



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Maestría y Doctorado en Ciencias Bioquímicas

ESTUDIO DE ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO Q192R RS662 DEL GEN DE LA
PARAOXONASA1 EN PACIENTES CON *DIABETES MELLITUS*.

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
Maestra en Ciencias

PRESENTA:
ELIZABETH ROMERO GUTIÉRREZ

TUTOR PRINCIPAL.
DR. JOSÉ PEDRAZA CHAVERRI, FACULTAD DE QUÍMICA.

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR
DRA. CARMEN MEJÍA VÁZQUEZ, INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS.
DR. SALVADOR URIBE CARBAJAL, INSTITUTO DE FISIOLÓGÍA CELULAR.

MÉXICO, D. F. JUNIO, 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Of. No. PMDCB/714/2013

ELIZABETH ROMERO GUTIÉRREZ
Alumno (a) de la Maestría en Ciencias Bioquímicas
P r e s e n t e

Los miembros del Subcomité Académico, en reunión ordinaria del día 26 de Agosto del presente año, conocieron su solicitud de ASIGNACION de JURADO DE EXAMEN para optar por el grado de MAESTRO(A) EN CIENCIAS (BIOQUIMICAS), con la tesis titulada "Estudio de asociación del polimorfismo Q192R rs662 del gen de la paraoxonasa en pacientes con Diabetes mellitus", dirigida por el Dr. José Pedraza Chaverri.

De su análisis se acordó ratificar al jurado asignado:

PRESIDENTE	Dra. Victoria Chagoya de Sánchez
VOCAL	Dra. Nimbe Torres y Torres
VOCAL	Dr. Rogelio Rodríguez Sotres
VOCAL	Dr. Samuel Canizales Quinteros
SECRETARIO	Dr. Jesús Javier Espinosa Aguirre

Sin otro particular por el momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 28 de Agosto de 2013.
LA COORDINADORA DE ENTIDAD


DRA. MARÍA IMELDA LÓPEZ VILLASEÑOR

C.c.p. Archivo

MILV*lgg

AGRADECIMIENTOS

- Agradezco al posgrado de Ciencias Bioquímicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por darme la oportunidad de pertenecer a su programa reconocido mundialmente.
- Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT por la beca que me otorgó (No. De registro 254033) y por su apoyo brindado para este proyecto (CONACYT SALUD 2013-01-20159).
- De manera muy especial a mi tutor el Dr. José Pedraza Chaverri y a los miembros de mi comité tutor, la Dra. Carmen Mejía Vázquez y al Dr. Salvador Uribe Carbajal.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Al Dr. José Pedraza Chaverri por el apoyo, los consejos y la paciencia brindada a todo lo largo de este ciclo, para mejorar la calidad de mí trabajo, principalmente para mejorar mi formación académica, además de ser un ejemplo a seguir.

A la Dra. Martha Eunice Rodríguez por el apoyo técnico brindado para el desarrollo de este trabajo.

A todos mis compañeros de laboratorio que hicieron mis días amenos y el trabajo grato, en especial a Angélica por toda su ayuda y consejos.

A David que siempre estuvo para acompañarme en los días malos y buenos, siendo un gran apoyo para mí en todo momento.

A Helga por brindarme su amistad y resistir las dificultades de estando siempre presente.

A mi hermano por estar presente en cada día y en cada logro.

A mis padres por darme la oportunidad de estar donde estoy y de llegar a donde me proponga

A la Universidad que me permitió desarrollarme en ámbitos educativos y personales, por todo ello gracias UNAM.

**Una experiencia nunca es un fracaso,
pues siempre viene a demostrar algo.**

Thomas Alva Edison

Contenido

RESUMEN	1
1. <i>DIABETES MELLITUS</i>	6
2. COMPLICACIONES DE LA DIABETES	7
3. NEFROPATÍA DIABÉTICA	8
4. LA HIPERGLUCEMIA INDUCE ESTRÉS OXIDANTE.....	9
5. DAÑO INDUCIDO POR ESTRÉS OXIDANTE EN LA DIABETES	11
6. ESTUDIO DE FACTORES GENÉTICOS IMPLICADOS EN LA DMT2	14
7. PARAOXONASA	15
8. POLIMORFISMOS DE PON1.....	16
JUSTIFICACIÓN	17
HIPÓTESIS	18
OBJETIVO GENERAL	18
OBJETIVOS PARTICULARES.....	18
MÉTODOS	19
I. RECLUTAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN CLÍNICA DE LOS CONTROLES Y PACIENTES.	19
II. RECOLECCIÓN DE SANGRE	21
III. GENOTIPIFICACIÓN	21
IV. ACTIVIDAD PON1	22
a) <i>Actividad PON</i>	22
b) <i>Actividad ARE</i>	23
V. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	23
RESULTADOS	25
GRUPO CASO - CONTROL.....	25
SUBGRUPO 1.PACIENTES CON DMT2 – CONTROLES.....	25
I. <i>Características</i>	26
II. <i>Parámetros bioquímicos</i>	27
III. <i>Actividad enzimática de la paraoxonasa</i>	28
IV. <i>Frecuencia genotípica y alélica</i>	29
VI. <i>Asociación entre el genotipo y DMT2</i>	33
VII. <i>Asociación entre el genotipo y los parámetros bioquímicos</i>	33
.....	34
SUBGRUPO 2.PACIENTES CON DMT2 Y ND-PACIENTES CON DMT2 SIN ND	34
I. <i>Características</i>	34
II. <i>Parámetros bioquímicos</i>	36
III. <i>Actividad enzimática de la paraoxonasa</i>	37
V. <i>Asociación entre el genotipo y ND</i>	40
DISCUSIÓN	42

CONCLUSIÓN.....	51
BIBLIOGRAFÍA.....	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. PROGRESIÓN DE LA NEFROPATÍA DIABÉTICA.....	8
Figura 2. VÍAS DE DAÑO POR ESTRÉS OXIDANTE INDUCIDAS POR HIPERGLUCEMIA EN DM	10
Figura 3. DAÑO METABÓLICO MEDIADO POR EROs.....	12
Figura 4. DIAGRAMA DE PARÁMETROS PARA SELECCIÓN DE CASOS Y CONTROLES.....	20

TABLA DE ABREVIATURAS

	Abreviatura
Acido desoxirribonucleico	DNA
Clínica de Detección y Diagnóstico Automatizado	CLIDDA
<i>Diabetes mellitus</i>	DM
<i>Diabetes mellitus tipo 2</i>	DMT2
Diacilglicerol	DAG
Especies reactivas de oxígeno	ERO's
Factor de crecimiento transformante beta	TGF-β
Glutati6n reducido	GSH
Índice de masa corporal	IMC
Inhibidor del activador del plasmin6geno-1.	PAI-1
Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado	ISSSTE
Insulino resistencia	IR
Lipoproteínas de alta densidad	HDL
Lipoproteínas de baja densidad	LDL
Lipoproteínas de baja densidad oxidadas	LDLox
Nefropatía diabética	ND
Nicotinamida adenina di nucle6tido fosfato	NADPH
Paraoxonasa	PON
Paraoxonasa 1	PON1
Per6xido de hidr6geno	H ₂ O ₂
Peroxinitrito	ONOO ⁻
Polimorfismo de un solo nucle6tido	SNP
Productos finales de glucosilaci6n avanzada	AGEs
Proteína cinasa C	PKC
Radical hidroxilo	OH•
Radical 6xido n6trico	NO•
Radical surper6xido	O ₂ ^{•-}
Reacci6n en cadena de la polimerasa en tiempo real	Real-time PCR genotyping assay

RESUMEN.

ANTECEDENTES: La *Diabetes mellitus* (DM) es una enfermedad compleja y multifactorial, que se caracteriza por hiperglucemia. La *Diabetes mellitus tipo 2* (DMT2) representa del 80 al 90% de los casos de Diabetes. Se considera que factores ambientales (como la obesidad) y genéticos (predisposición genética) influyen en gran medida en su prevalencia. En la actualidad la DM en México representa un grave problema de salud, económico y social. Las complicaciones derivadas de esta enfermedad son la segunda causa de muerte en México. Una de las complicaciones más importantes en términos de morbilidad y mortalidad de la DM es la nefropatía diabética (ND), en la que existe daño en la microcirculación renal, lo que originan alteraciones funcionales y estructurales a nivel glomerular y tubular. La incidencia de la ND se relaciona al descontrol glucémico, hipertensión y la predisposición genética. Existe una estrecha relación entre la DM y las complicaciones derivadas (de la hiperglucemia), el aumento de especies reactivas de oxígeno (ERO's) y la disminución en el sistema antioxidante. La paraoxonasa1 (PON1) es una enzima antioxidante asociada a las lipoproteínas de alta densidad (HDL) que cumple funciones protectoras en la células, reduce los niveles de lípidos oxidados de lipoproteínas de baja densidad (LDL), metaboliza peróxidos de esteres de colesterol y estimula el flujo del colesterol de macrófagos. En trabajos previos se ha descrito la asociación del polimorfismo Q192R rs662 del gen de la PON1 con la DMT2 y con nefropatía diabética para algunas poblaciones. Sin embargo no existen estudios al respecto en la población mexicana.

HIPÓTESIS: Se espera encontrar asociación entre el polimorfismo Q192R (rs662) del gen de la paraoxonasa1 y la DMT2 y/o con la nefropatía diabética en una muestra de la población de nuestro país.

METODOLOGÍA: Se trabajó con un estudio de casos-controles, en el que se incluyeron a 235 personas sin DMT2, a 270 pacientes con DMT2 sin ND y a 97 pacientes con DMT2 con ND, donde se evaluó la asociación con el polimorfismo rs662. Los participantes fueron captados en el Hospital Regional Adolfo López Mateos (ISSSTE) y en la Clínica Familiar Ignacio Chávez (ISSSTE). Los participantes son originarios de diferentes estados de la República Mexicana y previamente al estudio brindaron su consentimiento para participar en el proyecto. Se realizó la caracterización clínica y la toma de muestras de sangre para la genotipificación y la determinación de la actividad paraoxonasa de los participantes. La genotipificación se llevó a cabo utilizando hibridación de oligonucleótidos alelo específico con PCR en tiempo real (Real-time PCR genotyping assay). Los parámetros de laboratorio bioquímicos se midieron por técnicas automatizadas en el hospital. La actividad paraoxonasa se midió espectrofotométricamente usando dos sustratos. El análisis estadístico se realizó con los programas estadísticos Stata 12.1 y EpiInfo 7.1.2.

RESULTADOS: El polimorfismo Q192R rs662 del gen de la PON1 no presentó asociación con la DMT2. Los individuos con DMT2 en su mayoría presentaron obesidad, mal control glicémico, dislipidemias así como actividad paraoxonasa disminuida en comparación con el grupo control. Por otra parte, no se encontró asociación entre el polimorfismo estudiado y la ND. La mayoría de estos individuos presentaron un estado de salud deteriorado, elevados niveles de glucosa y actividad paraoxonasa disminuida.

CONCLUSIÓN: Los hallazgos sugieren que el polimorfismo Q192R rs662 del gen de la paraoxonasa1 considerando un modelo aditivo (donde el factor de riesgo sumativo son los alelos que codifican para el aminoácido glutamina) se puede relacionar a un aumento en la en la probabilidad de presentar DMT2. Sin embargo no explica ni se asocia con la presencia de nefropatía diabética en la población de estudio. La actividad paraoxonasa disminuida puede explicarse por polimorfismo rs662 con limitaciones, donde la combinación de otros factores en estos individuos puede ejercer mayor influencia en la variación.

ABSTRACT

Background: Diabetes mellitus (DM) is a complex and multifactorial disease characterized by hyperglycemia. Diabetes mellitus type 2 (DMT2) represents 80 to 90 % of cases of Diabetes. It is considered that factors environmental (such as obesity) and genetic predisposition greatly influence in its prevalence. Nowadays the DM in Mexico represents a serious health, economic and social. The complications of this disease are the second leading cause of death in Mexico. One of the most important complications in terms of morbidity and mortality of the DM, is diabetic nephropathy (ND), in which there is damage to the renal microcirculation, which results in functional and structural alterations in glomerular and tubular level. The incidence of ND is tie in to glycemic uncontrolled, hypertension and genetic predisposition. There is a close relationship between DM and complications (derived from hyperglycemia), increased reactive oxygen species (ROS's) and the decrease in the antioxidant system. The paraoxonasa1 (PON1) is an antioxidant enzyme attached to the High Density Lipoprotein (HDL) that meets protective functions in cells, reduces levels of oxidized lipids in low-density lipoprotein (LDL), metabolizes peroxides and cholesterol ester and stimulates cholesterol efflux from macrophages .Previous studies have described the polymorphisms association rs662 Q192R PON1 with DMT2 and diabetic nephropathy, for some populations. However there are no studies about the Mexican population. **Hypothesis:** Suggests that there association between between Q192R polymorphism (rs662) paraoxonasa1 gene and DMT2 and / or diabetic nephropathy in a sample of the population of our country. **Methodology:** We worked with a case-control study, in which 235 people without DMT2 were included , 270 patients with DMT2 without ND and 97 T2DM patients with ND, where the association with rs662

polymorphism was evaluated. Participants were recruited in the Adolfo Lopez Mateos Regional Hospital (ISSSTE) and in the Ignacio Chavez Family Clinic (ISSSTE). Participants are from different states of Mexico, prior to the study they gave their consent to participate in the project. Clinical characterization and blood sampling for genotyping and determination of paraoxonase activity of participants was conducted. Genotyping was performed using allele-specific oligonucleotide hybridization with real-time PCR (Real-time PCR genotyping assay). Biochemical parameters were measured by automated laboratory in hospital techniques. Paraoxonase activity was measured spectrophotometrically using two substrates. Statistical analysis was performed with Stata statistical software 12.1 and EpiInfo7.1.2. **Results:** The rs662 gene polymorphism Q192R PON1 considering an additive model, showed association with DMT2. The DMT2 individuals showed mostly obesity, poor glycemic control, dyslipidemia and impaired paraoxonase activity compared to the control group. Moreover, no association between the studied polymorphisms and ND was found. Most of these individuals had an impaired health status, elevated glucose levels and paraoxonase activity decrease. **Conclusion:** The findings suggest that the PON1 gene Q192R polymorphism considering an additive model (where the factor of risk summative are alleles encoding the amino acid glutamine) can be related to an increase in the probability of DMT2. But neither explains nor is associated with the presence of diabetic nephropathy in the study population. Decreased paraoxonase activity could be explained by polymorphism rs662 to constraints, where the combination of other factors in these individuals may have more influence on the variation

INTRODUCCIÓN

1. *Diabetes mellitus*

La *Diabetes mellitus* (DM) es una enfermedad compleja y multifactorial. Definida como un conjunto de desórdenes metabólicos, caracterizados por hiperglucemia, producida por defectos en la secreción; por acción de la insulina o por ambas condiciones (*Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus, 2003*).

La clasificación actual de la DM comprende cuatro categorías, siendo la *Diabetes mellitus* tipo 2 (DMT2) la de mayor prevalencia, representado entre el 80 al 90% del total de los casos. Los factores ambientales (por ejemplo la obesidad) y los factores genéticos (predisposición genética) se relacionan estrechamente con una mayor incidencia de DM (*Jara, 2011*).

En la actualidad la DM se perfila como una de las grandes epidemias en el mundo, aumentando considerablemente el número de individuos que la padecen año con año (*Wild et al., 2004*). En México, para el año 2030 se estima que más de los 12 millones padecerán DM (*International Diabetes Federation, 2009*).

La DM representa un grave problema de salud de costos elevados (*Rodríguez et al., 2010; Arredondo y De Icaza, 2011*). En México el año 2010, alrededor del 34% del presupuesto asignado al sector salud fue destinado a cubrir las demandas médicas de pacientes mexicanos con esta enfermedad (*Cruz, 2010; Arredondo y De Icaza, 2011*).

Los pacientes con DM no sólo requieren de mayor de atención médica en comparación con la población sin diabetes, también son más propensos a presentar discapacidades permanentes en edad productiva (*Jara, 2011*). Sumado a ello, las complicaciones derivadas de la diabetes son la primera causa de muerte en México (*INEGI, 2009*). La diabetes no es sólo un problema de salud y económico, la disminución de la calidad de vida representa un problema social (*García-Castro y García-González, 2005; Arredondo y De Icaza, 2011*).

2. Complicaciones de la diabetes

Las complicaciones derivadas de la DM pueden ser agrupadas como agudas o crónicas (*Jara, 2011*). Entre las agudas se tiene a la cetoacidosis y el síndrome hiperosmolar no cetósico. Las crónicas se refieren a daños vasculares, diferenciándose de esta forma en macroangiopatías (afección en los vasos de mediano o gran calibre) y microangiopatías (daño en vasos pequeños como arteriolas, capilares y vénulas) (*Jara, 2011; Goday, 2002; Salama y Sánchez, 2001; National Diabetes Information ClearingHouse, 2011*).

Las microangiopatías diabéticas (daños en la micro circulación) son causa de padecimientos como la retinopatía diabética, nefropatía diabética (ND) y la neuropatía (*Goday, 2002; Jara, 2011; National Diabetes Information Clearing House, 2011*). Las macroangiopatías promueven el desarrollo de eventos cardiovasculares en pacientes con DM (*Jara, 2011; Salamay Sánchez, 2001*).

3. Nefropatía diabética

La nefropatía diabética (ND) es una de las complicaciones más costosa, de acuerdo con *Arredondo y De Icaza (2011)* refiriéndose al costo de las complicaciones de la DM, el manejo integral de la ND tiene el mayor impacto económico en las principales instituciones de salud de nuestro país.

El daño que se presenta en la ND afecta la microcirculación renal, originando alteraciones funcionales y estructurales a nivel glomerular y tubular. El cuadro clínico se caracteriza por proteinuria persistente, hipertensión arterial y deterioro progresivo e irreversible de la función renal (Figura 1) (*Torres y Zacarías, 2002*).

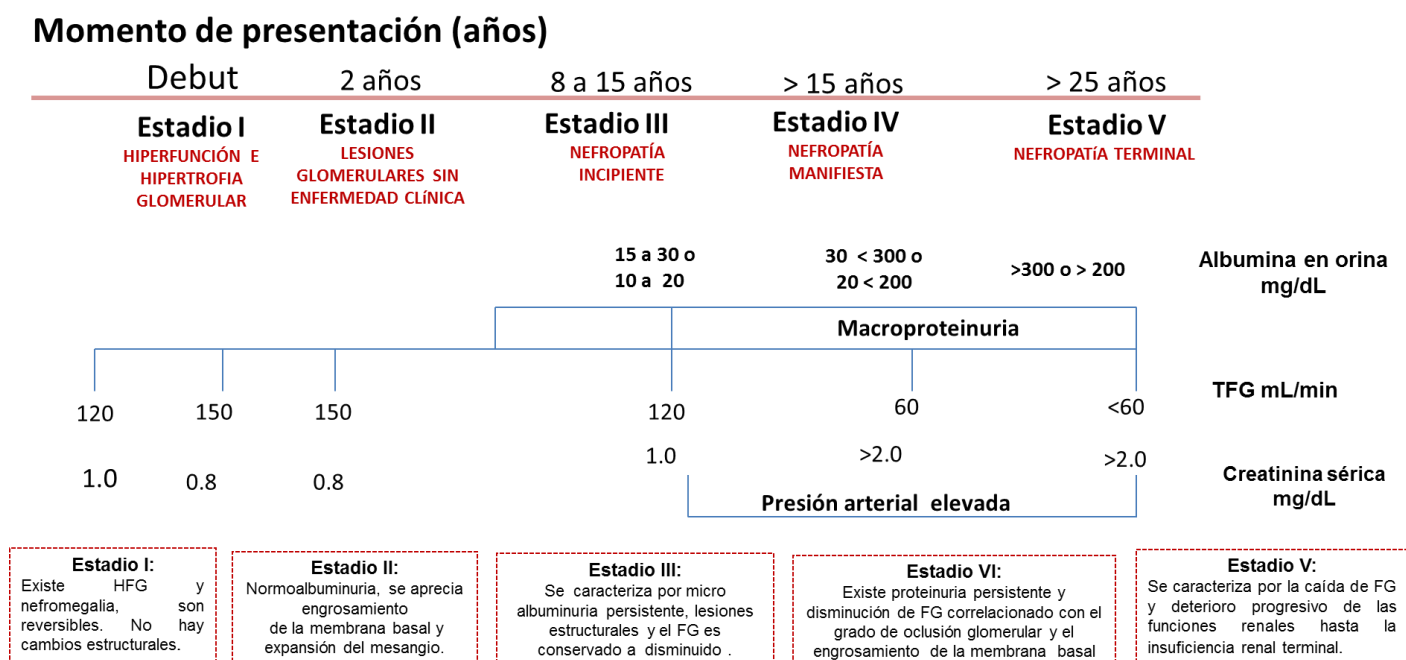


Figura 1. PROGRESIÓN DE LA NEFROPATÍA DIABÉTICA

En cuanto a la duración de la DM y la presencia de ND se ha comprobado una relación, en donde el riesgo a desarrollar ND inicia a los 5 años de que se presenta la enfermedad y aumenta anualmente un 2.5% hasta los 20 años de transcurrida la enfermedad, a partir de este punto, el riesgo disminuye anualmente 1% (*Torres y Zacarías, 2002*). La prevalencia de ND en la DMT2 varía entre un 35 a un 50%. Algunas condiciones que se asocian a la incidencia de ND son: el descontrol hiperglucémico crónico, la hiperlipidemia, la hipertensión arterial y predisposición genética, entre otros (*Torres y Zacarías, 2002*). La ND es una de las más graves complicaciones en términos de morbilidad y mortalidad. Es la primera causa del uso de tratamiento sustitutivo renal (diálisis, hemodiálisis o trasplante renal) y es también la primera causa de la insuficiencia renal en México (*Torres y Zacarías, 2002*).

4. La hiperglucemia induce estrés oxidante

La hiperglucemia, condición característica de la diabetes, activa diversas vías metabólicas como son: la vía de los polioles, la vía de las hexosaminas, la vía de formación de productos finales de la glucosilación avanzada (AGEs), la vía del diacilglicerol (DAG) y la activación de proteína cinasa C (PKC) (Figura 2), las cuales están involucradas de manera determinante en el desarrollo de las complicaciones secundarias a la DM (*Balderas y Méndez, 1998; Díaz-Flores et al., 2004; Jakus, 2000; Jara, 2011; Maritim et al., 2003*).

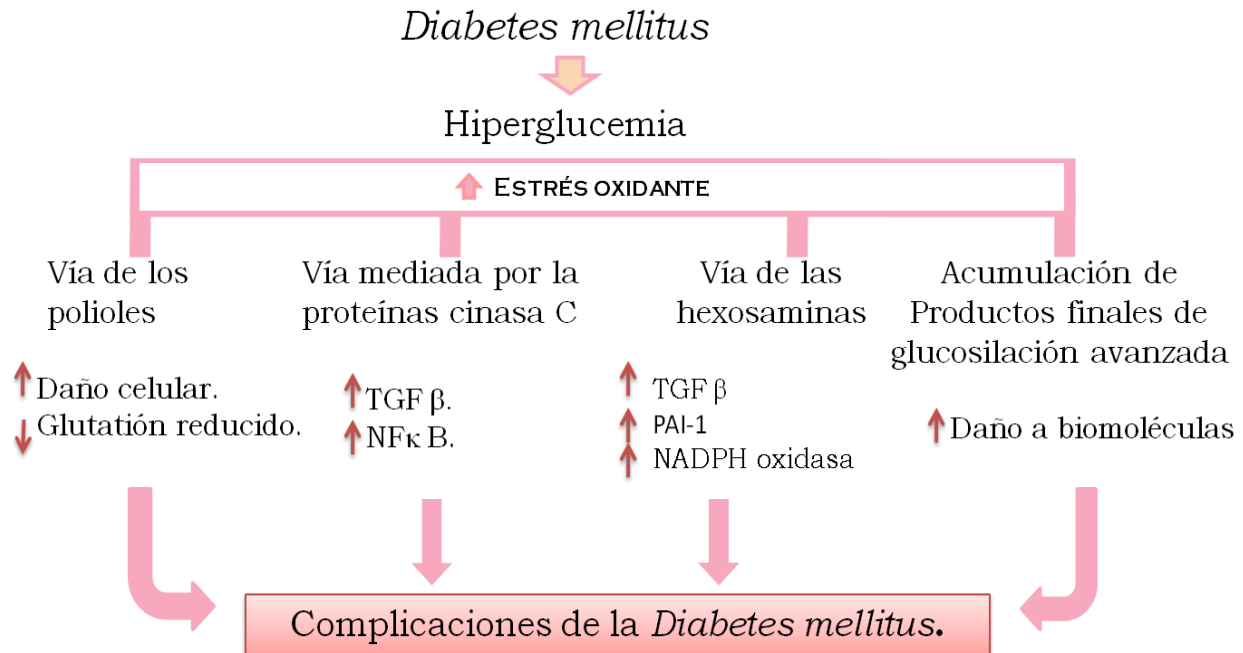


Figura 2. VÍAS DE DAÑO POR ESTRÉS OXIDANTE INDUCIDAS POR HIPERGLUCEMIA EN DM. En la **vía de los polioles** la glucosa es reducida a sorbitol con el consumo de NADPH. La disminución del NADPH impacta a las enzimas que requieren NADPH para su actividad y a las moléculas que dependen de esta coenzima para sus síntesis como el caso del glutati6n reducido (GSH), una de las principales moléculas antioxidantes implicada en la eliminaci6n de los radicales libres. Adem6s, el sorbitol generado es oxidado a fructosa generando NADH, lo que incrementa el cociente NADH/NAD⁺ que favorece la sntesis *de novo* de diacilglicerol (DAG), el principal est6mulo regulador de la prote6na cinasa C (PKC). **La activaci6n de la v6a mediada por la PKC** puede actuar por diversos mecanismos con efectos como el incremento de c6lulas endoteliales, el aumento de la permeabilidad y el flujo vascular, la disminuci6n de captaci6n de se6ales de relajaci6n dependiente del endotelio y estimulando la transcripci6n de prote6nas de matriz extracelular, entre otros efectos. La acumulaci6n de fructosa por la v6a de los polioles, contribuye a la activaci6n de **la v6a de las hexosaminas** por la cual la fructosa se convierte en difosfato de N-acetil glucosamina. El aumento del flujo de esta v6a, favorece la estimulaci6n de la expresi6n de algunos genes como TGF-β y el del inhibidor del activador del plasmin6geno-1 (PAI-1). Adem6s en esta v6a se incrementa la actividad de la NADPH oxidasa, que genera el radical super6xido (O₂⁻). **Por otra parte en la glucosilaci6n no enzim6tica de prote6nas** ocurre la formaci6n de los productos finales de glucosilaci6n avanzada (AGEs), los cuales son capaces de modificar prote6nas, l6pidos y 6cidos nucleicos y se generan especies reactivas de oxigeno (como el O₂⁻).

Como característica común, las vías anteriores conducen a un incremento del estrés oxidante, el cual se define como un desequilibrio ocasionado por la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (EROs) y/o por la disminución de la capacidad del sistema antioxidante (*Rojas et al., 2005; Maritim et al., 2003; Baynes, 1991; Díaz-Flores et al., 2004; Flores, 2005; Jakus, 2000; Nishikawa et al., 2000; Balderas y Méndez, 1998; Hicks et al., 2006*).

El daño por estrés oxidante en los organismos puede actuar de forma directa (oxidando a biomoléculas como lípidos, proteínas, carbohidratos y nucleótidos) o indirecta (induciendo el desequilibrio homeostático), lo cual produce daño y, tarde o temprano, la muerte celular (*Baynes, 1991; Nishikawa et al., 2000; Flores, 2005*).

5. Daño inducido por estrés oxidante en la diabetes

Como se ha mencionado, un rasgo común de las vías anteriores inducidas por la hiperglucemia es el incremento en el estrés oxidante, mediado por la mayor producción de especies reactivas (como el $O_2^{\bullet-}$ y H_2O_2 entre otros) y/o por la disminución de la capacidad del sistema antioxidante (*Díaz-Flores et al., 2004; Flores, 2005; Hicks et al., 2006*).

Las especies reactivas de oxígeno son capaces de interactuar con otras especies e inducir daño, por ejemplo, el $O_2^{\bullet-}$ puede interactuar con el radical óxido nítrico (NO^{\bullet}) y formar peroxinitrito ($ONOO^-$), la cual es una especie que puede inducir daño al modificar a biomoléculas; además, esta interacción inactiva el NO^{\bullet} , reduciendo la vasodilatación endotelial dependiente del NO^{\bullet} . La alteración en la bioactividad del NO^{\bullet} se relaciona íntimamente con el desarrollo de enfermedad

aterosclerótica (Pons, 2007; Iribarra et al., 2000). Por otra parte, el $O_2^{\bullet-}$ puede reducirse parcialmente a peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el cual es capaz de difundir a través de las membranas celulares e inducir la formación del radical hidroxilo (OH^{\bullet}), el cual es altamente reactivo y es capaz de interactuar directamente con componentes celulares (Figura 3; Díaz-Flores et al., 2004; Flores, 2005; Hicks et al., 2006).

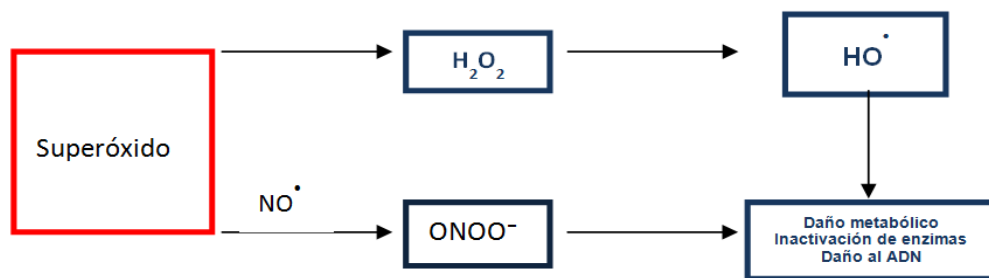


Figura 3. DAÑO METABÓLICO MEDIADO POR EROS

Con relación a las complicaciones de la DM, se admite que la hiperglucemia, la generación de EROs y la disminución en el sistema antioxidante contribuyen de forma significativa a las disfunciones endoteliales que caracterizan a las microangiopatías y macroangiopatías. También, se han implicado en algunas repuestas mutagénicas y en la apoptosis, además, en el daño biológico como la peroxidación de los lípidos, oxidación de proteínas y alteraciones al DNA (Díaz-Flores et al., 2004; Flores, 2005; Balderas y Méndez, 1998).

Se ha demostrado que la diabetes y las complicaciones derivadas de ésta, se asocian con el aumento de estrés oxidante (Rojas et al., 2005; Baynes., 1991; Jakus, 2000). Por ejemplo, en trabajos previos se ha establecido la marcada

participación de la interacción entre los lípidos oxidados (oxidación mediada por la interacción los lípidos con radicales libres) de lipoproteínas de baja densidad (LDL por sus siglas en inglés "*Low Density Lipoprotein*") con las paredes arteriales, la disfunción vascular, el desarrollo de aterosclerosis y el incremento de riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares en pacientes con diabetes (Jara, 2011; Balderas y Méndez, 1998). Por otra parte, también se ha sugerido que el aumento de estrés oxidante y la disfunción vascular juegan un papel importante en el desarrollo de microangiopatías como la ND (Cannoge, 1999; Pons, 2007; Giugliano et al., 1996; Vasavada y Agarwal, 2005; Escolar et al., 2001).

En la diabetes, frecuentemente aparecen dislipidemias; existe un aumento de los niveles de colesterol total, colesterol ligado a LDL, triglicéridos totales, así como disminución de lipoproteínas de alta densidad (HDL, por sus siglas en inglés "*High Density Lipoprotein*"; Jara, 2011); evidenciando que ocurren cambios que no sólo son causantes de la aterosclerosis de las grandes arterias, sino también del daño endotelial de las pequeñas arterias (Escolar et al., 2001; Giugliano et al., 1996; Pons, 2007).

El estrés oxidante inducido por la hiperglucemia crónica en la diabetes y el daño vascular por la vía de oxidación de lípidos, podría explicar en cierta medida la susceptibilidad que presentan los pacientes diabéticos a algunas complicaciones, como la ND y la aterosclerosis (Pons, 2007; Li y Gu, 2009). Algunas otras evidencias que apoyan esta idea son las muestras histológicas de biopsias renales de pacientes con DMT2 en las que se observa mayor lipoperoxidación respecto a los individuos sin diabetes (Pons, 2007).

Al respecto, en estudios previos como los de Scheffer *et al.* (2003) y Phillips *et al.* (2005) se ha demostrado un incremento en la circulación de LDL oxidadas (LDL ox) en pacientes con DMT2 y en especial en pacientes con ND (Li y Gu, 2009; Scheffer *et al.*, 2003; Phillips *et al.*, 2005).

El incremento en la circulación de LDL ox, podría en parte ser favorecido por la disminución de la actividad antioxidante ejercida por las HDL, en pacientes diabéticos (Scheffer *et al.*, 2003; Phillips *et al.*, 2005).

6. Estudio de factores genéticos implicados en la DMT2

La DMT2 es una enfermedad compleja y su etiología se considera multifactorial, involucrando factores ambientales y genéticos, con una mayor incidencia de diabetes (Jara, 2011). En el estudio de las bases genéticas de enfermedad se busca establecer una relación entre el genotipo y el fenotipo. Donde se ha cobrado interés por los polimorfismos (variantes genética, que puede ocurrir tanto en regiones intragénicas como en regiones extragénicas, y que aparece al menos en el 1% de los cromosomas de una población (Rodríguez, 2011; Sirgo *et al.*, 2003; Daly y Day, 2001). Entre los polimorfismos, los cambios de un sólo nucleótido

en la secuencia de DNA (denominados SNP's por sus siglas en inglés "Single Nucleotide Polymorphism") son las formas más comunes (aparecen alrededor de cada 600 a 1,000 pares de bases; Daly y Day, 2001). Algunos polimorfismos son responsables de modificaciones en las proteínas (en el caso de los SNP's, el cambio es producido al cambiar la codificación de un aminoácido, resultado de la variación de un solo nucleótido) aunque también puede afectar el patrón de expresión de los genes (Rodríguez, 2011; Sirgo *et al.*, 2003). En la búsqueda de

polimorfismos de genes asociados con la diabetes aún quedan varios aspectos por analizar, como podrían ser la relación de algunos polimorfismos de enzimas antioxidantes y el incremento del estrés oxidante implicado en complicaciones metabólicas. En estudios previos se ha demostrado que la actividad de algunas enzimas antioxidantes se correlaciona con la presencia de algunos polimorfismos (*Flekac et al., 2008a; Mak et al., 2007*) como es el caso de la paraoxonasa 1 (*Flekac et al., 2008b; Agachan et al., 2004*).

7. Paraoxonasa

Las paraoxonasas son un grupo de enzimas de importante papel protector en las células. En los humanos son codificadas por una familia de genes localizadas en el cromosoma 7 (*Goswami et al., 2009*). La más estudiada ha sido la paraoxonasa 1 (PON1) una enzima esterhidrolasa, codificada por el gen *pon1*. La *PON1* es una enzima homodimérica dependiente de calcio, de 354 aminoácidos y 43 kDa, que fue descubierta por su capacidad de hidrolizar compuestos organofosfatados; más tarde fue identificada en suero sanguíneo humano. Esta proteína es sintetizada en hígado y secretada a la sangre, donde se asocia de forma específica con las HDL (*La Du et al., 1999; Harel et al., 2007; Goswami et al., 2009*). Además de ser capaz de hidrolizar compuestos organofosfatados, la PON1 reduce los niveles de lípidos oxidados de LDL (condición implicada en el inicio y progresión de la aterosclerosis; *Goswami et al., 2009; La Du et al., 1999*). La PON1 también metaboliza peróxidos de esteres de colesterol y estimula el flujo del colesterol de macrófagos (*La Du et al., 1999; Goswami et al., 2009; Rosenblat et al., 2005; Rozenberg et al., 2003*).

8. Polimorfismos de PON1

Hasta el momento, se han descrito 6 polimorfismos en el gen que codifica para la PON1, cuatro en la región no codificante y dos en la región codificante. La variante genética rs662 (Q192R) en la región codificante se caracteriza por un cambio en el aminoácido 192 (de glutamina a arginina) de la proteína, debido a un cambio en un nucleótido (adenina por guanina). Este polimorfismo es responsable de una diferencia en la actividad hidrolítica de la enzima (*Goswami et al., 2009*).

El polimorfismo rs662 se ha relacionado con una disminución en la enzima PON1, en algunas poblaciones, este polimorfismo se asocia a diabetes (*Goswami et al., 2009; Agachan et al., 2004; Ikeda et al., 1998*) y a sus complicaciones (*Flekacet et al., 2008a; Ikeda et al., 1998*), como insuficiencia renal crónica (*Zhang et al., 2003; Ichikawa et al., 2009; Flekac et al., 2008b*) y en enfermedades vasculares (*Bhaskar et al., 2011; Aviram et al., 2000*), en accidentes cerebro vasculares en la población general (*Sentí et al., 2001; Costa et al., 2001*) y riesgo significativo para otras enfermedades como Alzheimer (*Goswami et al., 2009*), mientras que para otras poblaciones no se encontró asociación significativa. Respecto a la frecuencia del polimorfismo rs662 algunos investigadores han determinado la frecuencia alélica de la población mexicana con valores de 0.5 para cada alelo (*Gamboa et al., 2008; Rojas-García et al., 2005*).

JUSTIFICACIÓN

La diabetes representa un de los principales problema de salud en México. Su elevada prevalencia crece año con año e implica grandes gastos económicos y emocionales para las personas con diabetes y para sus familias. La aparición de las complicaciones derivadas de la DM disminuye la calidad y la esperanza de vida de las personas que las padecen de manera importante. Lo que la ha llevado a situarse en la segunda causa de muerte en México (*ENSANUT, 2012*).

El encontrar marcadores genéticos que asocien a la DMT2 y sus complicaciones en este caso la ND en la población mexicana, permitirá la identificación de sujetos de riesgo de manera temprana, evitando o retrasando la aparición de la enfermedad mediante el establecimiento de medidas de prevención individualizadas, las cuales impactarán de manera directa en los programas de salud, las políticas de atención primaria, la disminución de los costos que representa esta enfermedad y en la calidad de vida de los pacientes.

Es por ello que en este proyecto se planeó estudiar la asociación del polimorfismo Q192R rs662 del gen de PON1 en pacientes mexicanos con DMT2 y ND con el fin de aumentar el entendimiento del desarrollo de la enfermedad y/o el de sus complicaciones.

HIPÓTESIS

En una muestra de la población de la República Mexicana existe asociación del polimorfismo Q192R rs662 con DMT2 y con ND

OBJETIVO GENERAL

Determinar si existe asociación entre la presencia del polimorfismo Q192R rs662 y la DMT2 y /o la ND en una muestra de la población de la República Mexicana

Objetivos particulares

1. Determinar la actividad paraoxonasa en la muestra de estudio.
2. Determinar la frecuencia del polimorfismo rs662 en la muestra de estudio.
3. Determinar asociación entre el polimorfismo rs662 y la actividad paraoxonasa en la muestra de estudio.

MÉTODOS

I. Reclutamiento y caracterización clínica de los controles y pacientes.

Para el desarrollo de este estudio se trabajó en colaboración con el Departamento de investigación en el laboratorio de “Medicina Genómica” en el Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos (ISSSTE) a cargo de la Dra. Martha Eunice Rodríguez.

Los individuos que participaron en el estudio fueron captados a través de los servicios de hospitalización, de la Unidad de Nefrología, de la Clínica de Detección y Diagnóstico Automatizado (CLIDDA), de la Unidad de Control de Diabetes por etapas de la Clínica Familiar Ignacio Chávez (ISSSTE).

Se trabajó con una muestra de 598 individuos denominados caso y controles, siguiendo los parámetros definidos en el siguiente esquema (Figura 4).

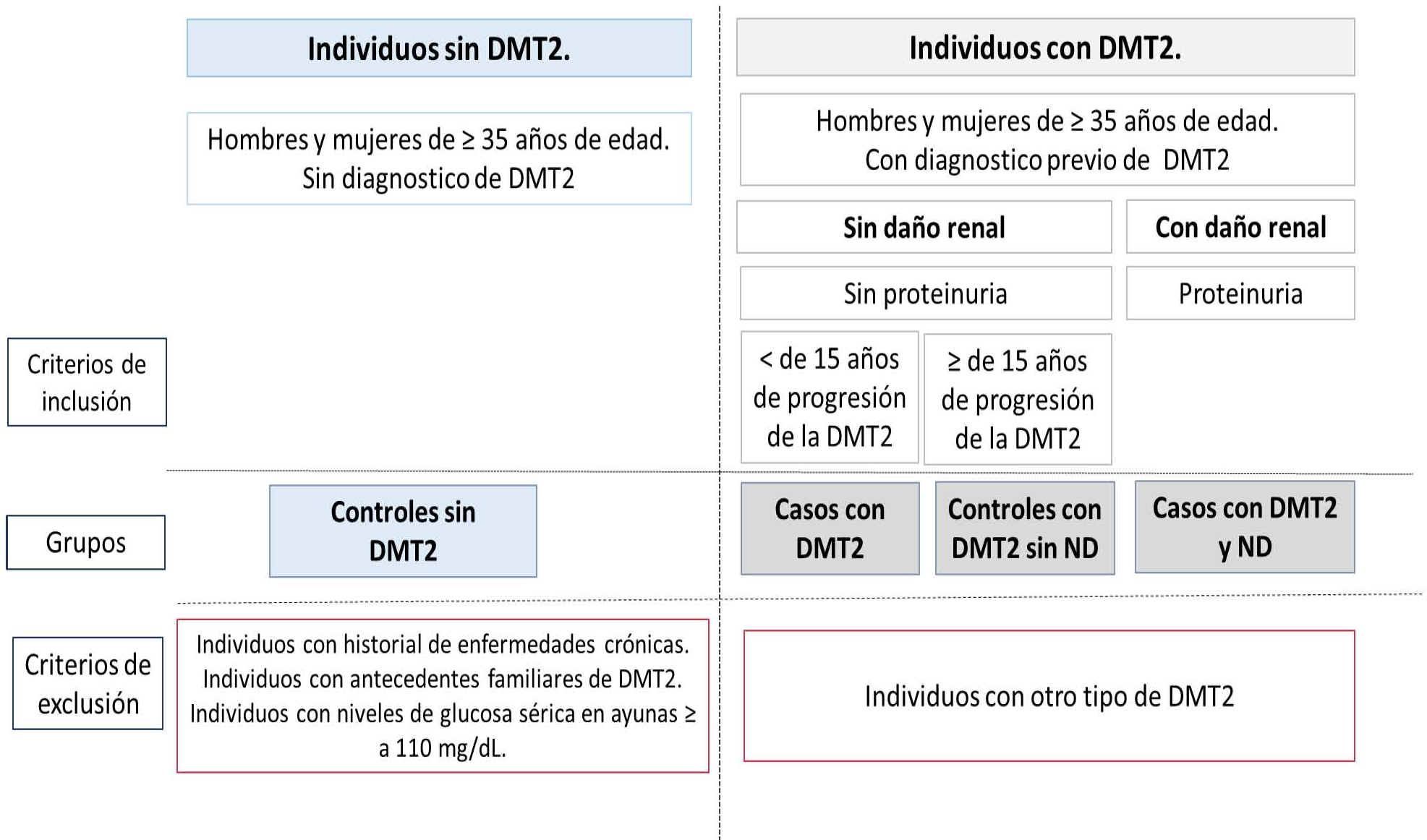


Figura 4. DIAGRAMA DE PARÁMETROS PARA SELECCIÓN DE CASOS Y CONTROLES.

A los participantes se les solicitó que firmaran un consentimiento informado, con lo que aceptaron participar en el proyecto. Se les aplicó un cuestionario, para obtener información demográfica, antecedentes familiares y personales de enfermedades (diabetes y/o complicaciones y otras enfermedades), actividad física, consumo de alcohol, tabaco y consumo de medicamentos. De su historial médico se tomaron datos del peso (kg), estatura (m), nivel promedio de glucosa en sangre y de creatinina en plasma y tasa de excreción de proteínas en orina. Los individuos participantes son Mexicanos, originarios de distintos estados de la República mexicana (Distrito Federal, Puebla, Tlaxcala, Morelos, Estado de México, Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Chiapas, Campeche, Chihuahua, Jalisco, Durango, Nuevo León, Sinaloa, Tamaulipas, Nuevo León, Colima, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, Zacatecas, San Luis Potosí, Tabasco, Aguascalientes, Coahuila, Nayarit y Sonora).

II. Recolección de sangre

A los participantes del estudio se les extrajeron 20 mililitros de sangre venosa (en ayuno de al menos 8 horas) en cuatro tubos de 5 mililitros, dos de estos se destinaron para la determinación de colesterol total, triglicéridos totales, HDL, LDL y glucosa en plasma. Los otros dos tubos de muestra de sangre se utilizaron uno para la obtención de DNA y el otro para medir la actividad de la enzima paraoxonasa.

III. Genotipificación

La genotipificación se realizó utilizando hibridación de oligonucleótidos alelo específico con PCR en tiempo real (Real-time PCR genotyping assay) (*Wong et al., 2003*). En esta técnica se cuenta con dos sondas específicas para los alelos de

interés marcadas con fluorocromos diferentes (marcada con FAM para los alelos mutantes, y VIC para los alelos silvestres). Cada una de las sondas tiene un oligonucleótido con secuencia específica y, además, una molécula reportera en la región 5' y una molécula de acción apagadora en posición 3'. Esta técnica utiliza el sistema TaqMan® que se basa en la actividad exonucleasa 5'-3' de la Taq ADN polimerasa, la que actúa durante en la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real. Una vez que se alinearon las sondas a la secuencia de DNA, se realiza el rompimiento de la molécula apagadora por la acción exonucleasa y ocurre la emisión de la fluorescencia (*Wong et al., 2007*). Para la técnica descrita se utilizó un equipo PCR en tiempo real. Por reacción se utilizaron 12.5 µl del TaqMan® Universal MásterMix (que incluye el coctel enzimático necesario para las reacciones y una mezcla de mononucleótidos 36 µM), las sondas TaqMan (8 µM) y aproximadamente 20 ng de DNA genómico. El volumen se ajustó a 25 µl con agua.

IV. Actividad PON1

A las muestras se les determinó la actividad PON1 en suero sanguíneo humano por dos métodos.

a) Actividad PON

Se denomina actividad paraoxonasa o PON, a la habilidad de la enzima paraoxonasa1 de hidrolizar enlaces esteres de órganofosfatos. Ésta se determinó de forma indirecta al cuantificar la formación del producto el "paranitrofenol" en el espectrofotómetro a 412 nm en muestras de suero a las que se les agregó paraoxón (Dietil p-nitrofenilfosfato). Para este protocolo se utilizaron 12.5 µl de suero de sangre en 0.5 ml de amortiguador glicina 50 mM,/NaOH, pH 10 que contiene CaCl₂

1 mM al que se le agregaron 0.15 μ l de paraoxón (O-O-difenil-O-p nitrofenilfosfato).

La tasa de generación de p-nitrofenol se determinó en un espectrofotómetro a 412 nm a 25°C de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Actividad} = \frac{(4.1) (\Delta \text{DO})}{\epsilon} \times 10^7 \times \text{dilución de muestra}$$
$$\epsilon_{\text{paraoxon}} = 18\,290 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

b) Actividad ARE

La enzima PON1 es también capaz de hidrolizar diversos esteres de compuestos aromáticos. A esta capacidad se le denomina actividad arilesterasa o ARE y es evaluada por la formación de p-nitrofenol en un espectrofotómetro a 270 nm a 25°C en muestras de sangre humana a las que se les agregó fenilacetato. La actividad arilesterasa se determinó en suero sanguíneo (5 μ l) en amortiguador Tris/HCl y CaCl_2 mmol, al que se le adicionaron 1.27 μ l de fenilacetato. La tasa de generación de la actividad ARE se determinó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Actividad} = \frac{(1.01) (\Delta \text{DO})}{\epsilon} \times 10^5 \times \text{dilución de muestra}$$
$$\epsilon_{\text{Fenilacetato}} = 13\,10 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

V. Análisis estadístico

Sé realizó un análisis descriptivo a todas las variables. Las variables continuas se expresaron como la media \pm desviación estándar y las variables categóricas en frecuencias (porcentajes).

Se aplicó la prueba la t de Student, análisis de la χ^2 y análisis de varianza (acompañado de una prueba de Bonferroni) para contrastar diferencias significativa entre los parámetros.

Para el análisis de asociación se determinó el equilibrio de Hardy-Weinberg y utilizando la prueba de χ^2 se evaluó la asociación de los genotipos y los distintos parámetros, se realizó un análisis de correlación Pearson para evaluar las variables continuas.

Se realizaron análisis de regresión lineal y logística para determinar como algunas variables con las que se trabajó influyeron en la actividad enzimática (paraoxonasa y arilesterasa) y en la presencia de la DMT2 y en la ND dentro de los grupos de comparación establecidos.

En todos los casos se consideró diferencia estadística cuando el valor de P fue menor a 0,05. Para estos análisis se utilizó el programa estadístico STATA/SE 12.0. y el programa estadístico EpiInfo2007.

Resultados

Los datos descritos provienen de la información que los individuos proporcionaron, de datos que se recolectaron de su historial médico y del procesamiento de muestras biológicas.

Grupo Caso - Control

Debido a que se requirió asociar la frecuencia del polimorfismo rs662 con la diabetes y la nefropatía diabética, se subdividió el grupo.

El primer subgrupo se estudió el efecto del polimorfismo rs662 y la diabetes. Con este fin, en este subgrupo incluyó a individuos con DMT2 (individuos con diagnóstico de DMT2 previo al estudio, sin proteinuria y con un tiempo de progresión de la enfermedad menor a 15 años) y se compararon con individuos sin DMT2, que cumplían los criterios establecidos en los métodos (Figura 4).

En el segundo subgrupo se evaluó la asociación del polimorfismo rs662 con la nefropatía diabética. Por lo que se incluyeron a pacientes con DMT2 y ND, los cuales se compararon con individuos con DMT2 sin ND con el mismo tiempo de evolución de la enfermedad.

Subgrupo 1. Pacientes con DMT2 – Controles

En total se incluyeron a 418 individuos (193 hombres y 226 mujeres) mexicanos originarios de distintos estados de la República.

I. Características

Como individuos control se incluyeron a 235 personas sin diagnóstico de DMT2. Respecto a los individuos con DMT2 se reunieron a 183 personas. En la *Tabla 1* se comparan las características de los controles y los pacientes con DMT2.

Tabla 1. Características de individuos control y de individuos con DMT2.			
Parámetros	Controles (n=235)	DMT2(n=183)	P
Edad (años)	47.5± 5.248	48.4± 5.8	0.0914
Sexo(hombres/mujeres)	110/125 (46% / 54%)	82/100 (45% / 55%)	0.722
IMC(peso/altura ²)	28.2 ±6.6	30.7 ±4.9	<0.001
Bajo peso	0(0%)	3 (2%)	0.009
Peso óptimo	50(21 %)	23 (13%)	
Sobrepeso	100 (43%)	71 (39%)	
Obesidad	84 (36%)	100 (46%)	
Hipertensión	22 (9.4%)	47 (6.38 %)	<0.001
Tabaquismo	59 (25.11%)	61 (33.5%)	0.503
Alcoholismo	51 (28.02%)	46 (19.57%)	0.09

En los parámetros de la edad, proporción de hombres y mujeres, número de individuos con alcoholismo y tabaquismo no se encontraron diferencias (ver *Tabla 1*). Esto es importante ya que la prevalencia de DMT2 se puede asociar a cierta medida a estos parámetros. El hecho de que estas características sean similares es de especial importancia en la selección del grupo control, ya que nos permite inferir que el que estos individuos no presenten la enfermedad no se debe a que tiene hábitos sanos, son más jóvenes o porque existen diferencias en la proporción de hombres y mujeres en las muestras. Otro factor que se consideró en la selección del grupo control, fue la inexistencia de antecedentes heredofamiliares de la enfermedad en al menos tres generaciones.

Por otra parte, el IMC es un indicador nutricional que nos dice si una persona tiene un peso bajo, peso óptimo o problemas de sobrepeso y obesidad. Esto resulta relevante al considerar que el sobrepeso y la obesidad son factores de riesgo para el desarrollo de DMT2, entre otras enfermedades. En México la prevalencia de sobrepeso u obesidades aproximadamente el 69%. Esta tendencia se observó en este estudio, en donde más del 70% de los participantes presentaron sobrepeso u obesidad. Además de los anterior, es interesante considerar que en el análisis de correlación de Pearson en los sujetos controles, se encontró que al aumentar el IMC aumenta la frecuencia de los niveles elevados de LDL (Apéndice 1, Gráfica 1) y disminuye la frecuencia de los niveles elevados de HDL (Apéndice 1, Gráfica 2).

II. Parámetros bioquímicos

En la *Tabla 2* se comparan los resultados de los niveles séricos de glucosa, triglicéridos, colesterol total, HDL, LDL y creatinina en ayunas.

Parámetro	Controles(n)	DMT2 (n)	P
Glucosa en ayunas	92±9.3(227)	144 ±61.40 (174)	<0.001
Triglicéridos	178.95 ±86.3(226)	228.27 ±144.5 (171)	<0.001
Colesterol total	196.43 ±44.64(226)	199.42 ±38.77 (171)	0.4827
HDL	47.91 ±11.08(226)	44.08± 10.17 (172)	<0.001
LDL	100±44.70 (221)	137 ±50.29 (152)	<0.001
Creatinina (mg/dl)	0.83±.4(221)	1± 0.67 (152)	0.498

Donde se muestra que los individuos con DMT2 presentaron niveles promedio elevados de glucosa sérica, triglicéridos y de LDL, así como disminuidos de HDL al compararse con los controles. Además, en los individuos con DMT2 se encontró una correlación negativa entre los niveles de triglicéridos y los niveles de HDL (Apéndice 1, Gráfica 3) y una correlación positiva entre los niveles de LDL y la edad (Apéndice 1, Gráfica 4).

Lo anterior nos da indicios de un control deficiente de la enfermedad, al considerar que estos sujetos presentaron hiperglucemia, dislipidemias (caracterizadas por incremento de triglicéridos y disminución HDL, así como aumento de LDL con el incremento de la edad) y obesidad. Lo que eleva el riesgo al desarrollo de complicaciones derivadas de la DM.

III. Actividad enzimática de la paraoxonasa

La actividad enzimática se midió por métodos espectrofotométricos utilizando 2 sustratos diferentes, el paraoxón y el fenilacetato. La *Tabla 3* resume los resultados de la actividad enzimática en el grupo. Donde se observa que los individuos con DMT2 tiene una actividad disminuida al compararse con los individuos controles.

Tabla 3. Actividad enzimática paraoxonasa y arilesterasa en individuos controles y con DMT2.			
Parámetro	Controles(n)	DMT2 (n)	P
Actividad Paraoxonasa	154±68.6(163)	106±43.9(180)	<0.001
Actividad Arilesterasa	110.92± 28.75(163)	88.75±25.3(180)	<0.001

El análisis de correlación (ver Apéndice 1, *Tabla 1* “Correlación de Pearson en individuos con DMT2” y *Tabla 2* “Correlación de Pearson en individuos sin diabetes”)

se reveló una correlación positiva ($p < 0.01$) entre la actividad enzimática utilizando los dos sustratos tanto en individuos control como en individuos con DMT2 (Apéndice 1, Gráfica 5 y Gráfica 6). Además, en individuos controles la actividad enzimática se correlaciona de manera negativa con la edad.

IV. Frecuencia genotípica y alélica.

La frecuencia alélica y genotípica del polimorfismo rs662 de PON1 de los individuos control y con DMT2 se presenta en la *Tabla 4* en la cual se determinó que los individuos se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg.

Tabla 4. Frecuencia alélica y genotípica.			
		Controles	DMT2
Alelo/Aminoácido	A/192Q	0.509	0.524
	G/192R	0.491	0.476
Genotipo/Aminoácidos	AA/192QQ	0.327	0.316
	AG/192QR	0.477	0.465
	GG/192RR	0.196	0.219
Se encuentra en equilibrio de Hardy-Weinberg ($\chi^2 = 0.445, P = 0.8004$)			

Que los grupos de estudio este en equilibrio Hardy-Weinberg significa que no hay cambios en la proporciones genéticas. Es decir que estas no están siendo alteradas por procesos como la deriva génica o mutaciones, migraciones o el tamaño inadecuado de los grupos (originado por el muestreo), condiciones que pueden alterar el pool genético. Por tanto, que los grupos de estudio estén en equilibrio permite decir que tienen las características necesarias para la comparación. Los cálculos se desarrollan a partir del binomio al cuadrado " $(p+q)^2 = p^2 + 2pq + q^2$ ". Donde p y q representan las frecuencias alélicas. El análisis estadístico que suele aplicarse es el test de chi-cuadrado (χ^2) el cual se calcula con la siguiente fórmula:

$$x^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(O - E)^2}{E}$$

Así al final se determina si el valor es significativo, para estose utilizó el programa **STATA/SE 12.0**.

Respecto a la frecuencia determinadas en este trabajo para el polimorfismo Q192R rs662 del gen de PON1 esta fue similar a las informadas por *Gamboa et al.(2008)* y *Rojas-García et al.(2005)* para la población mexicana. Estos autores han informado una frecuencia de 0.51a 0.53 para el alelo A que codifica para el aminoácido glutamina en la posición 192 (192Q) y una frecuencia de 0.49 a 0.47 para el alelo G que codifica para el aminoácido arginina en la posición 192 (192R).En relación al genotipo y la actividad paraoxonasa (considerando la actividad determinada utilizando como sustrato paraoxón) en este subgrupo se encontró la menor actividad para el genotipo 192QQ y la mayor actividad para los individuos 192RR(*Tabla 5*). En el análisis para la comparación por genotipo encontró diferencia entre la actividad de los genotipos 192QQ- 192RR y 192QR – 192RR (*Tabla 6*).

Tabla 5. Análisis de varianza en el grupo de individuos sin y con DMT2.				
Actividad paraoxonasa	Genotipo	Promedio ± DE	F	P
(µmol de p-nitrofenol formado/min/mL de suero)	192QQ	91.02 ±36.36	7.73	<0.001
	192QR	99.05 ±41.55		
	192RR	114.99±46.63		
F :Fisher exacto				

Tabla Bonferroni	6.Análisis Comparación por Genotipo.
	Genotipo 192QQ Genotipo192QR P 0.33

Actividad paraoxonasa (µmol de p-nitrofenol formado/min/mL de suero).	Genotipo 192QQ	Genotipo 192RR	P <0.00
	Genotipo 192QR	Genotipo 192RR	P 0.021

V. Modelos de regresión lineal múltiple para la actividad enzimática

Considerando los resultados obtenidos y la información referida en literatura se propuso dos modelos para relacionar la actividad enzimática (uno para la actividad paraoxonasa y otra para la actividad arilesterasa) con algunas de las variables analizadas en este trabajo. En ambos modelos las variables consideradas fueron, el genotipo (donde se consideró un modelo aditivo, en el que el alelo que codifica para el aminoácido glutamina fue el factor de riesgo sumativo), el sexo (hombres/mujeres), la edad de los individuos, el IMC, el tabaquismo, los niveles de triglicéridos, colesterol total, HDL y glucosa, la presencia de DMT2, el tiempo de evolución de la enfermedad y la interacción de los niveles de HDL y el IMC. Los resultados del análisis de regresión lineal para asociar la actividad paraoxonasa (sustrato paraoxón) se presentan en la *Tabla 7*.

Variables	Coefficiente de correlación	Significancia (P)
Genotipo *	0.1402635	0.000
Edad	-0.0020187	0.606
Sexo	0.0823772	0.075
DMT2	0.4018689	0.000
Evolución de la DMT2	0.0055716	0.575
IMC	0.0432973	0.006
Tabaquismo	-0.0285338	0.563
Glucosa	0.0001166	0.821
Triglicéridos	0.0001115	0.582
Colesterol total	0.0003215	0.559
HDL	0.0281086	0.017

HDLxIMC	-0.0010138	0.012
R²=0.2827		
*Modelo aditivo en donde el alelo de riesgo es el 192Q		

Donde se observa un coeficiente de determinación bajo, que indica que el 28.27% de la actividad paraoxonasa se podría explicar respecto a las variables propuestas. Otro aspecto importante, son los coeficientes de correlación de las variables, que en este caso presentan un bajo grado de relación lineal con la actividad paraoxonasa.

Para la actividad arilesterasa los resultados del análisis de regresión lineal se presentan en la *Tabla 8*.

Tabla 8. Análisis de regresión lineal múltiple del modelo propuesto para asociar la actividad arilesterasa (sustrato fenilacetato) y otras variables en individuos controles y con DMT2.		
Variables	Coeficiente de correlación	Significancia (P)
Genotipo	0.0853482	0.0465551
Sexo	0.1011800	0.1622564
Edad	0.0027963	0.0023796
IMC	0.0290674	0.0039543
Glucosa	-0.0004160	0.0010977
Triglicéridos	0.0000962	0.0001719
Colesterol total	0.0004383	0.0002922
HDL	0.0200697	0.0045877
DMT2	-0.1943228	0.2757726
Evolución de la DMT2	-0.0022966	0.0154267
HDLxIMC	-0.0006699	0.001203
Tabaquismo	0.0655612	0.0003108
R ² =0.2727		
*Modelo aditivo en donde el alelo de riesgo es el 192Q		

De acuerdo a los resultados, las variables podrían explicar la actividad arilesterasa en un 27.27 %. También es importante mencionar que como en el caso anterior, se

muestra un bajo coeficiente de correlación entre las variables y la actividad arilesterasa.

VI. Asociación entre el genotipo y DMT2

No se encontró asociación entre los genotipos y la DMT2 (*Tabla 9*).

Tabla 9. Asociación del genotipo con la DMT2.			
Genotipo	AA	AG	GG
DMT2			
χ^2	0.0539	0.0605	0.3275
P	0.8163467	0.8057781	0.56713887

VII. Asociación entre el genotipo y los parámetros bioquímicos

En el análisis de asociación del genotipo y los parámetros bioquímicos se evaluaron los niveles elevados de triglicéridos (>150mg/dL), colesterol (>200 mg/dL), LDL (>130 mg/dL) y niveles disminuidos de HDL (<40 mg/dL) (*Apéndice 1, Tabla 3*). Se determinó asociación en los niveles de colesterol total y el genotipo AG (donde se tiene el mayor número de individuos con niveles elevados de colesterol total) y el genotipo GG (donde se tiene el menor número de individuos con colesterol total elevados).

VIII. Modelo de regresión logística para la DMT2

Se planteó un modelo de regresión logística para estimar la relación o asociación de la prevalencia de DMT2 y algunas de las variables de este trabajo. Las variables consideradas para el modelo fueron: la actividad enzimática (paraoxonasa y arilesterasa), el genotipo (consideró un modelo aditivo, en el que el alelo que codifica para el aminoácido glutamina fue considerado como un factor de riesgo sumativo), el sexo, la edad, el IMC, el tabaquismo, los niveles de triglicéridos, el colesterol total

HDL, LDL, interacción entre el IMC y los niveles de HDL. Los resultados se presentan en la *Tabla 10*.

Tabla 10. Análisis de regresión logística del modelo propuesto para asociar a DMT2 y otras variables		
Variables	Odds Radio	P
Actividad Arilesterasa	0.9860677	0.060
Actividad Paraoxonasa	0.9797476	0.000
Genotipo	1.734627	0.031
Sexo	0.3261035	0.007
Edad	1.010007	0.775
IMC	1.161549	0.415
Tabaquismo	0.859914	0.723
Triglicéridos	1.011535	0.000
Colesterol Total	0.9515792	0.000
HDL	1.044651	0.702
LDL	1.058443	0.000
HDLxIMC	0.9989449	0.779
Pseudo R2 = 0.4773: Prueba de bondad de ajuste Prob> Chi2 =0.3999		

Es importante hacer notar que en el análisis anterior, la asociación del genotipo (considerando un modelo aditivo en el que el alelo que codifica para glutamina es un factor de riesgo sumativo) presentó OR que indican que es posible se presente DMT2 asociada a este factor en una mayor proporción que en las personas que no lo presenten.

Subgrupo 2. Pacientes con DMT2 y ND-Pacientes con DMT2 sin ND

Este subgrupo lo conforman 184 individuos mexicanos (99 hombres y 85 mujeres) originarios de distintos estados de la República Mexicana.

I. Características

Como individuos con DMT2 sin ND se reunieron a 87 personas que de acuerdo con el curso de progresión de su enfermedad sirvieran como un buen grupo de comparación para los pacientes con ND.

En el grupo de individuos con DMT2 y ND se reunieron 97 individuos, la gran mayoría de estos sujetos son atendidos por insuficiencia renal crónica y con diálisis peritoneal o hemodiálisis en la Unidad de Nefrología del “Hospital Regional Lic. Adolfo López Mateos” del ISSSTE. En la *Tabla 11* se comparan las características de estos individuos.

Tabla 11. Características de individuos con DMT2sin ND y con ND.			
Parámetro	DMT2 sin ND	DMT2 con ND	P
Edad(Años)	59.4±7.7	60.6 ± 10.2	0.3503
Progresión(Años)	16.3±6.	18.5±7.2	0.45
IMC(Peso/Altura ²)	28.5± 4.9	28.3± 5.6	0.875
Bajo peso	0(0%)	1(1%)	0.807
Peso óptimo	23 (26.44%)	24 (25%)	
Sobrepeso	36(41.38%)	41 (42.7%)	
Obesidad	28(32.18%)	30 (31.25%)	
Hipertensión diagnosticada	49 (56.9 %)	87 (89.7%)	<0.001
Tabaquismo	26(29.89 %)	23 (23.71 %)	0.348
Alcoholismo	20(23 %)	14 (14.43 %)	0.177

No se encontró diferencia en los parámetros de la edad y en el tiempo de progresión de la enfermedad. Tampoco en el número de individuos que presentaron alcoholismo y tabaquismo. Lo anterior corrobora que en el grupo estos parámetros no están influyendo en la prevalencia de ND. Al comparar el IMC de estos pacientes no se

encontraron diferencia significativa y este es propio de un grupo con sobrepeso. Un parámetro en el que se encontró diferencia fue el del diagnóstico de hipertensión. En los individuados con ND se encontró el mayor porcentaje (87.9%) de hipertensión.

II. Parámetros bioquímicos.

En la *Tabla 12* se comparan los resultados de los niveles séricos de glucosa, triglicéridos, colesterol total, HDL, LDL y creatinina en ayunas.

Parámetro	DMT2 sin ND(n)	DMT2 con ND (n)	P
Glucosa en ayunas	139.2±48.1 (76)	133.4± 59.1(97)	0.4905
Triglicéridos	201.7±123.7 (59)	197.5±108.5 (87)	0.8288
Colesterol Total	204.3 ± 52.6 (58)	185.9 ± 57.6 (87)	0.0540
LDL	148.9 ± 46.9 (58)	118.8 ± 54.7 (87)	0.0036
HDL	44.9 ± 12.3 (58)	43.7 ± 16.9 (87)	0.6334
Creatinina sérica	0.8904 ± 0.37(25)	8.99 ±3.7 (67)	< 0.001

Tanto los individuos sin ND como los individuos con ND presentaron niveles de glucosa en sangre considerablemente elevados, lo que nos habla de un control deficiente de la enfermedad.

Los individuos con DMT2 sin ND presentaron niveles de triglicéridos y colesterol total y LDL mayores a los niveles recomendados (*Apéndice 1, Tabla 4*). Además, en estos individuos se encontró una correlación positiva en el IMC y los niveles de LDL(*Apéndice 1, Gráfica 1*).

Los individuos con ND presentaron niveles de triglicéridos mayores a los recomendados (>200mg/dL). Además, en estos sujetos los niveles de triglicéridos y colesterol total presentaron correlación positiva (*Apéndice, 1 Gráfica 8*).

Estos individuos presentaron proteinuria y tuvieron niveles de creatinina sérica considerablemente elevados al compararse con el grupo control. Además, se encontró correlación positiva en los niveles de creatinina y el IMC (*Apéndice 1, Gráfica 9*).

III. Actividad enzimática de la paraoxonasa

Los resultados de la actividad enzimática se presentan en la *Tabla 13*. Donde no se encontró una diferencias significativas, pero si una tendencia a la disminución de la actividad enzimática en los individuos con ND al compararse con los individuos sin ND.

Parámetro	DMT2 sin ND (n)	DMT2 con ND (n)	P
Actividad paraoxonasa	98.4 ± 36.1 (82)	88.3 ± 40.2 (97)	0.0807
Actividad arilesterasa	94.3± 32.7 (82)	85.8± 24.8 (97)	0.0554

En los resultados de las correlaciones de Pearson (*Apéndice1, Tabla 4*) se una correlación positiva en la actividad enzimática utilizando dos sustratos distintos en individuos sin ND (*Apéndice 1, Gráfica 6*).

La frecuencia alélica y genotípica del polimorfismo rs662 de los individuos sin ND y con ND se presenta en la *Tabla 14*.

		DMT2 sin ND	DMT2con ND
Alelos	A	0.5525	0.624
	G	0.4475	0.376
Genotipos	AA/QQ	0.335	0.402
	AG/QR	0.435	0.444
	GG/RR	0.23	0.154

Respecto al genotipo y la actividad paraoxonasa (utilizando sustrato paraoxón) en el subgrupo se encontró la menor actividad para el genotipo AA y la mayor actividad para los individuos GG (*Tablas 15 y 16*).

Tabla 15. Análisis de varianza en el grupo de individuos con DMT2 sin ND y con ND.				
	Genotipo	Promedio ± DE	F	P
Actividad paraoxonasa (µmol de p-nitrofenol formado/min/mL de suero).	192QQ	102.5 ± 44.7	21.85	<0.001
	192QR	123 ± 56.9		
	192RR	153.5± 78.5		
<i>F</i> valorde Fisher.				

Tabla 16. Análisis Bonferroni. Comparación por genotipo en individuos con DMT2 sin ND y con DMT2 y ND.			
Actividad paraoxonasa (µmol de p-nitrofenol formado/min/mL de suero).	Genotipo 192QQ	Genotipo 192QR	P 0.004
	Genotipo 192QQ	Genotipo 192RR	P <0.001
	Genotipo 192QR	Genotipo 192RR	P <0.001

IV. Modelos de regresión lineal múltiple para la actividad enzimática

Los modelos propuestos para explicar la actividad paraoxonasa y arilesterasa en individuos con DMT2 sin ND y con ND, consideraron las variables: genotipo (se utilizó un modelo aditivo, donde el aminoácido glutamina fue un factor de riesgo sumativo), el sexo (hombres/mujeres), la edad de los individuos, el IMC, el tabaquismo, el tiempo de evolución de la DMT2, la presencia de complicaciones retinopatía, neuropatías, nefropatía, el tratamiento renal sustitutivo(diálisis y hemodiálisis), los niveles de glucosa, triglicéridos, colesterol total y HDL.

En la *Tabla 17* se presenta el resultado del análisis de regresión lineal múltiple propuesto para relacionar la actividad paraoxonasa (sustrato paraoxón) con las variables del modelo.

Tabla 17. Análisis de regresión lineal multivariado del modelo propuesto para asociar la actividad paraoxonasa (sustrato paraoxón) y otras variables en pacientes con DMT2 sin ND y con ND.

Variabes	Coficiente de correlación	Significancia (P)
Genotipo	0.1632721	0
Sexo	0.0755537	0.28
Edad	0.0070559	0.078
Evolución de la DMT2	0.0000535	0.992
IMC	0.0019056	0.788
Tabaquismo	-0.1192263	0.114
Retinopatía	-0.0069733	0.924
Neuropatía	-0.0519721	0.447
Glucosa	-0.0004275	0.478
Triglicéridos	-0.0000723	0.823
Colesterol total	0.0003968	0.555
HDL	0.0011131	0.638
Nefropatía	0.1500319	0.25
Diálisis peritoneal o hemodiálisis	-0.3125567	0.014
R²=0.2184		

Se encontró que la actividad paraoxonasa puede ser explicada en un 21.84% con las variables propuestas por el modelo. También llama la atención que los coeficientes de correlación de las variables respecto a la actividad enzimática son considerablemente bajos.

En la *Tabla 18* se presenta el resultado del análisis de regresión lineal múltiple propuesto para relacionar la actividad arilesterasa.

Tabla 18. Análisis de regresión lineal multivariado del modelo propuesto para asociar la actividad arilesterasa (sustrato fenilacetato) y otras variables en pacientes con DMT2 sin ND y con ND.

Variabes	Coficiente de correlación	Significancia (P)
Genotipo	-0.0034191	0.928
Sexo	-0.0004282	0.994

Edad	0.0016814	0.612
Evolución de la DMT2	-0.0002353	0.957
IMC	0.0030801	0.602
Tabaquismo	0.0734987	0.241
Retinopatía	-0.0207956	0.734
Neuropatía	-0.0332417	0.559
Glucosa	0.0002503	0.618
Triglicéridos	-0.0001006	0.709
Colesterol total	0.0001285	0.818
HDL	0.0009177	0.641
Nefropatía	-0.0883393	0.416
Diálisis peritoneal o hemodiálisis	-0.0061835	0.953
R ² =0.0918		

De acuerdo a los resultados, el modelo muestra un coeficiente de determinación bajo (del 9.18%), además, también podemos decir que los coeficientes de correlación son bajos.

V. Asociación entre el genotipo y ND

Los resultados del análisis de asociación entre los genotipos y la DMT2 se presentan en la *Tabla 19*. Se puede observar que no se encontró asociación

Tabla 19. Asociación del genotipo con ND			
Genotipo	AA	AG	GG
ND			
Xi ²	0.924	0.0079	1.676
P	0.336228	0.929343	0.1953556

VI. Asociación entre el genotipo y los parámetros bioquímicos.

En los resultados de la asociación del genotipo y los parámetros bioquímicos (*Apéndice 1, Tabla5*) se encontró asociación en los niveles de triglicéridos y el genotipo AA (en este genotipo se presentó el mayor número de individuos con triglicéridos elevados) y asociación entre los niveles de HDL y los genotipos AA (en

este genotipo se presentó el mayor número de individuos con HDL disminuidos) y AG(en este genotipo encontró al mayor número de individuos con HDL elevados).

VII. Modelos de regresión logística para la ND

El modelo de regresión logística propuesto para estudiar la incidencia de ND considero las variables genotipo, actividad enzimática (paraoxonasa y arilesterasa), edad, sexo, tiempo de evolución de la enfermedad, IMC, hábito de tabaquismo, complicaciones derivadas de la DMT2 (retinopatía y neuropatía), niveles de glucosa , triglicérido, colesterol total y HDL. Los resultados se presentan en la *Tabla 20*.

Tabla 20. Análisis de regresión logística del modelo propuesto para asociar en pacientes sin y con ND y otras variables.		
Variabes	Odds Radio	P
Genotipo	7382102	0.306
Actividad arilesterasa	9890293	0.141
Sexo	7089464	0.433
Actividad paraoxonasa	9956065	0.413
Edad	044401	0.087
Tiempo de evolución de la DMT2	042555	0.193
IMC	03359	0.474
Tabaquismo	010722	0.982
Retinopatía	756813	0.001
Neuropatía	567236	0.292
Glucosa	001471	0.745
Triglicéridos	002395	0.245
Colesterol total	9926961	0.098
HDL	008072	0.634
Pseudo R2=0.2136. Prueba de bondad de ajuste Prob> Chi2 =0.5092		

Discusión

La DM se ha convertido en un problema de salud en México (*García-Castro y García-González, 2005; Arredondo y De Icaza, 2011*). De las 4 categorías en las que se clasifica, la DMT2 representa del 80 al 90% de los casos totales (*Jara, 2011*). Las complicaciones derivadas de la DM son la segunda causa de muerte en el país (ENSANUT 2012). Uno de las complicaciones más importantes en términos de costos y disminución en la calidad de vida es la ND, que consiste en una pérdida de la función renal de manera crónica e irreversible y es causada por una afectación en la microcirculación renal (*Arredondo y De Icaza, 2011; Torres y Zacarías, 2002*). Por lo que es importante el estudio de los factores asociados a la diabetes para prevenir su aparición y/o evitar el desarrollo de las complicaciones consecuentes.

Uno de los factores de riesgo implicado en el desarrollo de la diabetes es el sobrepeso y la obesidad. El riesgo relativo de padecer diabetes se incrementa 2.4 veces en hombres y 3.92 veces en mujeres con sobrepeso, mientras que la obesidad incrementa el riesgo relativo en 6.74 veces en hombres y en 12.41 veces en mujeres (*Prevención diagnóstica y tratamiento de sobrepeso y la obesidad exógena*). Lo anterior es importante al recordar que en el país el 69% de la población adulta presenta sobrepeso u obesidad. Esta incidencia se reflejó en los grupos de estudio, donde tanto en individuos control como en pacientes el porcentaje de sobrepeso u obesidad se encuentra por arriba del 70%.

Pero no sólo la obesidad y sobrepeso están implicados en el desarrollo de la DMT2, otros factores ambientales y genéticos juegan un papel importante en el desarrollo de la enfermedad. (*Jara, 2011*). En 1988 surgió la teoría de la existencia de un conjunto de

alteraciones que coexisten y/o preceden y son factores de riesgo para diabetes, enfermedades coronarias y cerebro vasculares. A estas en conjunto se les denominó “Síndrome metabólico” y consisten en una serie de anomalías en el metabolismo de los carbohidratos (como glicemia basal alterada e intolerancia a la glucosa), dislipidemias (caracterizadas por niveles de triglicéridos elevados, niveles de LDL de normales a aumentados y disminución de niveles de HDL), obesidad central, presión sanguínea elevada y estados inflamatorios persistentes entre otros, que tienen como característica principal la insulino resistencia (IR) la cual se relaciona estrechamente con el incremento de estrés oxidante y, a su vez, parece ser el vínculo principal con la DM (*Ros-Pérez et al., 2011*).

En el estudio de los factores genéticos se ha relacionado a la IR con un polimorfismo del gen de la paraoxonasa1 (*Barbieri et al., 2002*). Además, se ha descrito una disminución de la actividad paraoxonasa de acuerdo a la severidad de las anormalidades metabólicas muy ligadas al incremento del estrés oxidante en el síndrome metabólico (*Vávrová et al., 20013; Paolisso et al., 1999; Senti et al., 2003*). Por lo que se han enfatizado el papel diagnóstico y pronóstico de PON1 en el síndrome metabólico y, por consiguiente, con la DM (*Goswami et al., 2009*).

En el presente trabajo, el objetivo principal fue el estudio del polimorfismo Q192R rs662 del gen de PON1 y su asociación con la DMT2. Para este fin se examinó el genotipo de 235 individuos sin DMT2 y 183 individuos con DMT2. La frecuencia alélica y genotípica se encontró en equilibrio Hardy-Weinberg y fue semejante a la ya informada para la población mexicana (*Rojas-García et al., 2005; Gamboa et al., 2008*). Los resultados para determinar asociación entre el polimorfismo rs662y la DMT2 en

pacientes mexicanos no evidenciaron asociación de ninguno de los genotipos de manera independiente del polimorfismo rs662, a pesar de que en algunos artículos como el de *Flekac et al., (2008b)* se ha informado mayor proporción del genotipo homocigoto 192Q en individuos con DMT2.

La diferencia en los resultados encontrados en este trabajo podría deberse a la gran variedad en la distribución de las frecuencias alélicas y genotípicas (*como se puede ver en la Tabla 16*) del polimorfismo rs662 de PON1 en poblaciones específicas. (*Kodaet al.,2004;Gupta et al., 2011;Flekac et al.,2008b*). También, debe considerarse que la diversidad de factores genéticos y ambientales que influyen en una población no necesariamente influye de la misma forma en otra.

Tabla 16. Frecuencia alélica de polimorfismo rs662 de PON1 en diferentes poblaciones

Continente	Población	Frecuencia alelo 192R	Referencia
África	Etíopios	0.408	<i>Scacchi et al.(2003)</i>
	Beninianos	0.612	<i>Scacchi et al.(2004)</i>
	China	0.642	<i>Ko Yl et al.(1998)</i>
	Japonesa	0.4	<i>Suchiro et al.(2003)</i>
Asia	Tailandesa	0.29	<i>Phuntuwate et al. (2005)</i>
	Hindús	0.321	<i>Sanghera et al. (1998)</i>
	Alemanes	0.282	<i>Gerdemann et al.(2000)</i>
	Holandés	0.296	<i>Heijmans et al. (2000)</i>
	Turcos	0.308	<i>Aynacioglu et al. (1999)</i>
	Finlandeses	0.263	<i>Antikainen et al.(1996)</i>
	Italianos(Norte)	0.313	<i>Allebrandt et al. (2002)</i>
	Italianos (Sur)	0.248	<i>Allebrandt et al.(2003)</i>
	Española	0.3	<i>Hernández et al. (2000)</i>
	Caucásico-		
Europa	Americanas	0.27	<i>Chen et al.(2003)</i>
	Afro-Americanas	0.63	<i>Chen et al.(2003)</i>
	Afro- Brasileños	0.53	<i>Allebrandt et al. (2002)</i>
	Euro- Brasileños	0.529	<i>Allebrandt et al. (2003)</i>
	Indios Cayapa	0.789	<i>Scacchi et al.(2003)</i>
	Peruanos	0.478	<i>Cataño et al. (2005)</i>
América	Mexicana	0.49	<i>Rojas-García et al. (2005)</i>

***Tabla tomada de Rojas-García et al.(2005) y Cataño et al.(2005).**

Por otra parte, los resultados de este trabajo hacen evidente que la actividad paraoxonasa, determinada por métodos espectrofotométricos utilizando dos sustratos no fisiológicos distintos, se encuentra disminuida en pacientes con DMT2 comparada con el grupo control. Lo que concuerda con lo ya informado en artículos previos *Flekac et al. (2008b)*, *Abbott et al. (1995)*, *Mackness et al. (1998)*, *Ikeda et al. (1998)* en los que se ha relacionado la disminución de la actividad paraoxonasa (determinada utilizando como sustrato paraoxón) con un pobre control de la diabetes muy relacionado con las complicaciones antipáticas. Otros autores como *Inoue et al. (2000)* y *Murata et al. (2004)* han demostrado que la actividad PON1 (determinada utilizando como sustrato paraoxón y fenilacetato), se encuentra disminuida en pacientes con DM. La disminución de la actividad paraoxonasa a diferencia de la asociación genotípica del polimorfismo rs662 parece ser generalizada en pacientes con DM, sin importar el origen, relacionándose más bien con el descontrol de la enfermedad (*Gupta et al., 2011; Flekac et al., 2008b; Mackness et al., 1998; Ikeda et al., 1998*).

Como ya se mencionó en los individuos con DMT2 que participaron en el estudio la mayoría presentaron obesidad y sobrepeso, un mal control de la DMT2 (reflejado en los niveles promedio de glucosa elevados de 144.2 mg /dL) y un elevado porcentaje de dislipidemias (el 87.7% las presentas) caracterizada por niveles de triglicéridos y LDL elevados y niveles de HDL disminuidos al compararse con el grupo control. La suma de estos tres factores (sobrepeso y obesidad, mal control glicémico y dislipidemias) es desfavorable, ya que la presencia y gravedad de las complicaciones derivadas de la DM se relaciona con estos factores como causantes de disfunciones endoteliales característicos de las micro y macroangiopatías, en las que se describe

como común característica el incremento de estrés oxidante. A lo que se suma la disminución de la actividad enzimática de PON1, los hace aún más susceptibles al considerar una disminución en la función protectora de esta enzima tal como la reducción de los niveles de lípidos oxidados de LDL, la metabolización de peróxidos de esteroides de colesterol y el estímulo del flujo del colesterol de macrófagos (*Pedro-Botet et al., 2012; Ferretti et al., 2005; Goswami et al., 2009; Murata et al., 2004*).

Para estudiar la asociación de las variables actividad enzimática, genotipo, sexo, edad, IMC, hábito de tabaquismo, niveles de triglicéridos, colesterol total, HDL y la interacción entre el HDL y el IMC en la prevalencia de DMT2 en nuestra muestra de estudio, se utilizó el análisis de regresión logística. Es importante mencionar que los valores Odd Ratio (OR) de los resultados nos permiten evaluar la influencia de cada variable sobre la DMT2, en general valores OR mayores a la unidad indican un aumento en la probabilidad un evento en este caso de DMT2, así mismo, a valores menor a la unidad se indican una asociación “protectora”, de que ocurra el evento, mientras, que OR=1 indica que no hay asociación entre ambas variables. Los resultados de la tabla revelan niveles significativos pero OR que indican que no hay asociación entre la DMT2 y las variables: enzimática (determinada con el sustrato paraoxón solamente), los niveles de triglicéridos, colesterol total y LDL. En el género (masculino sobre el femenino) se observó una asociación protectora a la DMT2. Por otra parte, en el genotipo al considerar un modelo aditivo donde la presencia de alelo que codifica para el aminoácido glutamina fue considerado de riesgo, éste se relacionó como un factor de un aumento en la probabilidad del DMT2. Esto resulta interesante

al recordar que en los análisis del genotipo sin proponer ningún modelo de interacción no se encontró ninguna asociación.

Otro aspecto que se quiso investigar fue la disminución de la actividad paraoxonasa. Respecto a las causas de la disminución en sujetos con DMT2 existe controversia. En diversos artículos proponen que la contribución de la presencia de ciertos polimorfismos específicos para esta enzima es determinante e independiente de la presencia de la enfermedad. Sin embargo, en algunos estudios, como el realizado por *Gupta et al. (2011)* en una población del norte de la India, se ha determinado que el polimorfismo Q192R se relaciona tanto con la susceptibilidad de DMT2 como a la disminución de la actividad enzimática. Sin embargo, esto no es concluyente para todas las poblaciones como se puede ver en el presente trabajo, en el que no se encontró asociación clara para el polimorfismo rs662 del gen de la paraoxonasa1 y la DMT2, en una muestra de individuos de la población mexicana. Por otra parte, también en trabajos como el de *Maritim et al. (2003)*, *Ferreti et al. (2001)*, *Hedrick et al. (2000)* se propone que la sobreproducción de ERO's en pacientes con DMT2 debida a hiperglucemia, hiperinsulinemia, elevados niveles de ácidos grasos y dislipidemia modifica la composición, función y concentración de las HDL, resultando por consecuencia una alteración y/o inactivación en la actividad PON en estos sujetos (*Baum et al., 2006; Karabina et al., 2005*).

Los resultados del análisis de regresión lineal múltiple en este trabajo para predecir el grado en el que la actividad enzimática (determinada utilizando dos sustratos distintos) se asocia a algunas de las variables de este trabajo, muestran coeficiente de

determinación bajos. En el caso de actividad paraoxonasa en individuos control y con DMT2 de 28.27%, donde las variables genotipo ($R= 0.1403$ $p = 0.000$), el IMC ($R= 0.043$ $p=0.006$), los niveles de HDL ($R=0.028$ $p=0.017$), la interacción entre los niveles de HDL y el IMC ($R=0.001$ $p =0.012$) y la presencia de la DMT2 ($R= 0.40$ $p= 0.000$) presentaron significancia, aunque una importancia relativa baja (descrita por los coeficientes de correlación "R" bajos). En el caso de la actividad arilesterasa el modelo puede explicar en un 27.27% la variaciones en estas determinaciones respecto a las variables probadas, donde la mayoría de las variables revelaron significancia aunque con una importancia relativa muy baja. Lo anterior, nos hace pensar que estas variables en su conjunto con otras no estudiadas son responsables de la diferencia en la actividad enzimática.

Por otra parte, en sujetos con DMT2 se ha asociado la presencia del polimorfismo estudiado con una mayor incidencia en complicaciones antipáticas. Se ha relacionado al polimorfismo como un factor riesgo independiente a enfermedad arterial coronaria, enfermedades renales crónicas, neuropatías y retinopatías en pacientes con DMT2 en distintas poblaciones (*Ichikawa et al., 2009; Flekac et al., 2008b; Odawara et al., 1997*). En complicaciones renales en pacientes con DMT2 se ha descrito que el genotipo homocigoto que codifica 192Qrs662, del gen de la paraoxonasa1, se asocia con disminución en la actividad paraoxonasa y se consideró factor de riesgo a albuminuria e insuficiencia renal (*Bhattachayya et al., 2008; Ichikawa et al., 2009*). Esta asociación se hizo en una población asiática, al considerar que muchos de los factores genéticos que influyen en una población no se encuentran influyendo de la misma forma en otra, fue importante investigar si este polimorfismo está afectando de la

misma manera en una muestra de personas de origen mexicano. Los resultados del análisis no revelaron ninguna asociación en el caso de la ND y el polimorfismo rs662. Sin embargo, sí se encontró una disminución en la actividad paraoxonasa en los individuos con ND. Respecto a esto, se ha descrito que la actividad antioxidante en pacientes con DMT2 disminuye en relación al incremento de estrés oxidante (*Gbandjaba et al., 2012*). Otros factores no genéticos que se ha descrito como moduladores de la actividad paraoxonasa son la edad, el género y las dislipidemias, particularmente, los niveles de triglicéridos elevados y la actividad física. Por lo que, la suma de estos factores y tal vez otros no mencionados en los pacientes con ND podrían estar modulando de manera importante la disminución de actividad paraoxonasa en mayor medida que las variantes genéticas estudiadas en el presente trabajo.

Los análisis de regresión lineal múltiple para predecir el grado en el que la actividad enzimática se explica con respecto a las variables: genotipo (modelo aditivo, donde el alelo que codifica 192Q a fue un factor de riesgo sumativo), el sexo (hombres/mujeres), la edad de los individuos, el IMC, el tabaquismo, el tiempo de evolución de la DMT2, la presencia de complicaciones retinopatía, neuropatías, nefropatía, el tratamiento renal sustitutivo(diálisis y hemodiálisis), los niveles de glucosa, triglicéridos, colesterol total y HDL, muestran coeficiente de determinación bajos sobre la actividad paraoxonasa (en porcentajes de 21.84) y aún más bajos sobre la actividad arilesterasa(en porcentajes de 9.18). Los coeficientes Revelan que estos factores no sufren impacto por los cambios genotípico. Lo que podría sugerir que el modelo propuesto hace una predicción poco significativa y es necesario considerar la influencia de otras variables no incluidas en este trabajo

Para estudiar la asociación de las variables: genotipo, actividad enzimática (paraoxonasa y arilesterasa), edad, sexo, tiempo de evolución de la enfermedad, IMC, hábito de tabaquismo, complicaciones derivadas de la DMT2 (retinopatía y neuropatía), niveles de glucosa, triglicérido, colesterol total y HDL con la prevalencia de ND se realizó un análisis de regresión logística. Los resultados indican que la única variable significativa para la ND fue la presencia de la retinopatía diabética. Esto ya ha sido expuesto en la literatura, donde se ha descrito la asociación entre la retinopatía diabética y las manifestaciones de nefropatía diabética, todo esto ligada a un daño microvascular que puede originar alteraciones en la visión y a nivel renal.

Por último, es importante mencionar por qué la actividad enzimática fue determinada utilizando dos sustratos distintos. En la literatura se ha descrito que ambas metodologías son adecuadas para predecir la actividad antioxidante (*Flekac et al., 2008b*), sin embargo, la actividad determinada utilizando paraoxón como sustrato es dependiente del polimorfismo estudiado, mientras que la actividad determinada utilizando fenilacetato no lo es. Por lo que el, contrastar la relación en la disminución de la actividad enzimática en pacientes con DMT2 y con ND, dependiente y no dependiente del polimorfismo fue importante.

De acuerdo a la literatura y a los resultados de este trabajo, se puede inferir que además del polimorfismo rs662 otros factores como la obesidad, sobrepeso, dislipidemias, descontrol metabólico, niveles de hemoglobina glicosilada están influyendo en la variabilidad de la actividad enzimática, están influyendo en mayor medida en la variabilidad de la actividad enzimática.

Conclusión.

- La disminución de la actividad paraoxonasa se puede asociar con el polimorfismo rs662, sin embargo, éste de manera independiente no explica ni se asocia con la presencia de *Diabetes mellitus* en la población de estudio.
- Para el polimorfismo rs662 considerando un modelo aditivo (donde el factor de riesgo sumativo fueron los alelos que codifican para el aminoácido glutamina) se pueden considerar en cierta medida un aumento en la en la probabilidad de presentarDMT2en la población de estudio.
- El polimorfismo rs662, no explica ni se asocia con la presencia de nefropatía diabética en la población de estudio.

BIBLIOGRAFÍA

A

- Abbott C, Mackness M, Kumar S, Boulton A, Durrington P.(1995).Serum paraoxonase activity, concentration, and phenotype distribution in diabetes mellitus and its relationship to serum lipids and lipoproteins.Arterioscler.Thromb.Vasc. Biol. 15:1812-1818.
- Agachan B, Yilmaz H, Karaali Z, Isbir T. (2004). Paraoxonase 55 and 192 polymorphism and its relationship to serum paraoxonase activity and serum lipids in Turkish patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. Physiol. Res. 54:287-293.
- Arredondo A, De Icaza E. (2011). Costos de la diabetes en América Latina: evidencias del caso mexicano. Value in Health14:S85-S88.
- Aviram M, Hardak E, Vaya J, Mahmood S, Milo S, Hoffman A, Billicke S, Draganov D, Rosenblat M. (2000). Human serum paraoxonase (PON1) Q and R selectively decreased lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions: PON1 esterase and peroxidase-like activities. Circulation 101:2510-2517.

B

- Balderas FL, Méndez JD. (1998). Influencia de los Radicales Libres Producidos por la Autooxidación de Glucosa y Glucosilación Proteínica en el Desarrollo de Aterosclerosis. J. Mex. Chem. Soc. 42:189-195.
- Barbieri M, Bonafè M, Marfella R, Ragno E, Giugliano D, Franceschi C. (2002). LL-paraoxonase genotype is associated with a more severe degree of homeostasis model assessment IR in healthy. Endocrinol.Metab. 87:222–225.
- Baynes J. (1991). Role of oxidative stress in development of complications in diabetes.Diabetes 40:405-412.

- Bhaskar S, Ganesan M, Chandark G, Mani R, Idris M, Khaja N, Gulla S, Kumar U, Movva S, Vattam K, Eppa K, Hasan Q, Pulkurthy U. (2011). Association of PON1 and APOA5: Gene Polymorphisms in a Cohort of Indian Patients Having Coronary Artery Disease With and Without Type 2 Diabetes. *Genet. Test Mol. Biomarkers* 15:507-512.
- Bhattacharyya T, Nicholls S, Topol E, Zhang R, Yang X, Schmitt D, Fu X, Shao M, Brennan D, Ellis G, Brennan L, Allayeh H, Luscis J, Hazen S. (2008). Relationship of Paraoxonase 1 (PON1) Gene Polymorphisms and Functional Activity with Systemic Oxidative Stress and Cardiovascular Risk. *JAMA*. 11:1265-1276.
- Baum L, Ng HK, Woo KS, Tomlinson B, Rainer TH, Chen X, Cheung WS, Chan DKY, Thomas GN, Tong CSW, Wong KS. (2006). Paraoxonase 1 gene Q192R polymorphism affects stroke and myocardial infarction risk. *Clin. Biochem.* 39:191-195.

C

Canonge R. (1999). Fisiología de la retinopatía diabética. *Av. Diabetol.* 16:49-53.

Li C, Gu Q. (2009). Protective effect of paraoxonase1 of high-density lipoprotein in type 2 diabetic patients with nephropathy. *Nephrology* 14:514–520.

- Costa L, Cole T, Jarvik G, Furlong C. (2001). Functional genomics of the paraoxonase (PON1) polymorphisms: effects on pesticide sensitivity, cardiovascular disease, and drug metabolism. *Annu. Rev. Med.* 54:371-392.
- Cruz M. (2010). Destinó México unos 778 millones de dólares a la atención de diabetes en 2010. Periódico *La Jornada*. Lunes 16 de mayo de 2011, p. 37. Disponible en: <http://www.jornada.unam.mx/2011/05/16/index.php?section=sociedad&article=037n1soc&partner=rss>. Fecha de consulta Nov 2013.

D

- Díaz-Flores M, Baiza-Gutman L, Ibáñez-Hernández M, Pascoe-Lira D, Guzmán-Greenfel A, Kumate-Rodríguez J. (2004). Aspectos moleculares del daño tisular inducido por la hiperglucemia crónica. *Gac. Méd. Méx.* 140:437-448.
- Daly AK, Day CP. (2001). Candidate gene case-control association studies: advantages and potential pitfalls. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 52:489-499.

E

- Escolar J, Clilvetti A, Pinzón J, Ruiz-Escalante J. (2001). La disfunción endotelial en la angiopatía diabética. El factor de crecimiento del endotelio vascular. *Endocrinol.Nutr.* 48:198-201.
- Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus.(2003). Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 26 Suppl1:S5-S20.
- ENSANUT 2012. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Disponible en <http://ensanut.insp.mx/>.

F

- Ferretti G, Bacchetti T, Marchionni C, Caldarelli L, Curatola G. (2001). Effect of glycation of high density lipoproteins on their physicochemical properties and on paraoxonasa activity. *Acta Diabetol.* 38:163–169.
- Ferretti G, Bacchetti T, Moroni C, Savino S, Liuzzi A, Balzola F.(2005). Paraoxonase activity in high-density lipoproteins: a comparison between healthy and obese females. *J Clin. Endocrinol. Metabol.* 90:1728–1733.

- Flekac M, Skrha J, Hilgertova J, Lacinova Z, Jarolimkova, M. (2008a). Gene polymorphisms of superoxide dismutases and catalase in diabetes mellitus. *BMC Med. Genet.* 9:30-35.
- Flekac M, Skrha J, Zídková K, Lacinová Z, y Hilgertová J. (2008b). Paraoxonase 1 gene polymorphisms and enzyme activities in diabetes mellitus. *Physiol. Res.* 57:717–726.
- Flores M. (2005). Estrés oxidativo y fiibrogénesis en la diabetes mellitus tipo 1. Influencia del control glucémico y consumo de tabaco. Tesis de doctorado en Medicina y Cirugía. Universidad de Barcelona.

G

- Gamboa R, Zamora J, Rodríguez-Pérez J, Fragoso J, Cardoso G, Posadas-Romero C, Vargas-Alarcón G. (2008). Distribution of paraoxonase PON1 gene polymorphisms in Mexican populations. Its role in the lipid profile. *Exp. Mol. Pathol.* 80:85-90.
- García-Castro C, García-González R. (2005). Problemas sociales referidos por un grupo de personas atendidas en el centro de atención al diabético. *Rev. Cubana Endocrinol.* 16:112-118.
- Gbandjaba Y, Ghalim N, Hassar M, Berrougui H, Labrazi H, Taki H, Saile R, Khalil A. (2012). Paraoxonase activity in healthy, diabetic, and hemodialysis patients. *Clinical Biochemistry* 45:470-474.
- Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. (1996). Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 19:257–267.
- Goday A. (2002). Diabetes y enfermedades cardiovasculares (II). *Epidemiología de la diabetes y sus complicaciones no coronarias.* *Rev. Esp. Cardiol.* 55:657-670.
- Goswami B, Tayal D, Gupta N, Mallika V. (2009). Paraoxonase: A multifaceted biomolecule. *Clinica Chim. Acta.* 410:1-12.

- Gupta N, Singh S, Maturu VN, Sharma YP, Gill KD. (2011). Paraoxonase 1 (PON1) Polymorphisms, Haplotypes and Activity in Predicting CAD Risk in North-West Indian Punjabis. Plos One 6:e17805.

H

- Harel M, Brumshtein B, Mege, R, Dvir H, Ravelli R, Mccarthy A, Toker L, Silman I, Sussman J. (2007). 3-D structure of serum paraoxonase 1 sheds light on its activity, stability, solubility and crystallizability. Arh. Hig.Rada.Toksikol. 58:347–353.
- Hedrick C, Thorpe S, Fu M, Harper C, Yoo J, Kim S.(2000). Glycation impairs high-density lipoprotein function. Diabetologia 43:312–320.
- Hicks J, Torres-Ramos Y, Sierra-Vargas M. (2006). Estrés oxidante. Concepto y clasificación. Rev.Endocrinol. Nutr. 14:223-226.

I

- Ichikawa K, Konta T, Emi M, Toriyama S, Takasaki S, Ikeda A, Shibata Y, Takabatake N, Takeishi Y, Kato T, Kawata S, Kubota I. (2009). Genetic polymorphisms of paraoxonase-1 are associated with chronic kidney disease in Japanese women. KidneyInt. 76:183-189.
- Ikeda Y, Suehiro T, Inoue M, Nakauchi Y, Morita T, Aii K, Ito H, Kumon Y, Hashimoto K. (1998). Serum paraoxonase activity and its relationship to diabetic complications in patients with noninsulin- dependent diabetes mellitus. Metabolism 47:598–602.
- International Diabetes Federation IDF.(2009). Diabetes Atlas.4° ed. Brussels. P. Disponible en <http://www.idf.org/diabetesatlas>.
- INEGI2009. Disponible en: http://www.inegi.gob.mx/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/integracion/sociodemografico/mujeresyhombres/2009/MyH_2009_1.pdf. Fecha de consulta Septiembre 2013.

- Inoue M, Suehiro T, Nakamura T, Ikeda Y, Kumon Y, Hashimoto K.(2000).Serum arylesterase/diazoxonase activity and genetic polymorphisms in patients with type 2 diabetes. *Metabolism*49:1400–1405.
- Iribarra P, Germain A, Cuevas M, Faúndez G, Valdé, S. (2000). Endothelial dysfunction as a primary alteration in vascular diseases. *Rev. Med. Chile* 128:60-72.

J

- Jakus V. (2000).The role of free radicals, oxidative stress and antioxidant systems in diabetic vascular disease.*Bratisl.Lek. Listy.*101:541-555.
- Jara A. (2011). *Endocrinología.2º Edición.Médica Panamericana.* 625-730.

K

- Karabina S, Lehner A, Frank E, Parthasarathy S, Santanam N.(2005). Oxidative inactivation of paraoxonase.Implications in diabetes mellitus and atherosclerosis. *Biochim. Biophys.Acta* 1725:213–221.
- Koda Y, Tachida H, Soejima M, Takenaka O, Kimura H.(2004). Population differences in DNA sequence variation and linkage disequilibrium at the PON1 gene. *Ann. Hum. Genet.* 68:110-119.

L

- La Du B, Aviram M, Billecke S, Navab M, Primo-Parmo S, Sorenson R, Standiford T. (1999).The physiological role (s) of the paraoxonases. *Chem. Biol. Interact.* 119:379–388.

M

- Maritim A, Sanders R, Watkins J. (2003). Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J.Biochem. Mol. Toxicol.* 17:24-38.
- Mak S, Ho S-, Yu W, Choo K. (2007). Polymorphisms and functional activity in superoxide dismutase and catalase genes in smokers with COPD. *Eur. Respir. J.* 30:684–690.

- Mackness B, Mackness MI, Arrol S, Turkie W, Julier K, Abuasha B. (1998). Serum paraoxonase (PON1) 55 and 192 polymorphism and paraoxonase activity and concentration in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 139:341–349.
- Murata M, Maruyama T, Suzuki Y, Saruta T, Ikeda Y.(2004). Paraoxonase 1 Gln/ Arg polymorphism is associated with the risk of microangiopathy in type 2 diabetes mellitus. *Diabet. Med.* 21:837–844.

N

- National Diabetes Information Clearing House.(2011). A service of the National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (NIDDK). NIH.Disponible en:<http://diabetes.niddk.nih.gov/dm/pubs/statistics/index.aspx>.
- Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, Yorek M, Beebe D, Oates P, Hammes H, Giardinol, Brownlee M. (2000). Normalizing mitochondrial superoxide blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature* 404:787-790.

O

- Odawara M, Tachi Y, Yamashita K.(1997).Paraoxonasepolymorphism (Gln192-Arg) is associated with coronary heart disease in Japanese noninsulindependent diabetes mellitus. *J.Clin.Endocrinol.Metab.*82:2257-2260.

P

- Paolisso G, Tagliamonta M, Rizzo M, Giugliano D. (1999). Advancing age and insulin resistance: new facts for an ancient history. *Eur. J.Clin. Invest.* 29:758-69.
- Phillips C, Owens D, Collins P, Tomkin G. (2005). Low density lipoprotein non-sterified fatty acids and lipoprotein lipase in diabetes. *Atherosclerosis* 181:109–114.

- Pons, M. (2007). Metabolismo oxidativo en niños y adolescentes con *Diabetes mellitus* insulino dependiente: marcadores precoces de daño a moléculas y nefropatía diabética incipiente. Tesis doctoral en ciencias médicas. Universidad de Valencia. Dep. de Pediatría, Obstetricia y Ginecología. pp.47-58.
- Prevención, Diagnóstico y Tratamiento del Sobrepeso y la Obesidad Exógena. México, Secretaría de Salud, Actualización 2012. Disponible en http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/046_GPC_ObesidadAdulto/IMSS_046_08_EyR.pdf.
- Pedro-Botet J, Benaiges D, Pedragosa A. (2012). Dislipidemia diabética, macro y microangiopatía. Clin. Invest. Arterioscl. 24:299-305

R

- Rodríguez, A. (2011). Caracterización del polimorfismo de un solo nucleótido G-2548 A en el promotor del gen de leptina en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 y en sujetos controles en una población mexicana. Tesis doctoral del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, D. F. México. pp.38-45.
- Rodríguez B, Reinales S, Jiménez R, Juárez M, Hernández M. (2010). Costos directos de atención médica en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 en México: análisis de micro costeo. Rev. Panam. Salud Pública 28:412–420.
- Rojas R, Shekoufeh N, Bagher L, Mohammad A. (2005). A review on the role of antioxidants in the management of diabetes and its complications. Biomed. Pharmacother. 59:365-373.
- Rojas-García A, Solís-Heredia M, Piña-Guzmán A, Vega-López B. y Quintanilla-Vega L. (2005). Genetic polymorphisms and activity of PON1 in a Mexican population. Toxicol. Appl Pharmacol. 205:282-289.

- Ros-Pérez M, Medina-Gómez G (2011). Obesity, adipogenesis and insulin resistance. *EndocrinolNutr.* 58:360-369
- Rosenblat M, Vaya J, Shih D, Aviram M. (2005). Paraoxonase 1 (PON1) enhances HDL mediated macrophage cholesterol efflux via the ABCA1 transporter in association with increased HDL binding to the cells: a possible role for lysophosphatidylcholine. *Atherosclerosis* 179:69–77.
- Rozenberg O, Shih D, Aviram M. (2003). Human serum paraoxonase 1 decreases macrophage cholesterol biosynthesis: possible role for its phospholipase-A2-like activity and lysophosphatidylcholine formation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 23:461–467.

S

- Salama B, Sánchez GA. (2001). Factores de riesgo y complicaciones crónicas en el diagnóstico reciente de la diabetes tipo 2. *Rev.CubanaEndocrinol.* 12:76-81.
- Scheffer P, Bos G, Volwater H, Dekker J, Heine R, Teerlink T. (2003). Associations of LDL size with in vitro oxidizability and plasma levels of in vivo oxidized LDL in type 2 diabetic patients. *Diabet. Med.* 20:563–567.
- Sentí M, Tomás M, Marrugat J, Elosua R. (2001). Paraoxonase1-192 polymorphism modulates the nonfatal myocardial infarction risk associated with decreased HDLs. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 21:415-420.
- Sirgo G, Rello J, Bodí M, Díaz E, Pérez-Vela J, Hernández G, Waterer Y. (2003). Polimorfismo genético en el paciente crítico (i). Aspectos generales, inflamación y sepsis. *Med. Intensiva* 27:24-31.

T

- Torres A, Zacarías R. (2002). Nefropatía diabética. *Rev. Hosp. Gral Dr. M Gea González*5:24-32.

V

- Vasavada N, Agarwal R. (2005). Role of oxidative stress in diabetic nephropathy. Adv. Chronic Kidney Dis. 12:146-154.
- Vávrová L, Kodydková J, Zeman M, Dušejovská M, Macásek J, Staňková B, Tvrzická E, Žák A. (2013). Altered Activities of Antioxidant Enzymes in Patients with Metabolic syndrome. Obes. Facts. 6:39–47.

W

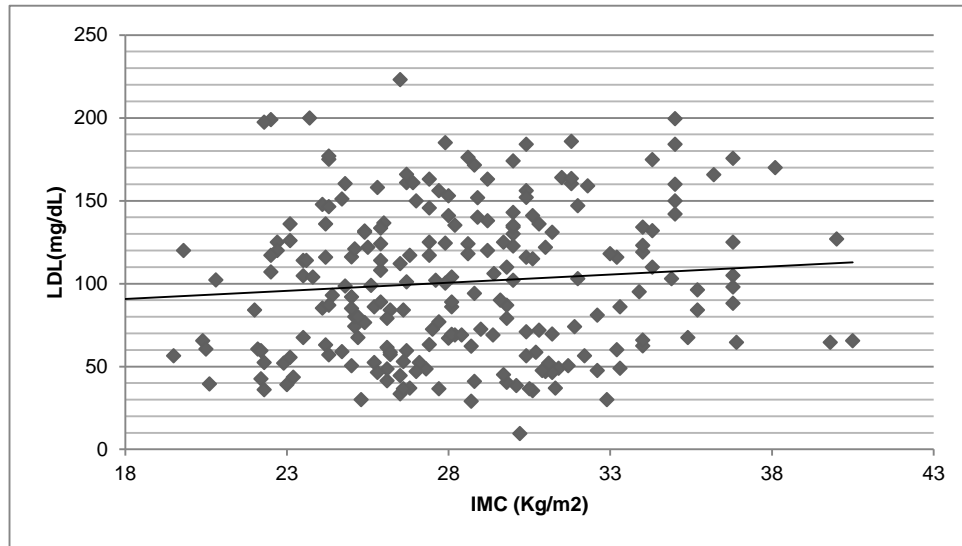
- Wild S, Roglic G, Green, Asicree, R, King, H. (2004). Global Prevalence of Diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabetes Care 27:1047-1053.
- Wong F, Wang M, Boo N, Hamidah N, Ainoon B. (2007). Rapid detection of the UGT1A1 single nucleotide polymorphism G211A using real-time PCR with Taqman minor groove binder probes. J. Clin. Lab. Anal. 21:167-172.

Z

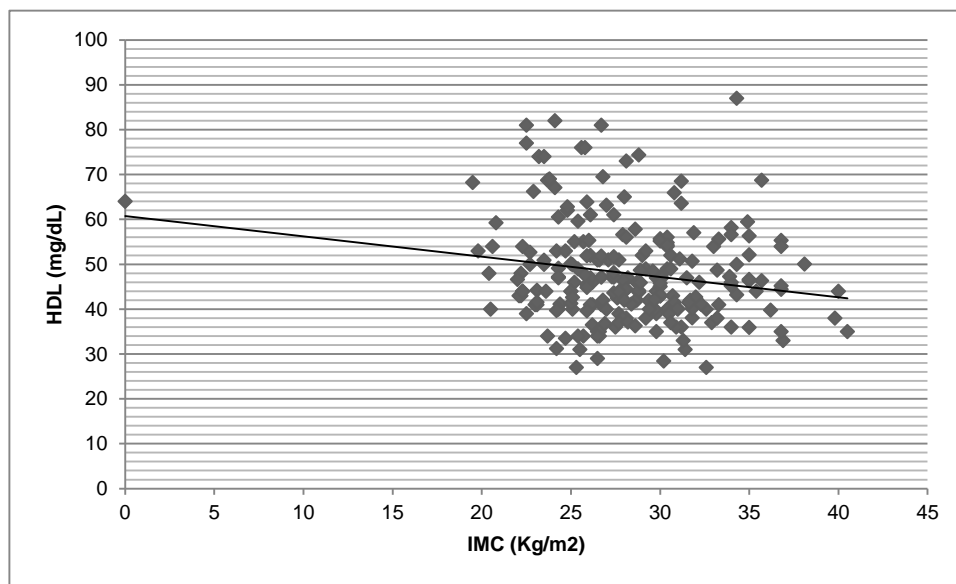
- Zhang B, Eto S, Fan P, Bian C, Shimoji E, Saito T, Saku K. (2003). Paraoxonase (Pon1) Q192R polymorphism and serum Pon1 activity in diabetic patients on maintenance hemodialysis. Clin. Nephrol. 60:257-265.

APENDICE 1

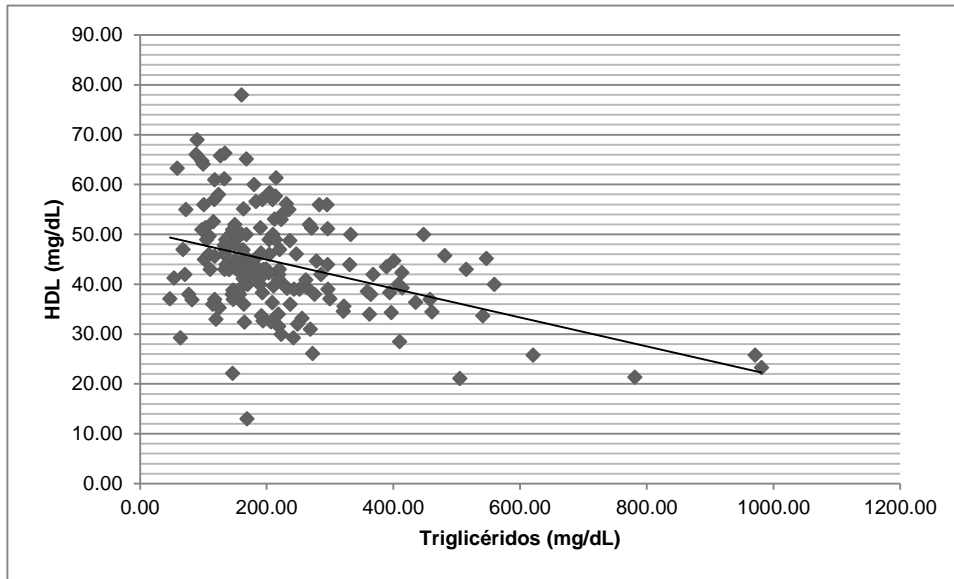
GRÁFICAS



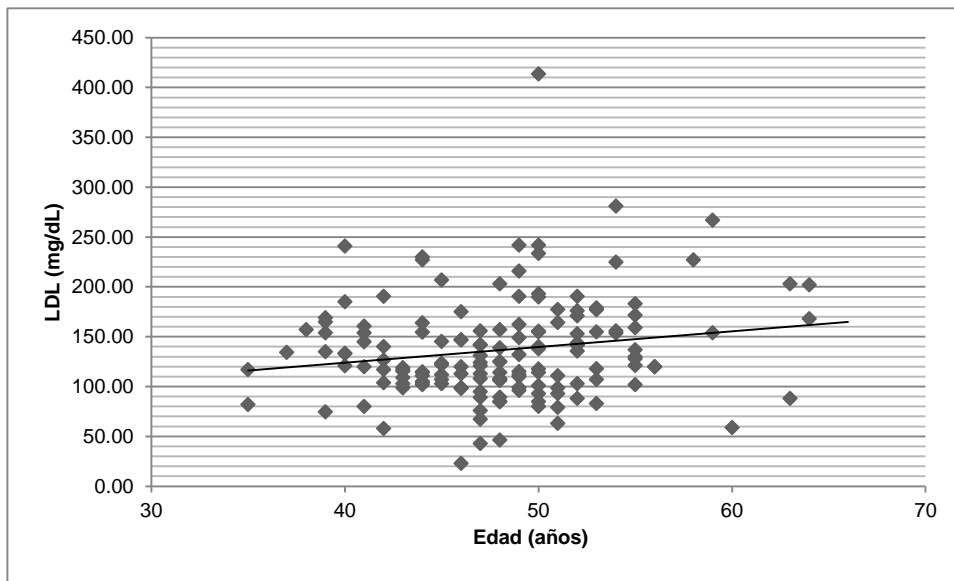
Grafica 1. Correlación positiva entre el IMC y los niveles de LDL en ayunas de los individuos sin DMT2. . $P < 0.001$, $r = 0.1$



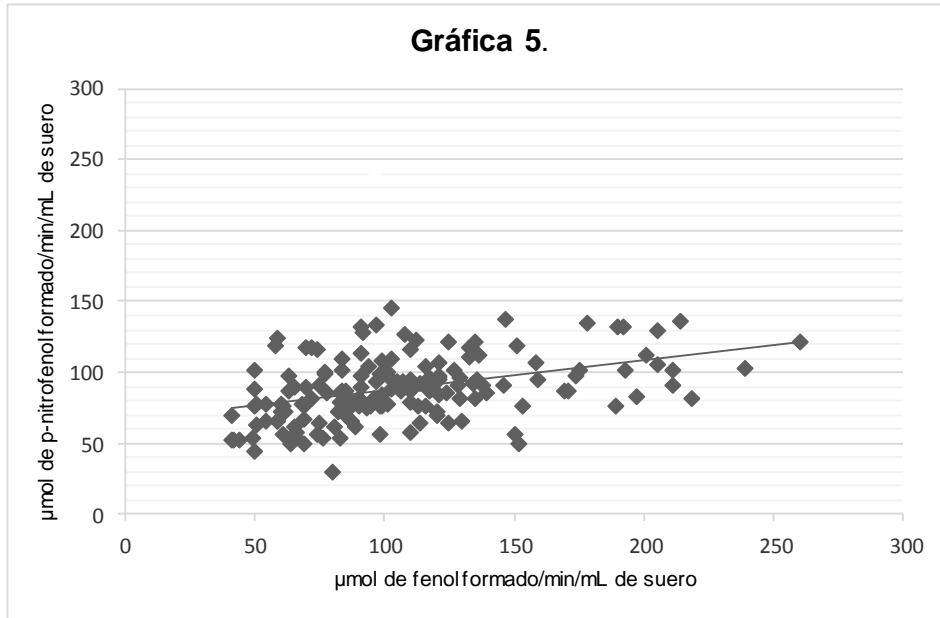
Grafica 2. Correlación negativa entre el IMC y los niveles de HDL de individuos sin DMT2. . $P < 0.001$, $r = -0.2$



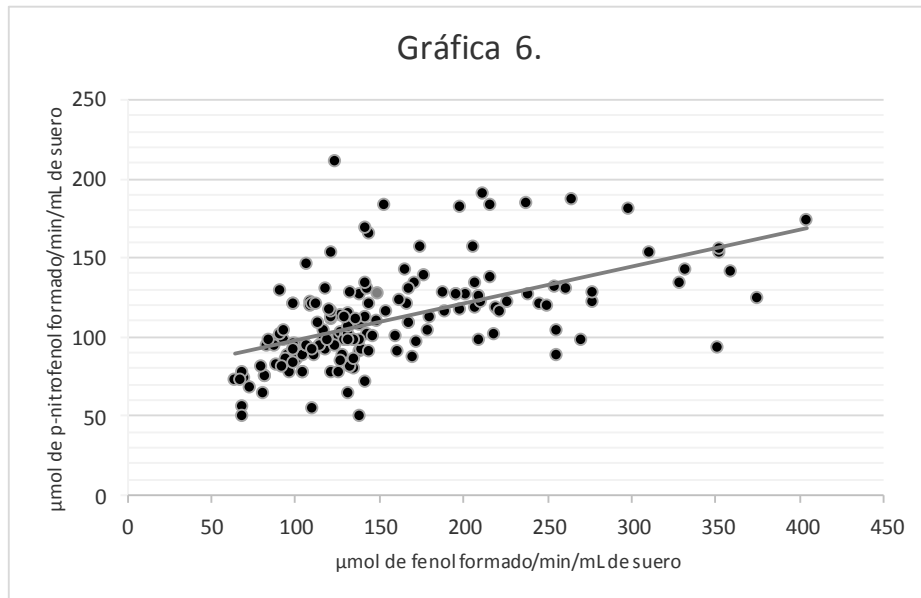
Grafica 3. Correlación positiva los niveles de triglicéridos y HDL en individuos con DMT2.
 $P < 0.001$, $r = -0.4$.



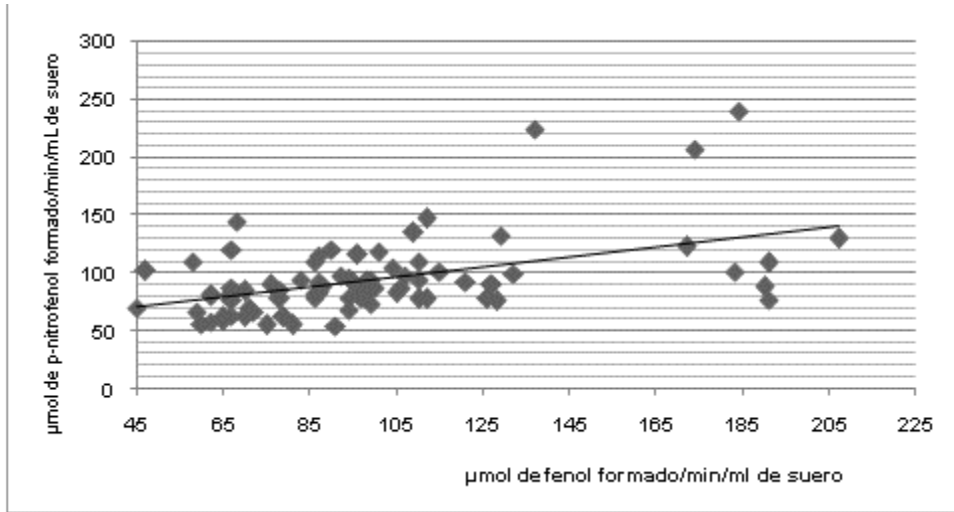
Grafica 4. Correlación positiva entre la edad y los niveles de LDL en individuos con DMT2.
 $P > 0.05$, $r = 0.17$.



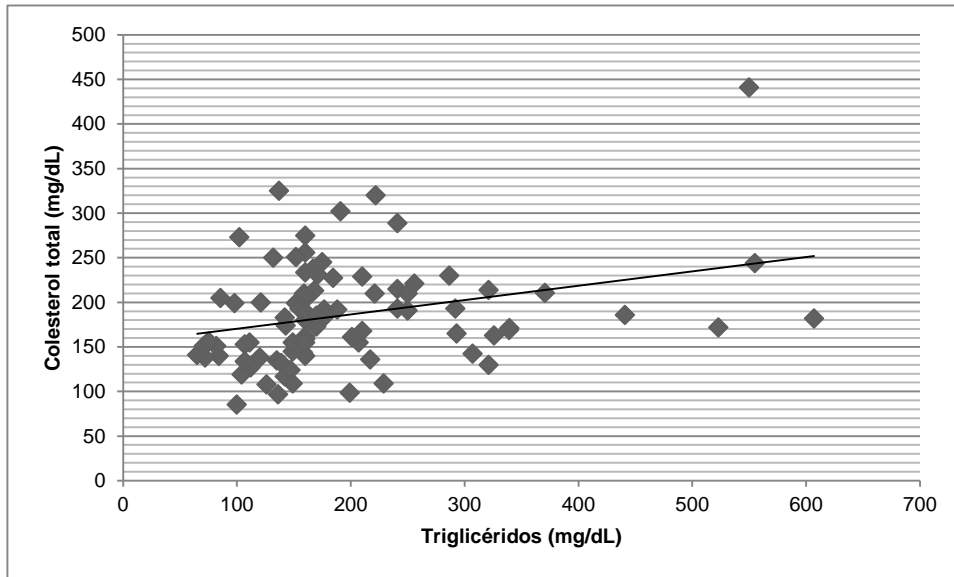
Gráfica 5. Correlación positiva en la actividad enzimática paraoxonasa determinada espectrofotométricamente al utilizar dos sustratos distintos en individuos con DMT2. $P < 0.001$



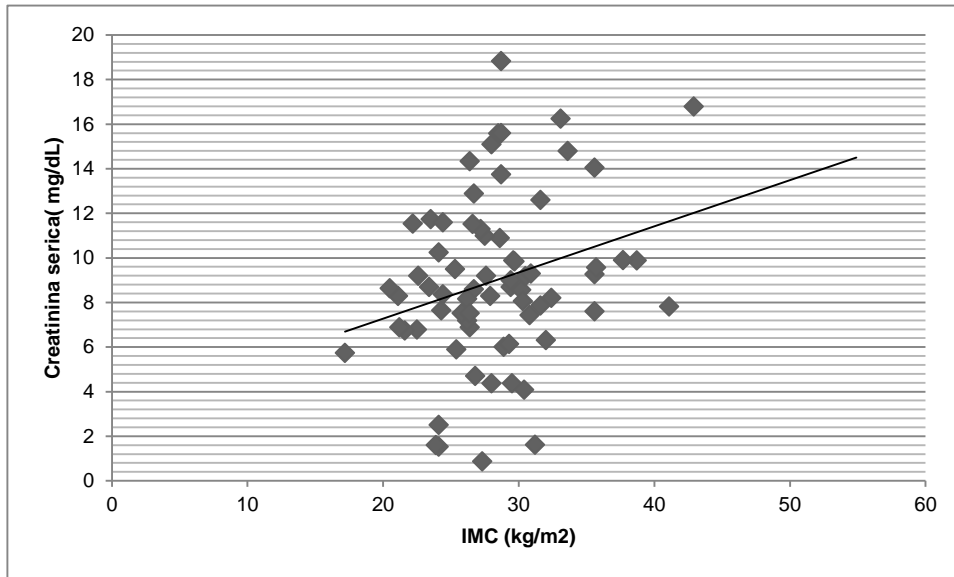
Gráfica 6. Correlación positiva en la actividad enzimática paraoxonasa determinada espectrofotométricamente al utilizar dos sustratos distintos en individuos sin DMT2. $P < 0.001$.



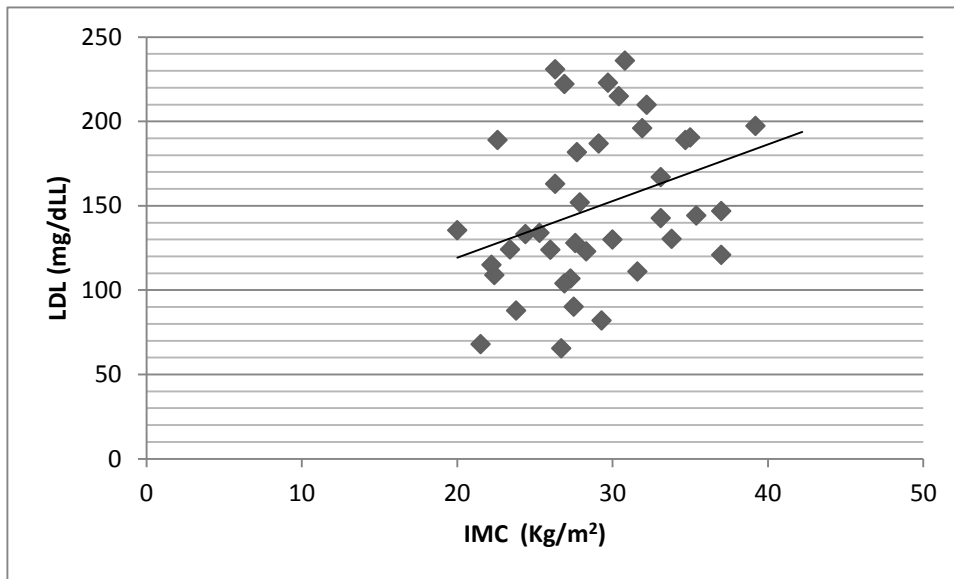
Gráfica7. Correlación positiva entre la actividad paraoxonasa y arylesterasa en individuos sin ND $P= 0.001, r = 0.5$



Grafica 8. Correlación positiva entre los niveles de colesterol total y triglicéridos en individuos con ND. $P= 0.001, r = 0.5$



Grafica 9. Correlación positiva entre el IMC y los niveles de creatinina sérica en los individuos con ND. P= 0.05, r =-0.3



Grafica 10. Correlación positiva entre los niveles de LDL y el IMC en individuos sin ND. P= 0.001, r = 0.34

TABLAS

Tabla 1. Correlación de Pearson en individuos con DMT2					
Correlación			actividad arilesterasa	LDL	HDL
	Actividad paraoxonasa	r	0.4		
		Sig. (bilateral)	**	-----	-----
		N	163		
	Edad	r		0.17	
	Sig. (bilateral)	-----	*	-----	
	N		154		
Triglicéridos	r			-0.41	
	Sig. (bilateral)	-----	-----	**	
	N			170	
Colesterol total	r			0.7336	
	Sig. (bilateral)	-----		**	
	N			154	
				0.17	
				*	
				172	

* p < 0.05 **p < 0.01

Tabla 2. Correlación de Pearson en individuos sin DMT2.								
			Actividad paraoxonasa	Glucosa	Triglicéridos	Colesterol Total	LDL	HLD
actividad arilesterasa	r	0.6						
	Sig. (bilateral)	**						
	N	180						
Edad	r	-0.2	0.3			0.3	0.2	
	Sig. (bilateral)	*	**			**	*	
	N	180	226			225	220	

Correlación	IMC	r					0.1	-0.2
		Sig. (bilateral)					**	**
		N					220	225
	Triglicéridos	r						-0.4
		Sig. (bilateral)						**
		N						226
	Colesterol total	r			0.3			0.3
	Sig. (bilateral)			**			**	
	N			226			226	
HDL	r			-0.4	0.3			
	Sig. (bilateral)			**	**			
	N			226	226			
LDL	r				0.7			
	Sig. (bilateral)				**			
	N				221			
Creatinina	r						-0.227	
	Sig. (bilateral)						**	
	N						171	
* p <0.05		**p< 0.01						

Tabla 3. Asociación del genotipo con parámetros bioquímicos en el subgrupo 1.

Genotipo	AA	AG	GG
----------	----	----	----

Triglicéridos			
Xi²	1.5507	0.58	1.9465
P	0.21	0.45	0.16
Colesterol Total			
Xi²	0.4559	5.7389	4.7345
P	0.5	0.017	0.029
LDL			
Xi²	1.53	0.0222	1.2736
P	0.22	0.88	0.26
HDL			
Xi²	2.0612	0.0287	3.8032
P	0.15	0.86	0.052
Glucosa			
Xi²	0.3981	0.58	0.0611
P	0.53	0.45	0.8

Tabla 4. Correlación de parámetros en individuos sin ND						
			Actividad paraoxonasa	Triglicéridos	LDL	HDL
Correlación Pearson	Actividad arilesterasa	r	0.5			
		Sig(bilateral)	**			
		N	82			
	IMC	r			0.34	
		Sig(bilateral)			*	
		N			39	
	Colesterol Total	r			0.5	0.7
		Sig(bilateral)			**	**
		N			58	39

Tabla 5. Asociación del genotipo con parámetros bioquímicos en individuos sin ND			
Genotipo	AA	AG	GG
Triglicéridos			
Xi2	4.8227	1.7103	1.2244
P	0.028088	0.1909512	0.26849041
Colesterol Total			
Xi2	0.0048	0.2295	0.2712
P	0.99485322	0.63188916	0.60253747
LDL			
	1.2965	0.8957	0.044
P	0.25486016	0.44201784	0.83388086
HDL			
Xi2	11.8567	25.1885	4.144
P	0.00057572	0	0.04174853
Glucosa			
Xi2	4.8764	0.7053	2.7926
P	0.0272277	0.45600627	0.09047034