibrio de Hardy Weinberg (HWE) con el comando `--hwe` con un punto de corte de $<1e-6$ y se excluyeron los SNVs que no cumplían con la ley de HWE. Se realizó análisis de heterocigosidad sin excluir individuos. Al realizar el análisis de relación/ identidad por descendencia (IBD) se encontraron 16 individuos relacionados, teniendo que eliminar el 50% de ellos, eliminando 8 muestras, lo cual dejó un total de 87 de los 95 individuos iniciales.

V.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos recabados se analizaron con el Programa Estadístico para Ciencias Sociales (SPSS) versión 25. Las variables cuantitativas continuas fueron sometidas a la prueba Kolmogorov-Smirnov para evaluar la distribución de estas, mientras que, para las variables cualitativas, se calcularon frecuencias. Los resultados descriptivos se presentaron en media, mediana, desviación estándar, cuartiles y frecuencias, de acuerdo con el tipo de variable. Se utilizó la prueba de chí cuadrada corregida por Yates para la comparación de frecuencias y las pruebas t-Student y U de Mann Whitney para comparar las variables paramétricas y las no paramétricas, respectivamente. Se consideró estadísticamente significativo una $p < 0.05$.

También se determinó el cumplimiento del equilibrio de Hardy-Weinberg y posteriormente, se calcularon las frecuencias genóticas y alélicas de las variantes genéticas seleccionadas. Se compararon las frecuencias alélicas observadas en la muestra de estudio con lo reportado en la base de datos Genome Aggregation Database (gnomAD) con la prueba de chí cuadrada.

Se realizaron dos modelos de regresión logística multinomial, el primero ajustado por las variables fijas de edad, sexo y tiempo de evolución en meses y el segundo, agregando la variable fija del uso de sulfonilureas (principalmente glibenclamida), para determinar las asociaciones entre las variantes

genéticas y el riesgo de presencia de RAM, DT2 descontrolada (glucemia central o capilar en ayuno mayor a 130mg/dl o HbA1c mayor a 7%), la presencia de una o más complicaciones y la presencia de RAM más el uso de metformina.

V.6 TOMA DE MUESTRA DE SANGRE

Se obtuvieron de 10-15 ml de sangre venosa periférica de antebrazo posterior a ayuno de 8-12 horas en tubos BD vacutainer con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) y sin aditivo (tapón rojo) para posterior determinación de glucosa, Hba1c, creatinina (Cr), urea, ácido úrico, colesterol total (CT), C-HDL, C-LDL, triglicéridos (TGC), albúmina, aspartato aminotransferasa (AST), alanino aminotransferasa (ALT) y extracción de ADN genómico.

V.7 EXTRACCIÓN DE ADN

Se extrajo ADN de leucocitos de sangre venosa periférica a través de la técnica de gradiente de sales Miller, la cual fue modificada por estandarización de cálculos para un volumen sanguíneo de 1 a 2 ml (ver anexo).

V.8 CUANTIFICACIÓN DE ADN

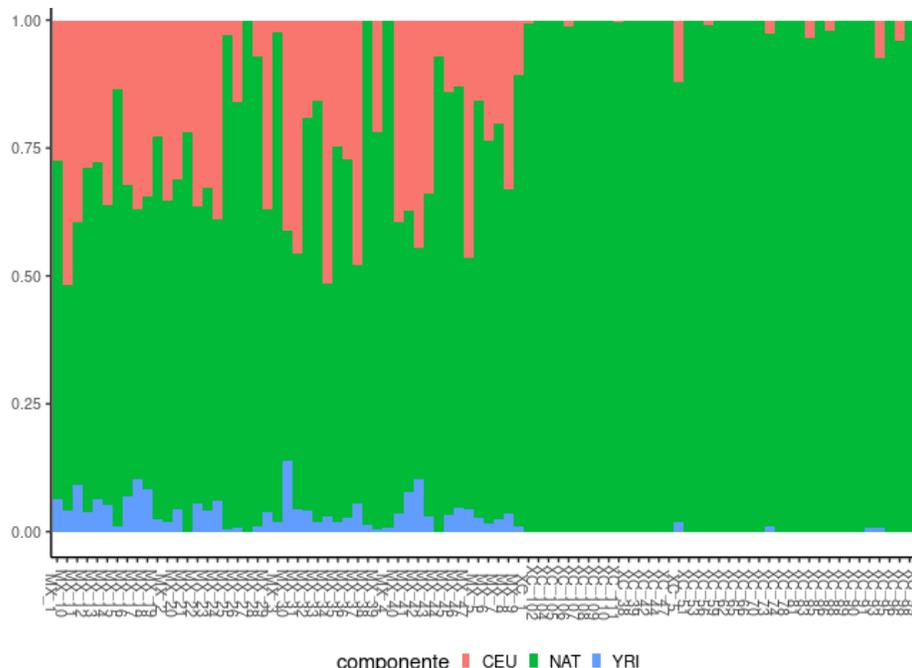
Se utilizaron 2 μ l de la muestra de ADN para determinar las concentraciones y pureza en el espectrofotómetro Multiskan GO, marca Thermo Scientific usando el software SkanIt 5.0 para Microplate Readers RE, versión 5.0.0.42. Se fijaron como criterios de pureza una relación de A280/260 entre 1.7 - 1.9 y una de A260/230 \geq 2.

VI. RESULTADOS

El tamaño total de la muestra en la población de descubrimiento del microarreglo fue de 95 personas, 47 pertenecen al grupo mestizo del Hospital Juárez de la ciudad de México y 48 pertenecen al grupo maya del municipio de Xocén del estado de Yucatán. Se seleccionaron intencionalmente estos individuos, quienes se encontraban en tratamiento con ADO y presentaron RAM. Durante el control de calidad de los datos del microarreglo, se encontró que 16 individuos de la comunidad de Xocén estaban relacionados con otro individuo del microarreglo. Se eliminaron 8 individuos para evitar sesgos en el análisis lo que resultó en una cohorte final de 47 individuos mestizos y 40 mayas.

Como un control de calidad adicional, se hizo un análisis de ancestría con el software ADMIXTURE (39), usando como referencias individuos de ancestría nativa (NAT), europea (CEU) y africana (YRI) (11,41). Se utilizó como parámetro para ADMIXTURE el número de clústers ($K=3$), por lo que para cada individuo de nuestra cohorte obtenemos los porcentajes presentes de cada una de las ancestrías utilizadas como referencia. En la Figura 5 se observa que los individuos de la Ciudad de México (MX) tienen una ancestría mixta dado que en la mayoría de las muestras hay un alto porcentaje tanto de ancestría europea (rojo) como de nativa americana (verde). Por otro lado, se observa que en las muestras de Xocén (XC) predomina por completo la ancestría nativa americana.

Figura 5. Ancestría de la población del microarreglo.



Las muestras que empiezan con MX en el lado izquierdo de la figura corresponden a los individuos del Hospital Juárez de la Ciudad de México y las muestras cuyo nombre empieza con XC corresponden a los individuos de la población de Xocén. CEU representa el componente de población europea, NAT el componente nativo americano y YRI el componente africano.

Los SNVs que se evaluaron se seleccionaron al realizar una revisión sistemática de la literatura y tras revisión de base de datos PharmGKB seleccionando los polimorfismos que tuvieran indicador “rs” y que en la entrada que corresponde a las interacciones medicamentosas estuvieran metformina y sulfonilureas. Lo anterior brindó un total de 67 polimorfismos (ver suplemento en anexos).

Por otro lado, se seleccionaron las variantes que en la propia documentación del microarreglo contenían los términos: 1) diabetes, 2) glucémico, 3) insulina, 4) metformina, 5) glucosa y 6) sulfonilurea. Se restringió la búsqueda a las variantes que tuvieran la anotación Pharmacogenetics/ADME y se eliminaron los polimorfismos intergénicos. Esto nos dio un total de 379 polimorfismos (ver suplementos en anexos).

Al conjuntar ambas listas referidas, nos dio un total de nueve polimorfismos comunes. De estos, escogimos 2, rs1799853 del CYP2C9 por su asociación con sulfonilureas y el rs5219 del KCNJ11 por su asociación referente a respuesta al tratamiento de metformina y sulfonilureas. A pesar de no estar presente en el microarreglo, para la cohorte de 350 pacientes agregamos el polimorfismo del rs3889348 del SLC29A4, asociado con RAM a metformina y toxicidad gastrointestinal, de acuerdo con lo encontrado en PharmGKB. En la Tabla 10 se presentan los nueve polimorfismos anotados con sus frecuencias del microarreglo. Las listas de cada una de las búsquedas mencionadas se encuentran como Tablas suplementarias en anexos (22,36,42).

Tabla 10. Frecuencia de polimorfismos candidatos en el microarreglo.

ID rs	Ref	Alt	Gen	Crom	Posición	Tipo	Hom Alt	Het	Hom Ref
rs1801282	C	G	PPARG	3	94981296	Exónico	2	34	51
rs1799853	C	T	CYP2C9	10	108412434	Exónico	0	6	80
rs1057910	A	C	CYP2C9	10	94942290	Exónico	0	6	81
rs7903146	C	T	TCF7L2	10	12351626	Intrónico	2	26	59
rs2237892	C	T	KCNQ1	11	2818521	Intrónico	5	48	34
rs5219	T	C	KCNJ11	11	19560030	Exónico	25	49	12
rs757110	C	A	ABCC8	11	17388025	Exónico	27	48	12
rs11212617	C	A	C11orf65	11	17396930	Intrónico	21	38	28
rs2289669	G	A	SLC47A1	17	112998590	Intrónico	37	32	18

ID rs= Identificador de polimorfismo, Ref= Alelo de referencia, Alt= Alelo alternativo, Crom = cromosoma, Hom = homocigoto, Het = heterocigoto.

Tabla 11. Descripción de la población (n=350)

Características	Sin RAM (n = 214)	Con RAM (n = 136)	p	
Sexo				
Hombres	25.2	33.1	0.21	
Mujeres	74.8	66.9	0.21	
Ocupación				
Hogar	61.7	50	0.87	
Empleado	18.2	25.7	0.17	
Campesino	5.1	8.1	0.38	
Estado Civil				
Casado	72.4	72.1	0.99	
Soltero	16.8	11.8	0.31	
Separado	5.2	8.1	0.38	
Viudo	5.6	8.0	0.36	
Escolaridad				
Primaria	46.3	47	0.99	
Secundaria	30.4	27.2	0.62	
Sin estudios	7.9	11	0.38	
Nefropatía	21	20.6	0.99	
Hepatopatía	6.5	6.6	0.99	
Tratamiento				
Metformina	92.9	86	0.1063	
Sulfonilureas	22.4	54.4	1x10-5	
Glibenclamida	21.9	52.9	1x10-5	
Glimepirida	0.4	0.7	1	
Glipizida	0	0.7	-	
Otros	8.8	13.9	0.2677	
Adherencia	43.9	16.2	1.6x10-5	
Complicaciones				
1	47.7	59.6	0.11	
>1	17.8	29.4	0.06	
Hipercolesterolemia	30.8	19.9	0.07	
Dislipidemia	42.5	42.6	0.99	
Obesidad	59.3	58.8	0.99	
HAS	33.2	39.7	0.30	
Síndrome Metabólico	64	63.2	0.99	
Sobrepeso	84.6	87.5	0.68	
Diabetes Controlada	62.6	43.4	4.6x10-3	
Alelo de riesgo/Gen				
CT/TT	CYP2C9	59.4	71.8	0.053
AG/AA	SLC29A4	48.3	44.3	0.57
CT/TT	KCNJ11	55.1	52.7	0.67

Los datos se presentan como porcentajes (%). *Prueba de Chi2 ajustada por Yates.

Otros= Inhibidores de dipeptidil peptidasa 4, inhibidores del cotransportador de sodio-glucosa tipo 2 o tiazolidinedionas.

Diabetes controlada= Hemoglobina glicada <7%.

Tabla 12. Características clínicas y bioquímicas de la población de estudio (n = 350).

Característica	Sin RAM	RAM	p
Edad (años)	50 (43, 60)	53 (45, 58)	0.12
Tiempo de evolución (meses)	12 (1, 48)	36 (12, 60)	1x10⁻⁴
Peso (kg)	71 (62, 80)	74 (63, 80)	0.23
IMC (%)	30.4 (27.3, 42.8)	30.70 (27.6, 34.6)	0.88
Talla (cm)	151 (146, 157)	153 (148, 159)	0.07
TAS (mmHg)	130 (119, 140)	130 (120, 145)	0.49
TAD (mmHg)	76 (70, 83)	76 (70, 84)	0.62
Glucemia capilar (mg/dl)	132 (116, 172)	154 (120, 205)	0.002
Glucosa plasmática (mg/dl)	121 (96, 171)	142 (105, 208)	0.002
Creatinina (mg/dl)	0.66 (0.57, 0.82)	0.71 (0.52, 0.86)	0.66
Ácido Úrico (mg/dl)	4.8 (3.6, 5.7)	4.7 (3.6, 5.6)	0.91
Urea (mg/dl)	28 (21, 36)	28 (23, 36)	0.29
Colesterol Total (mg/dl)	182 (152, 208)	169 (134, 194)	0.003
HDL (mg/dl)	47.2 ± 10.7	43.2 ± 11.15	0.001
LDL (mg/dl)	115 ± 34.6	102.5 ± 36.7	0.002
Triglicéridos (mg/dl)	170 (125, 141)	167 (126, 232)	0.90
Relación Tg/ HDL (%)	3.6 (2.4, 5.8)	3.8 (2.6, 6.8)	0.18
Proteínas Totales (g/l)	7 (6.6, 7.4)	6.9 (6.3, 7.4)	0.14
Albumina (g/dl)	4.3 (4, 4.5)	4.3 (3.8, 4.6)	0.82
TGO (U/l)	22 (17, 29)	22 (17, 32)	0.42
TGP (U/l)	15 (10, 24)	15 (10, 22)	0.66
HbA1c (%)	7.16 (6.6, 9.8)	7.8 (6.4, 9.6)	0.90

*Prueba Kolmogorov-smirnov para la normalidad de los datos. Los datos se presentan como media ± SD (distribución normal) / mediana (percentil 25, percentil 75).

IMC= Índice de masa corporal, TAS= Tensión Arterial Sistólica, TAD= Tensión arterial diastólica, HDL= Colesterol de alta densidad, LDL= Colesterol de baja densidad, TGO= Transaminasa amino oxalacética, TGP= Transaminasa glutámico pirúvica

VI.1 DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

Como se puede ver en las Tablas 11 y 12 de estadística descriptiva, se reclutaron 350 pacientes individuos para la cohorte de replicación, todos representantes del grupo maya. De estos pacientes, 136 (38.5%) presentaron RAM. También se encontró, como se observa en la Tabla 11, que las mujeres muestran una mayor frecuencia de RAM que los hombres, sin embargo, no se encontró una diferencia estadística significativa.

En el grupo con RAM se halló que el 74.9% contaba solamente con educación básica, mientras que el 11% restante no tenía estudios de ningún tipo. De la mano, el 50% del mismo grupo reportó realizar actividades del hogar como ocupación principal y sólo el 25.7% declaró ser empleado (Tabla 11).

Como se ha mencionado previamente en este trabajo, la presencia de comorbilidades afecta de gran manera la aparición de complicaciones asociadas con la DT2 y la adherencia al tratamiento. Las comorbilidades más frecuentes en ambos grupos fueron la obesidad, dislipidemia e hipertensión arterial. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre grupos.

En este estudio se encontró una mayor frecuencia (29.4%) de sujetos con más de una complicación en el grupo con RAM, en comparación con el grupo sin RAM. Esto se explica cuando observamos que sólo el 16.2% de los sujetos con RAM mantienen adherencia al tratamiento. Por otro lado, se puede observar, como se ha propuesto, que los pacientes sin RAM tienen mejor control glucémico comparado con los pacientes con RAM, 62.6% y 43.4% respectivamente, con diferencia estadísticamente significativa.

VI.2 COMPARACIÓN GRUPOS DE ESTUDIO

En la Tabla 12 podemos observar que la mediana de edad para los sujetos en ambos grupos fue de 50 y 53 años. De igual forma, se observa una gran diferencia en el tiempo de evolución de la DT2, con el mayor tiempo de evolución en el grupo con RAM.

El IMC en ambos grupos se encuentra elevado, como se confirma en la Tabla 12 con la alta frecuencia de obesidad. Además, la presión arterial sistólica y diastólica se mantiene en ambos grupos en los mismos valores.

Aunque las frecuencias de alteraciones metabólicas son similares en ambos grupos, en el grupo con RAM se observan mayores valores de glucemia plasmática y de hemoglobina glicosilada.

VI.3 GENOTIPOS

La Tabla 11 muestra la frecuencia genotípica de los genes estudiados: CYP2C9*2, SLC29A4 y KCNJ11. En cuanto al gen CYP2C9 el 71.8% de los individuos que presentaron el alelo de riesgo presentaron RAM, versus el 59.4% sin RAM. Los individuos con variantes de riesgo para el gen SLC29A4 y KCNJ11 respectivamente, presentaron prácticamente la misma frecuencia en los grupos con RAM y sin RAM. No hubo diferencia estadísticamente significativa.

En la Tabla 13 se observa la comparación de las frecuencias alélicas con lo reportado en la base de datos gnomAD (38). Se encontraron diferencias significativas entre la población maya y las poblaciones americana, europea y africana. La población estudiada presenta una mayor frecuencia del alelo de riesgo (T) de la variante rs1799852 del gen CYP2C9*2 (35%), con respecto a las diferentes poblaciones americana, europea y africana, quienes la presentan en 8%, 11% y 2%, respectivamente. Se cumplió con el equilibrio de Hardy Weinberg $p > 0.05$ (CYP2C9*2 chi cuadrada 2.71 y $p = 0.99$, SLC29A4 chi cuadrada 2.034 y $p = 0.15$ y KCNJ11 chi cuadrada 0.52 y $p = 0.47$).

Tabla 13. Frecuencias alélicas de los genes estudiados en la población maya.

SNP/Gen	Mayas	Americanos	Europeos	Africanos	Asiáticos
rs1799853/CYP2C9*2					
C	0.65	0.92	0.89	0.98	100
T	0.35	0.08*	0.11*	0.02*	0
rs3889348/SLC29A4					
A	0.28	0.27	0.37	0.23	0.24
G	0.72	0.73	0.63	0.77	0.76
rs5219/KCNJ11					
C	0.68	0.60	0.63	0.93	0.63
T	0.32	0.40	0.37	0.07*	0.37

Se realizó la comparación de frecuencias alélicas encontradas en la población maya con lo reportado en el gnomAD para otras poblaciones, la diferencia es del MAF a través de una prueba de chi². *P>0.05

VI.4 ASOCIACIÓN DE VARIANTES GENÉTICAS

Se realizó una regresión logística multinomial con las variables fijas de edad, sexo y tiempo de evolución de DT2 en meses, donde se buscó la asociación entre las variantes genéticas seleccionadas y la presencia de RAM, de DT2 descontrolada, de complicaciones derivadas de la DT2 y, por último, de la conjunción de presencia de RAM y el uso de metformina.

Se encontró una asociación entre la variante genética rs1799853 del gen CYP2C9*2 y la presencia de RAM, con un OR (IC 95%) 1.76 (1.07 – 2.58) $p=0.025$ controlada por las variables fijas de edad, sexo y tiempo de evolución. De la mano, se encontró una asociación entre la misma variante y la presencia de RAM y el uso de metformina con un OR (IC 95%) 1.90 (1.13 – 3.19) $p=0.0014$ (Tabla 14) agregando como variable fija el tratamiento con sulfonilureas.

Tabla 14 Asociación de las variantes genéticas con reacciones adversas a medicamentos.

SNP/Gen	*RAM	*DT2 descontrolada	*Complicación	*>1 Complicación	**RAM+MTF
rs1799853 CYP2C9*2	1.76 (1.07-2.58) P= 0.025*	1.10 (0.68-1.80) P= 0.672	1.04 (0.64-1.57) P= 0.987	1.034 (0.59-1.79) P= 0.906	1.90 (1.13-3.19) P= 0.0014
rs3889348 SLC29A4	0.90 (0.56-1.43) P= 0.661	0.85 (0.53, 1.36) P= 0.513	0.97 (0.62-1.49) P= 0.89	1.0 (0.58-1.70) P= 0.99	0.80 (0.50-1.30) P= 0.384
rs5219 KCNJ11	1.03 (0.64-1.65) P= 0.89	0.83 (0.52, 1.33) P= 0.458	0.71 (0.45-1.10) P= 0.127	0.97 (0.57-1.66) P= 0.928	1.18 (0.73-1.92) P= 0.483

* OR-(IC95%), regresión logística multinomial, variables fijas: edad, sexo y tiempo de evolución en meses, $P<0.05$.

** OR-(IC95%), regresión logística multinomial, variables fijas: edad, sexo, tiempo de evolución en meses y sulfonilurea $P<0.05$. RAM= Reacción adversa a medicamentos, DT2= Diabetes tipo 2 MTF= Metformina, RAM+MTF= Reacción adversa a medicamentos más uso de metformina.

VII. DISCUSIÓN

Los factores como sexo, ocupación, estado civil y escolaridad no influyeron de manera estadísticamente significativa a la aparición con mayor frecuencia de reacciones adversas ni a la adherencia al tratamiento. Esto concuerda con lo reportado en literatura médica americana y europea al mencionar que la diabetes es una enfermedad que afecta de igual forma distintas clases sociales (1). Sin embargo, contrapone a los hallazgos encontrados por Gálvez et al., y Cordero Sánchez et al., donde factores sociodemográficos como edad u ocupación sí se asociaron a adherencia al tratamiento en población latina y a la aparición temprana de complicaciones. Sin embargo, una limitación de nuestro estudio es que apenas el 15% de la población cuenta con nivel de estudio medio superior, lo cual pudiera sesgar la comparación por el tamaño de la muestra (43,44).

La presencia de comorbilidades como hepatopatía y nefropatía fue igual en ambos grupos, con y sin presencia de factores adversos. Esto llama la atención teniendo en cuenta que el mecanismo de acción, metabolismo y excreción de los medicamentos, ya que estos suceden a nivel hepático y renal. Lo anterior hace pensar que la presencia de estas comorbilidades no está asociada a RAM. Sin embargo, no hay asociación estadísticamente significativa y cualquiera de estas 2 comorbilidades en un estadio que pudiera ser clínicamente significativo no estuvo presente en nuestra población debido a los criterios de exclusión. Es de resaltar que la presencia de RAM sí influye en la adherencia al tratamiento. Esto puede observarse en la Tabla 11, donde observamos que los individuos con RAM tienen casi tres veces menos adherencia respecto a los que no presentaron RAM, (16.2% v s 43.9%). Esto va de acuerdo con lo propuesto a lo largo del estudio, al mismo tiempo que repite resultados propuestos previamente por Acosta Tun en población maya (4).

Es importante mencionar que los pacientes que no reportaron RAM tienen niveles inferiores de glucosa plasmática y glucemia capilar en ayuno, así como mejor control de diabetes, como se puede ver en las Tablas 11 y 12. Lo anterior también podría atribuirse indirectamente a la posible mejor adherencia al tratamiento que se encuentra como parte de los resultados de este estudio y se comentó previamente. De igual forma, coincide con hallazgos de un metaanálisis realizado por Mora Romo en 2022 donde se incluyeron un total de 15 artículos de población mexicana (45). Por otro lado, Guzmán-Gómez et al en 2018 publicaron un artículo en la ALAD donde hicieron un estudio epidemiológico con 221 pacientes colombianos, donde no se encontró asociación entre adherencia terapéutica y control glucémico (46).

Otro resultado del estudio que vale la pena mencionar es la variable de tiempo de evolución. De acuerdo

con los resultados, a mayor tiempo de evolución, mayor incidencia de reacciones adversas. No encontramos una causa única o específica para fundamentar este hallazgo, sin embargo, una posible explicación sería el número de medicamentos que se utiliza para el control de diabetes y comorbilidades a lo largo del tiempo de tratamiento. Normalmente, se inicia con un fármaco y se va aumentando la dosis y se agregan nuevos fármacos en caso de que no se logren las metas de control glucémico. En este sentido, la polifarmacia pudiera ser una posible explicación a estos hallazgos y coincida con diferentes bibliografías como un estudio realizado por Ariza-Bolaño en 2016 (47).

Como parte de los resultados del estudio, las comorbilidades como sobrepeso, obesidad, dislipidemia y síndrome metabólico están presentes de igual forma en personas con RAM y sin RAM. Esto puede explicarse porque éstos son más bien factores de riesgo para la presencia de diabetes o propiamente comorbilidades. Independientemente, llama la atención los menores niveles de colesterol total y LDL en la población que no presentó RAM, los cuáles sí son estadísticamente significativos.

En cuanto a las frecuencias alélicas, se realizó comparación de la población Maya con lo reportado en gnomAD para las poblaciones representantes de los grupos americanos, europeos, africanos y asiáticos para las diferentes variantes estudiadas ya mencionadas. Se encontró que la población maya tiene mayor frecuencia del alelo de riesgo timina en el SNV rs1799853 (sustitución de C/T) del CYP2C*2 con una frecuencia de hasta el 35% de nuestra población estudiada. Esto contrasta con la frecuencia en americanos que se ha reportado del 8%, europeos 11%, africanos 2% y asiáticos 0% (15) y al mismo tiempo contrasta con los resultados obtenidos en nuestro propio microarreglo, donde no se encontró ésta frecuencia en la cohorte de 45 individuos representantes de la población maya de Yucatán. De igual forma, contrasta con hallazgos obtenidos en dos estudios realizados en población maya y mestiza de México, por Acosta Tun y Clautle Rodríguez, ambos en 2019, donde se encontró una frecuencia de este polimorfismo únicamente en el 6.5% de la población maya y mestiza respectivamente (4,15).

La mayor frecuencia de esta variante de riesgo en nuestra cohorte de población maya pudiera explicar la mayor frecuencia de RAM y disminución de adherencia a tratamiento. Por otro lado, podría conllevar asociación con aparición temprana de complicaciones macro y microvasculares, sin embargo, se requieren más estudios para poder determinar esta suposición.

Además de lo observado en frecuencias alélicas de riesgo en la población maya para el gen de CYP2C9, en la Tabla 13 se observa el hallazgo de la mayor frecuencia del alelo de riesgo citosina en la variante rs5219 del gen KCNJ11 en la población maya (32%), comparado con la población africana (7%). A pesar de lo anterior, no se encontró de manera significativa que la presencia de la variante rs5219 del gen

KCNJ11 se asocia a respuesta al tratamiento con sulfonilureas en nuestro estudio. Estos resultados concuerdan con lo propuesto por Sánchez-Ibarra en un estudio realizado con población mexicana en 2018 (14). De igual forma, Rodríguez-Rivera et al en el 2017 y 2019 realizaron dos estudios con 247 y 80 pacientes respectivamente, donde tampoco se encontró asociación con la presencia de este polimorfismo y respuesta a tratamiento (15,48). Sumado a lo anterior, Ragia et al en el 2012 publicó un estudio de casos y controles de 176 pacientes diabéticos en total, donde se concluyó de misma forma, que no había asociación entre el polimorfismo rs5329 del KCNJ11 con la presencia de RAM, específicamente hipoglucemia (49).

Finalmente, como se observa en la Tabla 10, posterior a la identificación de nueve variantes candidatas en el microarreglo, se eligieron únicamente 2 por cuestiones económicas y temporalidad del estudio. Sin embargo, las otras 7 variantes podrían servir para estudiarse en futuros estudios. Es de señalar que en las variantes rs757110 y rs2289669 de los genes ABCC8 y SLC47A1, se encontró una alta frecuencia del alelo alternativo en nuestra población del microarreglo, comparado con el alelo de referencia (gnomAD). Por lo anterior, estas variantes podrían ser de interés para futuros trabajos.

VIII. CONCLUSIÓN

La variante rs1799853 del gen CYP2C9*2 está asociada a mayor frecuencia de reacciones adversas a medicamentos (sulfonilureas, mayormente glibenclamida y metformina) y menor adherencia terapéutica en la población maya de México.

No se demostró mayor frecuencia de reacciones adversas a antidiabéticos orales en nuestra población con la presencia de alelos de riesgo para las variantes rs3889348 del gen SLC29A4 o rs5219 del gen KCNJ11. Estos estudios pudieran servir como bases para medicina personalizada en la población maya de nuestro país.

IX. REFERENCIAS

1. Jameson, Fauci, Longo, Iverson. Harrison. Principios de Medicina Interna. 21a ed. México: Mcgrow-Hill; 2018. 7823–7830 p.
2. Shamah-Levy T, Romero-Martínez M, Barrientos-Gutiérrez T, Cuevas-Nasu L, Bautista-Arredondo S, Colchero MA, GaonaPineda EB, Lazcano-Ponce E, Martínez-Barnetche J, Alpuche-Arana C R-DJ. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2020 sobre Covid-19, Resultados nacionales. 2021;181–3.
3. Makhzoom O, Kabalan Y, Al-Quobaili F. Association of KCNJ11 rs5219 gene polymorphism with type 2 diabetes mellitus in a population of Syria: A case-control study. BMC Med Genet. 2019;20(1):1–6.
4. Acosta-Tun A. Frecuencia de los polimorfismos en el gen CYP2C9 en pacientes Maya-mestizos con Diabetes Tipo 2 y su asociación con el desarrollo de de hipoglucemia. 2019;
5. Granados-silvestre MDLÁ, Menjívar-iraheta M, Molina-guarneros J. Frecuencia de los polimorfismos E23K (KCNJ11) y R1273R (ABCC8) en pacientes con diabetes mellitus tipo 2: asociación del control glucémico en pacientes tratados con hipoglucemiantes orales. 2019;86(1):17–25.
6. Moreno-estrada A, Gignoux CR, Fernández-lópez JC, Zakharia F, Sikora M, Contreras A V, et al. NIH Public Access. 2014;344(6189):1280–5.
7. ElSayed NA, Aleppo G, Bannuru RR, Beverly EA, Bruemmer D, Collins BS, et al. Standards of Care in Diabetes—2024 [Internet]. Vol. 47, Diabetes Care. 2024. p. S1–4. Disponible en: https://diabetesjournals.org/care/article/47/Supplement_1/S1/153952/Introduction-and-Methodology-Standards-of-Care-in
8. Ahlqvist E, Storm P, Käräjämäki A, Martinell M, Dorkhan M, Carlsson A, et al. Novel subgroups of adult-onset diabetes and their association with outcomes: a data-driven cluster analysis of six variables. Lancet Diabetes Endocrinol. 2018;6(5):361–9.
9. González A, Valdéz E, Cruz A, Rosales V, González H, Agüero L, et al. Diagnóstico, metas de control ambulatorio y referencia oportuna de la Diabetes Mellitus tipo 2 en el primer nivel de atención. Guía Práctica Clínica. 2008;31.
10. INEGI, INSP S de S. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018. Ensanut [Internet]. 2018;1:47. Disponible en: <https://www.medellincomovamos.org/el-ministerio-de-salud-presento-los-resultados-de-la-encuesta-nacional-de-salud-y-nutricion-2015/>
11. Silva-Zolezzi I, Hidalgo-Miranda A, Estrada-Gil J, Fernandez-Lopez JC, Uribe-Figueroa L, Contreras A, et al. Analysis of genomic diversity in Mexican Mestizo populations to develop genomic medicine in Mexico. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009;106(21):8611–6.
12. Bracamonte P, Quijano L. Marginalidad indígena: una perspectiva histórica de Yucatán *. :83–98.

13. Tipo DM, Basada M, Edici E. Alad. *Encycl Cancer*. 2011;118–118.
14. Sanchez-Ibarra HE, Reyes-Cortes LM, Jiang XL, Luna-Aguirre CM, Aguirre-Trevino D, Morales-Alvarado IA, et al. Genotypic and phenotypic factors influencing drug response in Mexican patients with type 2 Diabetes Mellitus. *Front Pharmacol*. 2018;9(APR):1–11.
15. Rodríguez-Rivera NS, Cuautle-Rodríguez P, Castillo-Nájera F, Molina-Guarneros JA. Identification of genetic variants in pharmacogenetic genes associated with type 2 diabetes in a mexican-mestizo population. *Biomed Reports*. 2017;7(1):21–8.
16. Sundelin EIO, Gormsen LC, Jensen JB, Vendelbo MH, Jakobsen S, Munk OL, et al. Genetic Polymorphisms in Organic Cation Transporter 1 Attenuates Hepatic Metformin Exposure in Humans. *Clin Pharmacol Ther*. 2017;102(5):841–8.
17. Dujic T, Zhou K, Donnelly LA, Tavendale R, Palmer CNA, Pearson ER. Association of organic cation transporter 1 with intolerance to metformin in type 2 diabetes: A GoDARTS study. *Diabetes*. 2015;64(5):1786–93.
18. Damanhoury ZA, Alkreathy HM, Alharbi FA, Abualhamail H, Ahmad MS. A Review of the Impact of Pharmacogenetics and Metabolomics on the Efficacy of Metformin in Type 2 Diabetes. *Int J Med Sci* [Internet]. 2023;20(1):142–50. Disponible en: <https://www.medsci.org/v20p0142.htm>
19. Vohra M, Sharma AR, Mallya S, Prabhu NB, Jayaram P, Nagri SK, et al. Implications of genetic variations, differential gene expression, and allele-specific expression on metformin response in drug-naïve type 2 diabetes. *J Endocrinol Invest* [Internet]. 2023;46(6):1205–18. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s40618-022-01989-y>
20. Reséndiz-Abarca CA, Flores-Alfaro E, Suárez-Sánchez F, Cruz M, Valladares-Salgado A, del Carmen Alarcón-Romero L, et al. Altered Glycemic Control Associated With Polymorphisms in the SLC22A1 (OCT1) Gene in a Mexican Population With Type 2 Diabetes Mellitus Treated With Metformin: A Cohort Study. *J Clin Pharmacol*. 2019;59(10):1384–90.
21. Raj GM, Mathaiyan J, Wyawahare M, Priyadarshini R. Lack of effect of the SLC47A1 and SLC47A2 gene polymorphisms on the glycemic response to metformin in type 2 diabetes mellitus patients. *Drug Metab Pers Ther*. 2018;33(4):175–85.
22. Dawed AY, Zhou K, van Leeuwen N, Mahajan A, Robertson N, Koivula R, et al. Variation in the plasma membrane monoamine transporter (PMAT) (encoded by SLC29A4) and organic cation transporter 1 (OCT1) (encoded by SLC22A1) and gastrointestinal intolerance to metformin in type 2 diabetes: An IMI direct study. *Diabetes Care*. 2019;42(6):1027–33.
23. Meybodi HRA, Hasanzad M, Larijani B. Path to personalized medicine for type 2 diabetes mellitus: Reality and hope. *Acta Med Iran*. 2017;55(3):166–74.
24. Verma S, Rizvi S, Abbas M, Raza T, Mahdi F. Personalized medicine- future of diagnosis and management

- of T2DM. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev* [Internet]. 2019;13(4):2425–30. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2019.06.017>
25. Montané E, Santesmases J. Reacciones adversas a medicamentos. *Med Clin (Barc)*. 2020;154(5):178–84.
 26. Arcos-díaz A, Soberanis-monseral LA, Lara-riegos JC, Arana- VE, Patricia C, Alvarado M, et al. *Revista Biomédica*. 2022;
 27. Zhou Y, Ye W, Wang Y, Jiang Z, Meng X, Xiao Q, et al. Genetic variants of OCT1 influence glycemic response to metformin in Han Chinese patients with type-2 diabetes mellitus in Shanghai. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8(8):9533–42.
 28. Christensen MMH, Brasch-Andersen C, Green H, Nielsen F, Damkier P, Beck-Nielsen H, et al. The pharmacogenetics of metformin and its impact on plasma metformin steady-state levels and glycosylated hemoglobin A1c. *Pharmacogenet Genomics*. 2011;21(12):837–50.
 29. Lichou F, Trynka G. Functional studies of GWAS variants are gaining momentum. *Nat Commun* [Internet]. 2020;11(1):2–5. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-020-20188-y>
 30. Bumgarner R. Overview of dna microarrays: Types, applications, and their future. *Curr Protoc Mol Biol*. 2013;6137(SUPPL.101):1–17.
 31. Marees AT, de Kluiver H, Stringer S, Vorspan F, Curis E, Marie-Claire C, et al. A tutorial on conducting genome-wide association studies: Quality control and statistical analysis. *Int J Methods Psychiatr Res*. 2018;27(2):1–10.
 32. Mannino GC, Andreozzi F, Sesti G. Pharmacogenetics of type 2 diabetes mellitus, the route toward tailored medicine. *Diabetes Metab Res Rev*. 2019;35(3):1–20.
 33. Alvarado ÁT, Muñoz AM, Loja B, Miyasato JM, García A, Cerro RA, et al. CYP2C9 * 3 en muestras de población mestiza peruana. 2019;601–10.
 34. Pearson ER, Flechtner I, Njølstad PR, Malecki MT, Flanagan SE, Larkin B, et al. Switching from Insulin to Oral Sulfonylureas in Patients with Diabetes Due to Kir6.2 Mutations. *N Engl J Med*. 2006;355(5):467–77.
 35. Yun JH, Yoo MG, Park JY, Lee HJ, Park SI. Association between KCNJ11 rs5219 variant and alcohol consumption on the effect of insulin secretion in a community-based Korean cohort: a 12-year follow-up study. *Sci Rep* [Internet]. 2021;11(1):1–7. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-84179-9>
 36. Baye AM, Fanta TG, Siddiqui MK, Dawed AY. The Genetics of Adverse Drug Outcomes in Type 2 Diabetes: A Systematic Review. *Front Genet*. 2021;12(June).
 37. Sesti G, Laratta E, Cardellini M, Andreozzi F, Del Guerra S, Irace C, et al. The E23K variant of KCNJ11 encoding the pancreatic β -cell adenosine 5'-triphosphate-sensitive potassium channel subunit Kir6.2 is associated with an increased risk of secondary failure to sulfonylurea in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(6):2334–9.
 38. Karczewski KJ, Francioli LC, Tiao G, Cummings BB, Alföldi J, Wang Q, et al. The mutational constraint

- spectrum quantified from variation in 141,456 humans. *Nature*. 2020;581(7809):434–43.
39. Alexander DH, Novembre J, Lange K. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Res*. 2009;19(9):1655–64.
 40. Flannick J, Mercader JM, Fuchsberger C, Udler MS, Mahajan A, Wessel J, et al. Exome sequencing of 20,791 cases of type 2 diabetes and 24,440 controls. *Nature*. 2019;570(7759):71–6.
 41. Auton A, Abecasis GR, Altshuler DM, Durbin RM, Bentley DR, Chakravarti A, et al. A global reference for human genetic variation. *Nature*. 2015;526(7571):68–74.
 42. Liu Z, Jia X, Wu P, Wu B, Pan Y, Zhong S, et al. PMAT variant rs3889348 is associated with metformin-induced gastrointestinal among Chinese Type 2 diabetes patients. *Pharmacogenomics*. 2023;24(10):551–60.
 43. Galvez-Gavilan J. Factores Sociodemográficos asociados a adherencia terapeutica en diabetes tipo 2. 2021;23(February):1–2. Disponible en: <http://repositorio.upsjb.edu.pe/handle/upsjb/1504>
 44. Cordero-Sánchez C, Alba-Alba C, Muñoz-Covarrubias M, Guzmán-Ortiz E, Ramírez-Giron N. Características sociodemográficas asociadas a la adherencia del tratamiento en adultos con Diabetes Tipo 2. *Horiz Sanit [Internet]*. 2022;21(2):276–81. Disponible en: <https://revistas.ujat.mx/index.php/horizonte/article/view/3885/3734>
 45. Mora Romo JF. Adherencia al tratamiento en personas con diabetes mellitus tipo 2 en México. *Psicumex*. 2022;12:1–20.
 46. Guzmán-Gómez GÉ, Arce A, Saavedra H, Rojas M, Solarte JS, Mina M, et al. Adherencia al tratamiento farmacológico y control glucémico en pacientes adultos con diabetes mellitus tipo 2. *Alad*. 2018;8(1).
 47. Ariza Bolaño DV. Factores asociados a reacciones adversas a medicamentos en adultos mayores de 60 años de edad, hipertensos y diabéticos con polimedicación, adscritos a un plan de beneficio especial en salud en el departamento del atlántico, durante el año 2016. 2017;1–122. Disponible en: <https://manglar.uninorte.edu.co/bitstream/handle/10584/7883/131058.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 48. Cuautle-Rodríguez P, Rodríguez-Rivera N, DE ANDRÉS F, Castillo-Nájera F, Llerena A, Molina-Guarneros JA. Frequency of CYP2C9 (*2, *3 and IVS8-109A>T) allelic variants, and their clinical implications, among mexican patients with diabetes mellitus type 2 undergoing treatment with glibenclamide and metformin. *Biomed Reports*. 2019;10(5):283–95.
 49. Ragia G, Tavridou A, Petridis I, Manolopoulos VG. Association of KCNJ11 E23K gene polymorphism with hypoglycemia in sulfonylurea-treated Type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract [Internet]*. 2012;98(1):119–24. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2012.04.017>

ANEXOS

CARTA CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del Estudio:	Identificación de Variantes Genéticas Asociadas a Reacciones Adversas a Hipoglucemiantes Orales en Pacientes con Diabetes Tipo 2 de la Población Maya y Mestiza de México.
Nombre del Investigador Responsable	Dra. Marta Menjívar Irahota
Dirección:	Laboratorio de Diabetes, Facultad de Química, UNAM, CU. Y Unidad de Medicina Personalizada, Hospital Regional de Alta Especialidad de la Península de Yucatán, Calle 7, No. 433 por 20 y 22, Fracc. Altabrisa Mérida, Yucatán CP. 97130
Teléfono de contacto	56-22-38-22-UNAM y 9 942 7600 Ext 54404 HRAEPY

Introducción:

El documento que se expone a continuación cumple con lo dispuesto por el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación en Salud. Artículos 10., 20., fracción VII, 30. fracción IX, 40., 70,13 apartado "A" fracciones I, IX, X, apartado "B" fracciones I y VI, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103 y demás relativos a la Ley General de Salud,

Queremos invitarlo a formar parte del proyecto "Identificación de Variantes Genéticas Asociadas a la Respuesta a Hipoglucemiantes Orales en Pacientes con Diabetes Tipo 2 de la Población Maya y Mestiza de México", que será desarrollado por investigadores de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México y el Hospital Regional de Alta Especialidad de la Península de Yucatán, preocupadas por el alarmante alza de personas que son afectadas de diabetes en nuestro país. Esta enfermedad se caracteriza por aumentar el azúcar en sangre y que con el tiempo daña los riñones, los ojos y el corazón entre otras cosas. La metformina y glibenclámda, son los medicamentos principales para el control de la diabetes tipo 2. Estos tratamientos son caracterizados por una variabilidad interindividual, eficacia clínica y presencia de reacciones adversas (RAM). El desarrollo de estudios farmacogenéticos en poblaciones mexicanas representa una contribución al conocimiento sobre la variabilidad genética en la respuesta a los fármacos para mejoramiento del tratamiento y control de la enfermedad.

Este estudio tiene como objetivo principal identificar variantes genéticas asociadas a la respuesta a hipoglucemiantes orales en pacientes con diabetes tipo 2 de la población maya y mestiza de México, con lo que se espera lograr mayor eficacia de los fármacos, disminución de reacciones adversas, mejorar adherencia terapéutica y con lo anterior evitar las complicaciones de la enfermedad a largo plazo así como mejorar la calidad de vida de las personas.

Antes de que usted acepte participar en este estudio, se le presenta este documento de nombre "Consentimiento Informado", que tiene como objetivo comunicarle de los posibles riesgos y beneficios para que usted pueda tomar una decisión informada y voluntaria.

El consentimiento informado le proporciona información sobre el estudio al que se le está invitando a participar, por ello es de suma importancia que lo lea cuidadosamente antes de tomar alguna decisión y si usted lo desea, puede comentarlo con quien desee (un amigo, un familiar de confianza, etc.) Si usted tiene preguntas puede hacerlas directamente a su médico tratante o al personal del estudio quienes le ayudarán a resolver cualquier duda.

Una vez que tenga conocimiento sobre el estudio y los procedimientos que se llevarán a cabo, se le pedirá que firme esta forma para poder participar en el estudio. Su decisión de que es voluntaria, lo que significa que usted es totalmente libre de ingresar a o no en el estudio. Podrá retirar su consentimiento en cualquier momento y sin tener que explicar las razones sin que esto signifique una disminución en la calidad de la atención médica que se le brinde, ni afectará la relación con su médico. Si decide no participar, usted puede platicar con su médico sobre los cuidados médicos regulares. Su médico puede retirarlo o recomendarle no participar en caso de que así lo considere.

Este estudio representará un recurso de investigación Ut para conocer sobre la variabilidad genética en la respuesta a los fármacos para mejoramiento del tratamiento para la diabetes en mexicana que implicará:

Toma de una muestra de sangre, mediante punción venosa del brazo de un volumen de aproximadamente 20 ml para que con su sangre se hagan 3 cosas:

- (1) La extracción de material genético (ADN) para el estudio de los genes especificados en el protocolo "Búsqueda de polimorfismos y mutaciones en genes relacionados con la aparición de diabetes, en población indígena mexicana".
- (2) Es probable que en un futuro se descubran nuevos genes relacionados con la "Diabetes", por ello se le solicita que autorice al investigador a 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 y no se realizarán otros estudios con ella.
- (3) Evaluación de azúcar y grasas en sangre.
 - Usted también puede aceptar que en dicha muestra de sangre donde se extraerá el material de herencia (ADN) se realicen otros estudios para estudiar otras enfermedades diferentes.
 - Si usted acepta sólo los estudios de herencia descritos en el punto 1, su muestra se destruirá después de completar la prueba. Si usted acepta que se guarde esa muestra para futuros estudios como se describe en el punto 2, el investigador garantiza que guardará y utilizará la muestra hasta que ya no quede más. Una vez separada la muestra no podrá ser destruida, pero no se podrá relacionar con usted.
 - Usted debe otorgar su consentimiento informado por escrito, indicando qué parte del estudio genético acepta y firmando este documento, antes de la obtención del material genético.
- (4) Evaluación de los niveles de medicamento en sangre. Después de los análisis de DNA si usted desea participar en la prueba funcional se le realizará un estudio en donde se tomarán 17 muestras de sangre en 24 horas.

En caso de ser voluntario:

1. Cada voluntario será recibido en el centro de salud o en la unidad metabólica del Hospital Regional de Alta Especialidad de la Península de Yucatán por 12h.
2. Se le realizará una punción venosa en el brazo para colocar un catéter que se dejará durante las 12 horas de estancia en el hospital.
3. Se administrará una dosis única de glibenclámda o metformina.
4. Se tomarán 5ml de muestra sanguínea en diferentes intervalos de tiempo durante 12h y una última muestra a las 24h.

Procedimiento

- Si acepta a participar en el estudio, tendrá lugar lo siguiente:
- Se le examinará físicamente, tomarán medidas de peso, estatura, cintura y cadera para determinar el Índice de Masa Corporal (IMC) y presión arterial

- Se someterá a un análisis de laboratorio en el cual le harán una extracción de sangre.

Le pedirán que mantenga un ayuno de al menos 8 horas antes de la toma de muestra.

- Le solicitarán que responda a un cuestionario para evaluar sus hábitos alimenticios, nivel de estrés y actividad física. En el mismo cuestionario le pedirán algunos datos personales y antecedentes de enfermedades.

Riesgos

Los riesgos de la extracción de sangre incluyen molestias temporales ocasionadas por la punción con la aguja y/o hematomas.

Beneficios

Se le entregarán al participante los resultados bioquímicos (glucosa, colesterol, triglicéridos, ácido úrico, creatinina) y será de su conocimiento si es diabético, propenso a la diabetes o una persona sana.

Confidencialidad

Usted tiene derecho de controlar el uso de sus datos personales de acuerdo con la Ley Federal de Protección de datos Personales en Posición de Particulares, así mismo de solicitar el acceso, corrección y oposición de su información personal. La información será procesada de acuerdo con las regulaciones de protección de datos vigentes. Sin embargo, cierta información no podrá estar disponible hasta que el estudio sea completado, esto es con la finalidad de proteger la integridad del estudio.

No se revelará la identidad de las personas que participen en el estudio en ningún informe o publicación que se genere a partir de este trabajo

¿A quién puedo llamar si tengo preguntas sobre este proyecto?

Si usted tiene preguntas acerca de la recolección de muestras, sus derechos en este proyecto o sobre el almacenamiento de estas, puede llamar a la Unidad de Medicina Personalizada en el HRAEPY al teléfono 999-942-76-00 ext. 54404 con la Dra. Marta Menjívar Iraheta o al Parque Científico y Tecnológico de Yucatán-Facultad de Química-UNAM al teléfono 999-688-53-04 ext. 7621.

Consentimiento

1. Yo _____ declaro bajo mi responsabilidad que he leído la hoja de información sobre el estudio y acepto participar en este estudio genético.
2. 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. Todas las preguntas fueron respondidas a mi entera satisfacción.
3. Sé que se mantendrá en secreto mi identidad y que se identificará mi sangre y mis muestras de material genético (ADN) con un número codificado.
4. Soy libre de retirarme del estudio genético en cualquier momento por cualquier motivo, sin tener que dar explicación y sin que repercuta negativamente sobre mi tratamiento médico futuro. 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.
5. Me han informado que la evaluación física, de laboratorio clínico y el estudio genético no tiene ningún costo, y no habrá ningún gasto adicional para mí.
6. En que toda la información genética de la muestra sea depositada en bases de datos científicas de libre acceso (públicas) en Internet
7. En que una vez que la muestra haya sido estudiada, no podré retirar la información de mi muestra de las bases de datos científicas.

He leído o escuchado toda la información, he hecho todas las preguntas que he tenido, y todas mis preguntas han sido respondidas satisfactoriamente. Soy consciente que dar una muestra es mi decisión.

Medite su elección, elija uno de los siguientes puntos y firme si usted está de acuerdo.

Punto 1. Yo DOY mi consentimiento voluntariamente para que se pueda realizar el estudio genético referente a la “Diabetes” en mi muestra de material genético (ADN).

Punto 2. Yo DOY mi consentimiento voluntariamente para que se guarde mi muestra material genético (ADN), con desvinculación de la identidad. Esto permitirá la realización de nuevas pruebas en el futuro cuando se tengan más conocimientos sobre los genes relacionados con la “Diabetes”.

Punto 3. Yo DOY mi consentimiento voluntariamente para que en mi muestra de material genético (ADN) desvinculada se puedan realizar futuros estudios en otras enfermedades.

Acepto que se me realice la toma de muestra de sangre periférica.

Lugar y fecha _____

Nombre del participante: _____

Firma del participante: _____

¿Se le otorgó copia al participante? Sí No

Firma del investigador _____

Nombre del testigo:	
a:	a: _____ m-aaaa
Relación:	Relación con el participante:

Nombre escrito de la persona que explica el consentimiento

Firma de la persona que explica el consentimiento

—

Fecha



CUESTIONARIO “Identificación de Variantes Genéticas Asociadas con Reacciones Adversas a Hipoglucemiantes Orales en la población Maya de México”

Fecha: _____

No. Afiliación: _____

ID del paciente: _____

Nombre del Paciente: _____

Fecha de nacimiento: _____

Edad: _____ años

Género: 1• Femenino 2• Masculino

Ocupación: _____

Teléfono(s): _____ Domicilio: _____

Estado civil: 1• Soltero 2• Casado 3• Viudo 4• Separado

Nivel de escolaridad: 1• sin estudios 2• Primaria 3• Secundaria 4• Preparatoria 5• Licenciatura 6• Posgrado

Fecha de Diagnóstico: _____

1. ¿Usted, sus padres o abuelos tienen al menos un apellido Maya?

<input type="checkbox"/>	1. Si
<input type="checkbox"/>	2. No

2. ¿Tiene parientes o antecedentes familiares con diabetes tipo 2?

<input type="checkbox"/>	1. Si ¿Quién? _____
<input type="checkbox"/>	2. No

3. ¿Presenta o ha presentado algún problema en el riñón?

<input type="checkbox"/>	1. Si ¿Cuándo? _____
<input type="checkbox"/>	2. No

4. ¿Presenta o ha presentado algún problema en el hígado?

<input type="checkbox"/>	1. Si ¿Cuándo? _____
<input type="checkbox"/>	2. No

5. ¿Usted fuma?

<input type="checkbox"/>	1. Si ¿Con qué frecuencia? _____
<input type="checkbox"/>	2. No

6. ¿Ingiere bebidas alcohólicas?

<input type="checkbox"/>	1. Si ¿Con qué frecuencia? _____
<input type="checkbox"/>	2. No

7. ¿Realiza alguna actividad física?

<input type="checkbox"/>	1. Si ¿Con qué frecuencia? _____
<input type="checkbox"/>	2. No

8. ¿Considera tener buenos hábitos alimenticios?

<input type="checkbox"/>	1. Si
<input type="checkbox"/>	2. No ¿Por qué? _____

9. ¿Que medicamento se le prescribe para el tratamiento de la diabetes tipo 2? (Puede elegir más de una opción)

	Medicamento	Dosis
<input type="checkbox"/>	1. Metformina	
<input type="checkbox"/>	2. Glibenclamida	
<input type="checkbox"/>	3. Glipizida	
<input type="checkbox"/>	4. Glimepirida	
<input type="checkbox"/>	5. Repaglinida	
<input type="checkbox"/>	6. Nateglinida	
<input type="checkbox"/>	7. Pioglitazona	
<input type="checkbox"/>	8. Acarbosa	
<input type="checkbox"/>	9. Exenatida	
<input type="checkbox"/>	10. Sitagliptina	
<input type="checkbox"/>	11. Vildagliptina	
<input type="checkbox"/>	12. Insulina	
<input type="checkbox"/>	13. Otro ¿Cuál? _____	

10. ¿Dejó de tomar alguna vez el medicamento?

<input type="checkbox"/>	1. Si
<input type="checkbox"/>	2. No

11. ¿Porque razón dejó de tomar el medicamento?

12. tiempo el	<input type="checkbox"/>	1. Falta de tiempo	¿Cuánto lleva con
	<input type="checkbox"/>	2. Olvido	
	<input type="checkbox"/>	3. Porque siente mejoría	
	<input type="checkbox"/>	4. Presenta algún malestar ¿Cuál? _____	
	<input type="checkbox"/>	5. Otra razón ¿Cuál? _____	

tratamiento?

<input type="checkbox"/>	1. De 1 a 5 años
<input type="checkbox"/>	2. De 5 años 1 mes a 10 años
<input type="checkbox"/>	3. De 10 años 1 mes a 15 años
<input type="checkbox"/>	4. Más de 15 años

13 ¿Toma el medicamento a las horas indicadas?

<input type="checkbox"/>	1. Si
<input type="checkbox"/>	2. No

14. ¿Ha presentado mejoría con el medicamento prescrito para el tratamiento de la diabetes?

<input type="checkbox"/>	1. Si
<input type="checkbox"/>	2. No ¿Por qué? _____

15. ¿Ha presentado alguna de las siguientes complicaciones? (Puede elegir más de una opción):

<input type="checkbox"/>	1. Problemas cardiovasculares (Cardiopatía)
<input type="checkbox"/>	2. Problemas visuales (Retinopatía)
<input type="checkbox"/>	3. Pie diabético
<input type="checkbox"/>	4. Problemas en el riñón (Nefropatía)
<input type="checkbox"/>	5. Complicaciones nervioso-cerebral (Neuropatía)
<input type="checkbox"/>	6. Ninguna

16. Cuando se encuentra bien, ¿deja de tomar la medicación?

<input type="checkbox"/>	1. Si
<input type="checkbox"/>	2. No

17. Actualmente ¿toma otros medicamentos?

<input type="checkbox"/>	1. Si ¿Cuál? _____
<input type="checkbox"/>	2. No

18. ¿Toma algún remedio herbolario, suplemento alimenticio o vitamina?

<input type="checkbox"/>	1. Si ¿Cuál? _____
<input type="checkbox"/>	2. No

19. ¿Presentó algún evento adverso cuando inicio el tratamiento para la diabetes tipo 2?

<input type="checkbox"/>	1. Si
<input type="checkbox"/>	2. No (Aquí termina el cuestionario)

20. ¿Qué evento adverso presenta o presentó al iniciar o durante el tratamiento para la diabetes tipo 2? (Puede ser una o más opciones a elegir).

<input type="checkbox"/>	1. Nauseas
<input type="checkbox"/>	2. Vómito
<input type="checkbox"/>	3. Hipoglucemia
<input type="checkbox"/>	4. Diarrea
<input type="checkbox"/>	5. Dolor de cabeza
<input type="checkbox"/>	6. Dolor de estómago
<input type="checkbox"/>	7. Gastritis
<input type="checkbox"/>	8. Flatulencias
<input type="checkbox"/>	9. Estreñimiento
<input type="checkbox"/>	10. Dolor muscular
<input type="checkbox"/>	11. Otros _____

21. ¿Cuánto tiempo cursó o lleva cursando los eventos adversos

<input type="checkbox"/>	1. Días ¿Cuántos? _____
<input type="checkbox"/>	2. Semanas ¿Cuántas? _____
<input type="checkbox"/>	3. Meses ¿Cuántos? _____
<input type="checkbox"/>	4. Años ¿Cuántos? _____

22. Si alguna vez le sienta mal, ¿deja usted de tomarla?

<input type="checkbox"/>	1. Si
<input type="checkbox"/>	2. No

DATOS ANTROPOMÉTRICOS

<input type="checkbox"/>	1. Peso _____ kg
<input type="checkbox"/>	2. Talla _____ cm
<input type="checkbox"/>	3. IMC _____
<input type="checkbox"/>	4. Presión arterial _____ mmHg
<input type="checkbox"/>	5. Dextrosis _____ mg/dL

Comentarios: _____

Axiom Precision Medicine Diversity Array

Driving deeper insights into genetic factors underlying disease, wellness, and lifestyle for clinical research and direct-to-consumer applications

Key features

- >850,000 single-nucleotide polymorphisms (SNPs), insertions or deletions (indels), and copy number variations (CNVs) with dense whole-genome coverage
- >800,000 markers from phase III of the 1000 Genomes Project in the genome-wide imputation grid, selected using an imputation-aware design (Figure 1 and Table 1)
- >15,000 actionable variants covering the 59 genes recommended by the American College of Medical Genetics (ACMG59) associated with potentially severe health conditions such as familial hypercholesterolemia, breast cancer, and rare genetic disorders of enzyme deficiency
- >5,000 pharmacogenomic (PGx) markers in >1,100 genes, offering comprehensive coverage of core and extended ADME genes across categories 1–4 established by the Pharmacogenomics Knowledgebase (PharmGKB)
- Star allele report and coverage of genes with known relevance to drug metabolism, including *CYP1A2*, *CYP2D6*, *CYP2B6*, *CYP2A6*, *SULT1A1*, *CYP2C19*, and *CYP2C8* when used with the Applied Biosystems™ Axiom™ 2.0 Plus Assay
- >16,000 actionable markers from the NHGRI-EBI Genome-Wide Association Studies (GWAS) Catalog, offering the most up-to-date content, broad coverage, and high accuracy for disease association studies [1–3]
- >1,100 markers for assessing common and rare blood types for applications in research on blood conditions
- >2,000 markers for direct-to-consumer applications, including Y chromosome and mitochondrial markers for deep ancestry analysis and markers for wellness and environment, most notably asthma, allergies, alcohol and smoking addiction, skin conditions, and obesity

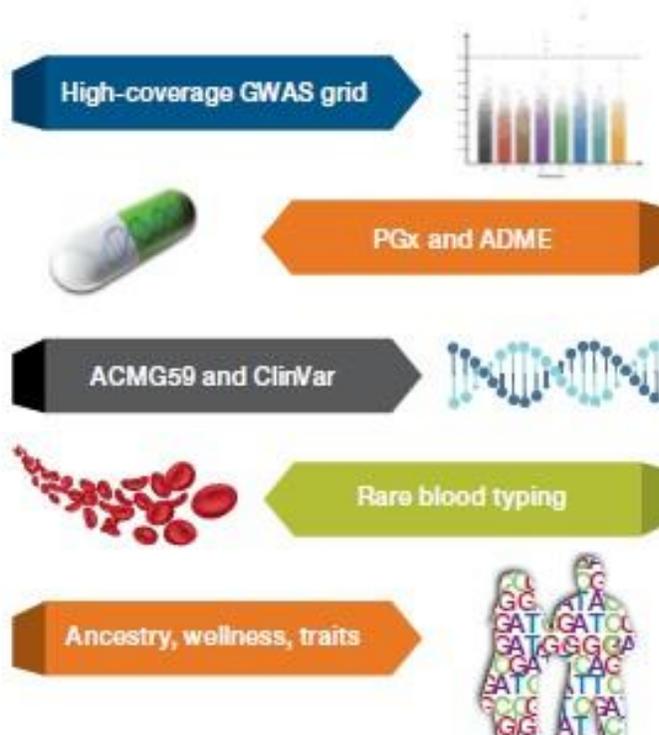


Figure 1. Key content on the Applied Biosystems™ Axiom™ Precision Medicine Diversity Array (PMDA).

Table 1. Content categories in the Axiom PMDA compared with other catalog Axiom arrays.

Category	Description	Axiom PMDA	Axiom PMRA	Axiom Asia PMRA	UK Biobank Axiom Array
GWAS module	Markers to maximize coverage in ancestral populations, especially in the 1–5% minor allele frequency (MAF) range, enabling cross-platform and cross-cohort metadata analysis	>800,000	>800,000	>540,000	>600,000
NHGRI-EBI GWAS Catalog	Includes content covering the complete NHGRI catalog of published GWAS as of June 2018	>16,000	>15,000	>23,400	>8,000
ACMG59	Markers from the list of 59 genes published by ACMG covering highly penetrant genetic disorders	>15,000	>11,000	>9,200	>9,000
ClinVar variants	Covers pathogenic or likely pathogenic associations from ClinVar archives (accessed June 2018)	>24,000	>23,000	>43,000	>7,500
High-value markers associated with inherited disorders	Markers in high-value genes such as <i>APCE</i> (Alzheimer's disease), <i>BRCAl/2</i> (breast cancer), <i>DMD</i> (Duchenne muscular dystrophy), and <i>CFTR</i> (cystic fibrosis) [4,5]	>5,500	>2,000	>2,000	>75
Pharmacogenomic (ADME)	• Number of ADME genes covered	1,149	661	962	932
	• Markers from PharmGKB (pharmgkb.org) with known relevance to drug metabolism	>5,000	>1,950	>2,600	>2,400
	• Total number of markers in ADME genes	92,639	49,643	69,988	67,197
Blood phenotypes and disorders	Covers variants that are used to identify the common and rare blood group types	>1,100	>550	>140	>650
Immunity, inflammation, and human leukocyte antigen (HLA)	Markers from HLA genes, killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) genes, and variants associated with specific autoimmune and inflammatory disorders, including ulcerative colitis, Crohn's disease, Graves' disease, Hashimoto's thyroiditis, and celiac disease	>14,000	>10,400	>10,400	>8,200
Cancer risk variants	Over 10,000 cancer risk variants from the NHGRI-EBI GWAS Catalog, various publications, and the OMIM® database; includes variants associated with risks for colorectal [6], prostate [7], ovarian [8], lung [9], and gastric cancers, as well as typical blood cancers such as myeloma and lymphoma	>10,000	>10,000	>8,000	>6,500
Loss of function (LOF)	Markers to detect genetic changes that are predicted to completely disrupt the function of protein-coding genes, including rare and likely deleterious LOF alleles, predicted severe disease-causing variants, and common LOF variants in nonessential genes	>3,100	>33,000	>43,000	>30,000
Expression quantitative trait loci (eQTLs)	eQTLs with MAF >0.01% to support mapping functional noncoding variations to identify associations with gene transcription variability and differential gene expression	>3,000	>16,000	>15,000	>17,000
Neuropsychiatric conditions and lung function; CNV regions for developmental delay	Includes markers associated with increased risk for neurological conditions such as Alzheimer's and Parkinson's diseases, schizophrenia, and autism [10,11]	>250	>180	>910	>2,300
Fingerprinting and sample tracking	Includes fingerprint SNPs used by the University of Washington and the Broad Institute of MIT and Harvard; these markers are shared among several major genotyping platforms to facilitate sample tracking	>300	>300	>300	>300
Direct to consumer	Includes a set of markers associated with wellness, most notably asthma, allergies, alcohol and smoking addiction, skin conditions, and obesity	1,566	1,221	1,232	288
Y chromosome markers	Markers on the Y chromosome that are suitable for applications covering deep ancestry	>440	>5	>400	>800
Mitochondrial markers	Common mitochondrial DNA variants	>700	>115	>500	>350
Total markers		>900,000	>900,000	>750,000	>800,000

GWAS grid

The Axiom PMDA includes over 800,000 markers in the GWAS module. Common variants are intelligently selected via a proprietary imputation-based marker selection strategy for genome-wide coverage in the five major ancestral populations (Table 2). This process allows access to a vast number of rare markers ($>1\%$ MAF) and common markers (MAF $>5\%$) for any given population, through imputation. The intelligent, imputation-aware design helps ensure that the selection of markers offers the highest imputation accuracy across all ancestral populations. The autosomal markers in the GWAS grid are valuable in ascertaining the ethnic breakdown of individuals genotyped with the Axiom PMDA. Combined with the mitochondrial and Y chromosome markers, the Axiom PMDA is a powerful array for determining ancestry and migration patterns in direct-to-consumer testing [12].

Table 2. Number of imputed markers with $r^2 >0.8$ and MAF $>1\%$.

Population	Number of imputed variants MAF $>1\%$	Imputation accuracy*	
		MAF $>1\%$	MAF $>5\%$
African (AFR)	14.7M	0.90	0.92
Admixed American (AMR)	10.1M	0.92	0.95
East Asian (EAS)	7.1M	0.87	0.92
European (EUR)	8.7M	0.92	0.95
South Asian (SAS)	8.5M	0.88	0.93

* Accuracy is the mean r^2 calculated across autosomal SNPs from the highest-ranked 900,000 markers.

ACMG59 and ClinVar

The Axiom PMDA includes a set of markers covering 59 genes from guidelines published by the ACMG. The actionable variants in the ACMG59 genes identify and manage risk for selected highly penetrant genetic disorders through established interventions aimed at preventing or significantly reducing morbidity and mortality. More than 15,000 variants are selected on the Axiom PMDA to interrogate the ACMG59 genes. These markers are known to be of high importance, such as those in the *BRCA1/2*, *CFTR*, *DMD*, and *APOE* genes. Advanced probeset designs for variants with very high GC content ($>78\%$) in flanking sequences allow for accurate genotyping of such complex variants.

The Axiom PMDA also includes variants from ClinVar archives curated for pathogenic or likely pathogenic significance. The module includes updated and well-annotated content from June 2018. ClinVar variants are crowdsourced by the scientific community. Pathogenic variants often carry information about the penetrability associated with the disease. A list of some of the disease research categories and number of associated variants is shown in Table 3.

Direct to consumer	Includes a set of markers associated with wellness, most notably asthma, allergies, alcohol and smoking addiction, skin conditions, and obesity	1,566	1,221	1,232	288
Y chromosome markers	Markers on the Y chromosome that are suitable for applications covering deep ancestry	>440	>5	>400	>800
Mitochondrial markers	Common mitochondrial DNA variants	>700	>115	>500	>350
Total markers		$>900,000$	$>900,000$	$>750,000$	$>800,000$

Table 3. Markers of the Axiom PMDA, classified into disease research categories and important subcategories according to OMIM and ClinVar databases.

Categories and subcategories	No. of markers
Cancer risk variants	>10,500
Myeloma	>45
Lung cancer	>100
Breast cancer	>4,000
Ovarian cancer	>5,600
Gastric cancer	>820
Leukemia	>550
Lymphoma	>240
Colorectal cancer	>3,600
Mental, behavioral, neurological, and neurodevelopmental risk variants	>2,000
Alzheimer's disease	>180
Parkinson's disease	>120
Schizophrenia	>445
Autism	>520
Inherited eye disease risk variants	>250
Macular degeneration	>95
Glaucoma	>45
Retinal dystrophy	>12
Retinal pigmentosa	>90
Optic atrophy	>30
Autoimmune and inflammatory disease risk variants	>450
Celiac disease	>65
Crohn's disease	>370
Graves' disease	>32
Loss-of-function variants	>10,000
Autosomal recessive	>5,000
– Fanconi anemia	>3,000
– Cystic fibrosis	>240
– Thalassemia	>30
Autosomal dominant	>4,300
– Familial hypercholesterolemia	>1,600
– Mitochondrial diseases	>120
– Congenital conditions	>125
Cardiovascular disease risk variants	>3,000
Respiratory disease risk variants	>1,000
Diabetes risk variants	>300
Musculoskeletal disease risk variants	>200

Pharmacogenomics

The Axiom PMDA includes over 5,000 variants in 1,191 genes of known pharmacogenomic value [13]. This evidence-based content allows researchers to gain valuable insight into an individual's ability to process drugs based upon high, moderate, low, and preliminary scientific evidence. Figure 2 shows the distribution of the pharmacogenomic variants. The pharmacogenomics module includes:

- 1,200 core and extended functional pharmacogenomic markers from Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guidelines
- 1,098 markers in Very Important Pharmacogenes as identified by PharmGKB
- 260 markers in level 1 and level 2 categories that are of high and moderate significance
- 2,300 markers in level 3 and level 4 categories that are of low significance with research utility
- 1,936 markers from the Applied Biosystems™ DMET™ Plus Solution
- 33 markers in HLA genes associated with drug reactions

The Axiom PMDA includes over 92,000 markers in ADME-associated genes, offering the highest density of any commercial array. The Axiom PMDA used in conjunction with the Axiom 2.0 Plus Assay can unlock over 80 critical star alleles associated with highly predictive markers in genes including *GSTM1*, *CYP1A2*, *CYP2D6*, *CYP2B6*, *CYP2A6*, *SULT1A1*, *CYP2C19*, and *CYP2C8*. This unique assay opens up the ability to genotype these important pharmacogenomic markers that are in highly homologous regions of the genome. Based on gene-specific amplification, the Axiom 2.0 Plus Assay overcomes limitations observed in other hybridization-based microarray technologies, making it a unique array. CNV results are also presented in the software for *UGT2B17*, *GSTT1*, *GSTM1*, *CYP2A6* (3 regions), and *CYP2D6* (3 regions). The Axiom 2.0 Plus Assay workflow offers translation tables, and both comprehensive and phenotype reports to assist in generating reports associated with ADME responses for drugs.

Blood phenotypes and disorders

Common and rare blood groups are currently phenotyped using serological methods to identify antigens prior to blood transfusion or treatment. However, the

disadvantages of these methods for phenotyping blood groups are well documented [14]. Cost, throughput, and reagent availability are the primary limitations of serology when performing full-donor matching. Blood groups are determined by genetic variants, so there is a need for a genotyping technology that offers the capability to genotype markers within these genes with high accuracy and repeatability. The Axiom PMDA includes over 1,100 markers that can be used for typing the common blood groups (ABO, Rh, Kell) and rare blood groups to perform research in immunohematology, alloimmunization, and maternal–fetal incompatibility as well as in hemoglobinopathies.

The Axiom PMDA leverages past efforts in the study of blood typing [15] and knowledge gained from the UK Biobank study [16] on the performance of blood typing using genotyping arrays. The blood module also includes markers for anemia, bleeding disorders, and thalassemia. The large number of variants offers the ability to perform research in rare blood typing. The Axiom PMDA offers the capability to genotype the *RHD* gene through the copy number genotyping capabilities of the platform.

Axiom technology has advantages over other array-based technologies because of the photolithographic manufacturing techniques. Bead-based technologies experience batch-to-batch variability and SNP dropouts with each manufacturing batch. The bead pools have a finite life even when manufactured in large batches, making the technology less reliable in clinical research applications where every marker is critical. The photolithographic manufacturing technology used in manufacturing Axiom genotyping arrays ensures 100% fidelity from array to array and batch to batch. All markers are present on every manufacturing batch, and the designs are available for the lifetime of the study—addressing a major concern for research studies that require every marker to be present on the array.

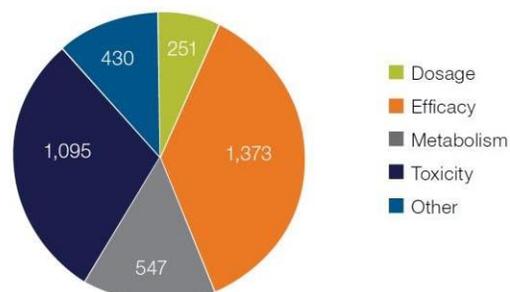


Figure 2. Distribution of ADME variants associated with drug response.

Applications in direct-to-consumer genomics

In recent years, direct-to-consumer genomics has evolved from using genomics to identify ancestry and lifestyle preferences to understanding risks associated with acquiring an inherited disease or condition. The successful completion of the UK Biobank study demonstrated that polygenic risk scores are relevant when considering disease risk.

The Axiom PMDA includes markers for identification of ancestry for diverse populations, pharmacogenomics, and rare blood typing. It includes additional genetic variants that have been identified in wellness and lifestyle such as in diet, weight, metabolism, tastes, and traits. The variants in the direct-to-consumer module are shown in Table 4.

Table 4. Markers for direct-to-consumer applications.

Wellness and lifestyle phenotypes	Number of markers
Alcohol dependence and sensitivity	>140
Asthma	>250
Allergies	>60
Caffeine consumption	>30
Cholesterol levels	>35
Skin, hair, or eye pigmentation	>250
Smoking and addiction	>360
Vitamin absorption	>15
Weight and obesity	>900

Workflows for the Axiom PMDA

The Axiom PMDA introduces the Axiom 2.0 Plus workflow alongside the standard Axiom 2.0 workflow. The Axiom 2.0 workflow is a standard three-day workflow. Amplification through hybridization preparation is completed in two days. The Axiom 2.0 Plus workflow has an extra step introduced for gene-specific amplification for pharmacogenomic markers that are in highly homologous regions of the genome. The gene-specific amplification is performed in a clean room. The Applied Biosystems™ GeneTitan™ Multi-Channel Instrument automates array processing from target hybridization to scanning.

Applied Biosystems™ Axiom™ Analysis Suite software automates data analysis and includes allele-calling algorithms and user-friendly visualization tools. The analysis workflow as described in the Axiom Genotyping Solution Data Analysis Guide (Pub. No. 702961) enables high flexibility in finding the most informative content for

each study. The Axiom PMDA is enabled for copy number analysis in target regions as well as *de novo* genome-wide copy number discovery [17].

Specifications

Axiom PMDA genotyping performance has been evaluated on 384 samples from the International HapMap Project using stringent quality control metrics that cover average sample call rate, sample concordance, and reproducibility. The array performance was also evaluated with 384 samples processed using the Axiom 2.0 Plus Assay to help ensure performance in regions of high sequence homology (e.g., markers in genes such as *CYP2D6*). Concordance and reproducibility were also evaluated on these markers (Table 5). The array performance using the Axiom 2.0 Assay was evaluated using 285 samples and is shown in Table 6.

Table 5. Performance of the Axiom PMDA across 384 samples used with the Axiom 2.0 Plus Assay.

Metric	Specification	Performance
Number of samples	—	384
Sample pass rate	>95%	98.7%
Average call rate	≥99%	99.7%
Reproducibility	≥99.8%	99.9%
Average HapMap concordance	≥99.5%	99.8%
Average call rate of markers that require gene-specific amplification*	≥99%	99.8%
Concordance of markers that require gene-specific amplification*	≥99%	99.9%

* Applicable when used with the Axiom 2.0 Plus Assay.

Table 6. Performance of the Axiom PMDA across 285 samples when used with the Axiom 2.0 Assay.

Metric	Specification	Performance
Number of samples*	—	285
Sample pass rate	≥95%	98.60%
Average call rate	≥99%	99.46%
Reproducibility	≥99.8%	99.92%
Average HapMap concordance	≥99.5%	99.79%

* 3 plates in the 96-array format were used for the evaluation, each with one control sample.