





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

Investigación realizada con el apoyo de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (PAPIIT-IN221014) y del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT No. 384179).

Se agradece al Programa de Apoyo a los Estudios del Posgrado (PAEP) por el apoyo brindado para realizar una estancia de investigación en la Universidad de Illinois Urbana-Champaign, EUA.

## ÍNDICE GENERAL.

Contenido.	Página.
Índice de tablas.	5
Índice de figuras.	7
Índice de anexos.	9
Abreviaturas	10
Resumen	13
1. Introducción.	15
1.1 Definición y tipos de diabetes.	15
1.2 Pruebas de diagnóstico de diabetes.	16
1.3 Epidemiología de la diabetes tipo 2.	18
1.3.1. Situación en México.	18
1.4 Diabetes tipo 2: enfermedad compleja.	21
1.5 Genética de la diabetes tipo 2.	25
1.6 Variabilidad genética entre individuos.	26
1.7 Generalidades de los polimorfismos estudiados.	26
1.8 Chimalhuacán, Estado de México.	43
2. Justificación.	46
3. Hipótesis.	47
4. Objetivos.	48
4.1. General.	48
4.2. Específicos.	48
5. Metodología.	49
5.1. Tipo y diseño del estudio.	49
5.2. Participantes.	49
5.3. Criterios de inclusión.	50
5.4. Tamaño de la muestra.	51
5.5. Medidas somatométricas y toma de muestras sanguíneas.	52
5.6. Determinaciones bioquímicas.	52
5.7. Análisis molecular.	52
5.8. Análisis de ancestría.	53

Contenido	Página.
5.9. Análisis estadístico.	54
6. Resultados.	55
6.1. Estratificación y características generales de la población de estudio.	55
6.1.1. Evaluación de ancestría.	59
6.2. Comparación de las frecuencias alélicas de los polimorfismos estudiados en la población de Chimalhuacán con las frecuencias de las poblaciones del Proyecto 1000 Genomas.	61
6.3. Relación genotipo-fenotipo en casos y controles.	64
6.4. Estudio de asociación con DT2.	68
6.5 Relación genotipo-fenotipo de las variantes asociadas a DT2 en individuos diabéticos de aparición temprana y tardía.	71
7. Discusión de resultados.	73
8. Conclusiones.	83
9. Referencias.	84
10. Anexos.	97

## ÍNDICE DE TABLAS.

Contenido.	Página.
Tabla 1. Valores según la ADA para la clasificación del estado de salud de la persona con base en Hb1AC, FPG y OGTT.	17
Tabla 2. Los diez principales países por número de personas afectadas por diabetes en 2015.	19
Tabla 3. Factores de riesgo, su clasificación, valor y asociación con el nivel de riesgo a padecer DT2.	22
Tabla 4. Valores recomendados por la ADA para una persona saludable.	23
Tabla 5. Polimorfismos elegidos con los resultados de asociación a DT2 reportados en población mexicana.	27
Tabla 6. Características generales y estratificación de la población total.	56
Tabla 7. Características generales y estratificación de la población para el estudio de asociación.	58
Tabla 8. Procedencia del total de sujetos participantes en este estudio.	59
Tabla 9. Lenguas indígenas habladas por los participantes.	60
Tabla 10. Comparación de frecuencias alélicas de la población de estudio de Chimalhuacán (n=79) vs población maya <sup>1</sup> y poblaciones de 1000 genomas.	62
Tabla 11. Efecto del alelo de riesgo en individuos del grupo control.	65
Tabla 12. Efecto del alelo de riesgo en individuos diabéticos.	67
Tabla 13. Análisis de asociación de las variantes de riesgo con diabetes tipo 2 en la población de estudio estratificada por edad de aparición de la enfermedad.	70
Tabla 14. Efecto del alelo de riesgo en individuos diabéticos de aparición temprana.	72
Tabla 15. Efecto del alelo de riesgo en individuos diabéticos de aparición tardía.	72
Tabla 16. Proceso realizado por el equipo ViiA™ 7 Real-Time PCR System.	108

Contenido.	Página.
Tabla 17. Sondas Taqman utilizadas para genotipificación de los SNP's de riesgo a DT2.	109
Tabla 18. Sondas Taqman utilizadas para genotipificación de los SNP's para determinación de ancestría (AIM's).	113
Tabla 19. Características de los AIM's utilizados.	114
Tabla 20. Características bioquímicas y antropométricas un individuo con DT2 controlada.	115

## ÍNDICE DE FIGURAS.

Contenido.	Página
Figura 1. Prevalencia de diabetes ajustada por edad en adultos (20-79 años de edad).	18
Fig. 2. Prevalencia de diabetes por diagnóstico médico previo según entidad federativa.	20
Fig. 3. Tasa de mortalidad observada en la población por diabetes mellitus por entidad federativa en 2011 por cada 100 mil habitantes.	20
Fig. 4. Dominios funcionales del gen HNF4 en humanos y ubicación del polimorfismo T130I.	29
Fig. 5. Secreción de insulina con la participación del canal de $K_{ATP}$ .	31
Fig. 6. El gen del receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma gamma (PPAR $\gamma$ ), las proteínas PPAR $\gamma$ 1, PPAR $\gamma$ 2 y ubicación del polimorfismo P12A.	32
Fig. 7. Ubicación cromosómica del locus 9p21 que comprende a los genes del inhibidor de cinasas dependiente de ciclina 2A/B (CDKN2A/B), CDKN2B-AS (ANRIL) y metil tioadenosin fosforilasa (MTAP).	34
Fig. 8. Esquema del transportador de $Zn^{2+}$ , su participación en la secreción de insulina y ubicación del polimorfismo R325W.	36
Fig. 9. Estructura del gen y mRNA de TCF7L2.	38
Fig. 10 Estructura de la proteína ABCA1. NBD-1 y NBD-2 son los dominios de unión de nucleótidos que contienen los regiones altamente conservadas Walker A, Walker B y Walker C.	40
Fig. 11. Haplotipos reportados en el gen SLC16A11 y sus frecuencias en distintas poblaciones: AFR, africana, EUR, europea, ASN, asiática; MXL, mexicanos de Los Ángeles; NA, nativos americanos.	42
Figura 12. Función general de los genes elegidos para el presente estudio.	43
Fig. 13. Composición genética de la población de Chimalhuacán vs otras poblaciones de referencia (1000 Genomas).	60
Fig. 14. Diagrama de árbol realizado con base en las distancias genéticas (Fst) de los tres componentes de la población analizada en su ancestría.	60

Contenido.	Página.
Fig. 15. Condiciones de PCR para los SNPs de HHEX, HNF4 $\alpha$ , CDKN2A/2B, SLC30A8, CDC123/CAMK1D, TCF7L2, ABCA1, SLC16A11 y AIM's.	108
Fig. 16. Fndamento del ensayo de genotipificación de SNP con sondas TaqMan <sup>®</sup> .	111
Fig. 17. Diagrama de discriminación alélica con tres grupos generados por medio de un ensayo de genotipificación de SNP con sondas TaqMan <sup>®</sup> .	112

## ÍNDICE DE ANEXOS.

Contenido.	Página
Anexo I. Métodos a través de los cuales se han identificado genes asociados a DT2.	97
Anexo II. Cuestionario aplicado a individuos de la tercera edad sin diabetes tipo 2.	99
Anexo III. Permiso del comité de ética del Hospital Juárez de México.	100
Anexo IV. Consentimiento informado.	101
Anexo V. Determinaciones bioquímicas en sangre.	103
Anexo VI. Método de extracción de ADN por salting out.	106
Anexo VII. Fundamento de la reacción en cadena de la polimerasa.	108
Anexo VIII. Sondas Taqman utilizadas en este estudio.	109
Anexo IX. Fundamento de la técnica de genotipificación con sondas Taqman a través de PCR en tiempo real.	110
Anexo X. Genes utilizados como marcadores de ancestría.	113
Anexo XI. Características de los marcadores informativos de ancestría utilizados.	114
Anexo XII. Norma oficial mexicana NOM-015-SSA2-2010 para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus.	115

## ABREVIATURAS.

<b>ABCA1</b>	Cassette transportador de unión a ATP tipo A1.
<b>ADA</b>	Asociación Americana de Diabetes.
<b>ALT</b>	Alanina aminotransferasa.
<b>AST</b>	Aspartato aminotransferasa.
<b>CAMK1D</b>	Proteína cinasa 1D dependiente de calcio/calmodulina.
<b>CDC123</b>	Proteína de división del ciclo celular 123.
<b>CDKN2A</b>	Inhibidor de cinasas dependiente de ciclina 2A.
<b>CDKN2B</b>	Inhibidor de cinasas dependiente de ciclina 2B.
<b>DT2</b>	Diabetes tipo 2
<b>ENSANUT</b>	Encuesta nacional de salud y nutrición.
<b>FPG</b>	Glucosa en ayuno.
<b>GCK</b>	Glucocinasa
<b>GWAS</b>	Estudio de asociación del genoma completo.
<b>Hb1Ac</b>	Hemoglobina glicosilada.
<b>HDL</b>	Lipoproteínas de alta densidad.
<b>HEX</b>	Gen homeótico hematopoiéticamente expresado.
<b>HNF4<math>\alpha</math></b>	Factor nuclear del hepatocito 4 $\alpha$ .
<b>HOMA-<math>\beta</math></b>	Modelo homeostático de evaluación de la función de la célula $\beta$ .

<b>HOMA-IR</b>	Modelo homeostático de evaluación de la resistencia a la insulina.
<b>HTA</b>	Hipertensión arterial.
<b>EASD</b>	Asociación europea para el estudio de la diabetes.
<b>IRS1</b>	Receptor de sustrato de insulina 1
<b>ICC</b>	Índice cadera-cintura.
<b>IDF</b>	Federación Internacional de Diabetes.
<b>IFG</b>	Glucosa alterada en ayuno.
<b>IGT</b>	Tolerancia alterada a glucosa.
<b>IMC</b>	Índice de masa corporal.
<b>INEGI</b>	Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática.
<b>KCNJ11</b>	Canal de potasio, subfamilia J, miembro 11.
<b>LDL</b>	Lipoproteínas de baja densidad.
<b>MODY</b>	Diabetes del adulto de inicio juvenil.
<b>NGSP</b>	Programa nacional de estandarización de la A1c.
<b>OGTT</b>	Evaluación de tolerancia oral a la glucosa.
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud.
<b>OR</b>	Razón de momios.
<b>PAD</b>	Presión arterial diastólica.
<b>PAS</b>	Presión arterial sistólica.
<b>PPAR<math>\gamma</math></b>	Receptor activado por proliferador de peroxisoma gamma

<b>PDX1</b>	Gen homeótico de páncreas y duodeno.
<b>RI</b>	Resistencia a la insulina
<b>SLC16A11</b>	Transportador de solutos familia 16 miembro 11.
<b>SLC30A8</b>	Transportador de solutos integrante de la familia 30 miembro 8.
<b>SNP</b>	Polimorfismo de un solo nucleótido.
<b>TCF7L2</b>	Factor 7 de células T similar al 2.
<b>VLDL</b>	Lipoproteínas de muy baja densidad.

## RESUMEN

La diabetes tipo 2 es considerada una de las emergencias de salud del siglo XXI. México presenta una de las más altas prevalencias de la enfermedad en el mundo y se pronostica que seguirá en aumento en los próximos años. Este país al ser una economía emergente padece los problemas de salud del primer y tercer mundo. Estudios del fondo genético de susceptibilidad a la enfermedad se han realizado en mestizos mexicanos pero pocos abordan poblaciones de vulnerabilidad económica que se encuentran rodeados de un ambiente con elevados factores de riesgo. Chimalhuacán es un municipio que se encuentra muy cercano a la Ciudad de México formando parte de la metrópoli más importante del país y de Latinoamérica. Este territorio alberga individuos de diferentes partes de la República que migran en busca de oportunidades de vivienda, empleo y desarrollo social, sin embargo, no siempre lo consiguen debido a la excesiva concentración económica y poblacional de la zona. En este contexto se evaluó la asociación de las variantes comunes rs1111875 (HHEX), rs1800961 (HNF4 $\alpha$ ), rs5219 (KCNJ11), rs1801282 (PPAR $\gamma$ ), rs10811661 (CDKN2A/2B), rs13266634 (SLC30A8), rs12779790 (CDC123/CAMK1D), rs7903146 (TCF7L2), rs9282541 (ABCA1) y rs13342692 (SLC16A11) con diabetes tipo 2 en población de Chimalhuacán. La investigación se realizó a través de un estudio de 139 casos y 79 controles en los cuales se evaluaron parámetros somatométricos, bioquímicos y se genotipificaron los polimorfismos antes descritos encontrando asociación con rs1801282 y rs7903146. Luego de estratificar por edad de aparición de la enfermedad, se encontró asociación de los rs10811661 y rs7903146 con diabetes tipo 2 de aparición temprana y de rs1801282 nominalmente; en diabéticos tardíos el rs7903146 presentó asociación nominal. La asociación del rs1801282 es la primera reportada en mestizos mexicanos. Adicionalmente se encontraron variantes genéticas relacionadas con alteraciones fenotípicas: rs1800961 con triglicéridos, VLDL y HB1Ac; rs5219 con glucosa; rs1801282 con HOMA- $\beta$ ; rs13266634 con insulina y HOMA- $\beta$ ; rs9282541 con HDL y HB1Ac y rs13342692 con HOMA-IR. Este es uno de los primeros estudios que analizan el fondo genético de la diabetes tipo 2 en una población mestiza mexicana de bajos ingresos económicos, lo cual, pudiera actuar sinérgicamente con los factores

genéticos de riesgo encontrados y así potencializar la susceptibilidad a la enfermedad en dichos individuos.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Definición y tipos de diabetes.

La diabetes es un grupo de enfermedades metabólicas caracterizada por hiperglicemia causada por defectos en la secreción de insulina, en la acción de ésta o ambas. Un exceso de glucosa queda circulante en la sangre debido a que no puede ser introducida a las células del cuerpo para convertirse en energía. La hiperglicemia crónica está asociada con daños a largo plazo, disfunción y falla de diferentes órganos especialmente en los ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos (1).

La clasificación de la diabetes se divide en las siguientes categorías generales (2):

### *Diabetes tipo 1.*

También es llamada diabetes juvenil. Es causada por una reacción autoinmune en la cual el sistema de defensa del cuerpo ataca las células  $\beta$  del páncreas por una razón que no está completamente clara. Por tanto, las personas que la padecen, producen muy poca insulina o no la producen. Por lo general, este tipo de diabetes puede presentarse en cualquier edad, sin embargo normalmente lo hace en niños y jóvenes adultos (3).

### *Diabetes tipo 2.*

La diabetes tipo 2 (DT2) también es llamada diabetes no dependiente de insulina ya que el cuerpo sí es capaz de producirla, sin embargo se convierte en resistente a ella y por lo tanto con el tiempo sus concentraciones se convierten en insuficientes. Tanto la resistencia a la insulina como su deficiencia llevan a altos niveles de glucosa en sangre (3). Éste es el tipo de diabetes más común (2).

### *Diabetes mellitus gestacional.*

Es una forma de diabetes en la cual las concentraciones de glucosa son altas durante el embarazo. Se desarrolla en uno de 25 embarazos en todo el mundo y se asocia con

complicaciones para la mamá y el bebé. Normalmente este tipo de diabetes desaparece cuando termina el embarazo, sin embargo tanto la madre como el hijo tienen altas probabilidades de sufrir DT2 años más tarde (3).

#### *Tipos específicos de diabetes debido a otras causas*

Síndromes de diabetes monogénica (tal como la diabetes neonatal y la diabetes tipo MODY [Maturity-Onset diabetes of the Young]), enfermedades del páncreas exócrino (tal como fibrosis quística) y diabetes inducida por químicos o fármacos (tal como el uso de glucocorticoides en el tratamiento del virus de inmunodeficiencia humana o luego del trasplante de un órgano) (2).

### **1.2. Pruebas de diagnóstico para diabetes.**

En 1997 la Asociación Americana de Diabetes (ADA) establecía que para el diagnóstico de diabetes se requería un valor de la glucosa en plasma en ayuno (Fasting plasma glucose [FPG])  $\geq 7.0$  mmol/L (126 mg/dL) mientras que la Organización Mundial de la Salud (OMS) utilizaba los valores de la prueba de tolerancia oral a la glucosa a las 2 h (Oral glucose tolerance test [OGTT])  $\geq 11.1$  mmol/L (200 mg/dL) (4). En julio del 2009 miembros de la ADA, la EASD y la IDF recomendaron el criterio adicional de la hemoglobina glicosilada (HbA1c).

Actualmente los criterios se han unificado y la diabetes puede ser diagnosticada a través de cuatro diferentes pruebas. La primera corresponde a un valor  $\geq 126$  mg/dL de glucosa plasmática luego de un ayuno de al menos 8 h. La segunda corresponde a un valor  $\geq 200$  mg/dL de glucosa plasmática luego de 2 h de someterse a una OGTT. Esta prueba debe ser realizada como describe la OMS, utilizando una carga de glucosa que contenga el equivalente de 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua. La tercer prueba corresponde a la evaluación del porcentaje de HbA1c. Comparada con la glucosa en ayuno, esta prueba tiene varias ventajas como evaluación de diagnóstico: tiene mayor reproducibilidad (5-7) debido al enlace estable que resulta de la unión del grupo aldehído de la glucosa con el amino de la hemoglobina (base de Schiff), puede ser

evaluada en un estado de no ayuno y es la evaluación preferida para monitorear el control de la glucosa ya que proporciona un promedio de la glucosa en sangre de los 2 o 3 meses anteriores a la fecha de la prueba (1). Un valor de HbA1c  $\geq$  6.5% corresponde a un diagnóstico de diabetes. La prueba debe ser realizada en un laboratorio usando un método certificado por el Programa nacional de estandarización de la HbA1c (NGSP, por sus siglas en inglés). En un paciente con síntomas clásicos de hiperglicemia o en crisis hiperglicémica una medición de glucosa plasmática  $\geq$  200 mg/dL es suficiente (2).

Debido a que la prevención de la DT2 actualmente juega un papel clave para el control de la epidemia que representa a nivel mundial, otros criterios para su prevención se han establecido (1). Éstos corresponden a la alteración de la tolerancia a la glucosa (Impaired Glucose Tolerance [IGT]) y la alteración de la glucosa en ayuno (Impaired Fasting Glucose [IFG]). La IGT se define como concentraciones mayores a 140 mg/dL de glucosa tras las comidas (glucosa post-prandial), mientras que la IFG se define como concentraciones entre 100-125.9 mg/dL de glucosa tras un ayuno (glucosa pre-prandial). En la Tabla 1 se observan los valores que definen el estado de la persona en función a los criterios descritos (1).

Tabla 1. Valores según la ADA para la clasificación del estado de salud de la persona con base en Hb1AC, FPG y OGTT.

	Hb1Ac (%)	Glucosa plasmática en ayuno (mg/dL)	Prueba de tolerancia oral a la glucosa a las dos horas (mg/dL)
Normal	< 5.7	< 100	<140
Alto riesgo para desarrollar diabetes	6-6.4	100 - 125	140 - 199
Diabetes	$\geq$ 6.5	$\geq$ 126	$\geq$ 200

Hb1AC, hemoglobina glicosilada; FPG, glucosa plasmática en ayuno; OGTT, prueba de tolerancia oral a la glucosa

### 1.3. Epidemiología de la diabetes tipo 2.

La diabetes es una de las más importantes emergencias de salud del siglo XXI. La IDF estima que 415 millones de personas adultas (20–79 años) padecieron diabetes en 2015 y para 2040 se incrementará este número a 642 millones con una prevalencia del 8.8 y 10.4%, respectivamente (2). La OMS estima que a nivel mundial, la hiperglicemia es el tercer factor de riesgo para mortalidad prematura luego de la hipertensión arterial y el tabaco (8).

#### 1.3.1. Situación en México.

De acuerdo con los estimados de la IDF, México es uno de los países con más alta prevalencia de diabetes a nivel mundial (>12%) (Fig. 1) y ocupa el 6º lugar en número de personas que la padecen (Tabla 2). El INEGI reporta que la diabetes es la segunda causa de muerte en el país (9), representa un gasto de 3,430 millones de dólares al año en su atención y complicaciones y tiene una prevalencia de 9.2% la cual ha ido en aumento desde el reporte del año 2000 de la Encuesta Nacional de Salud (ENSA 2000 fue de 4.6%; ENSANUT 2006 fue de 7.3%) (10).

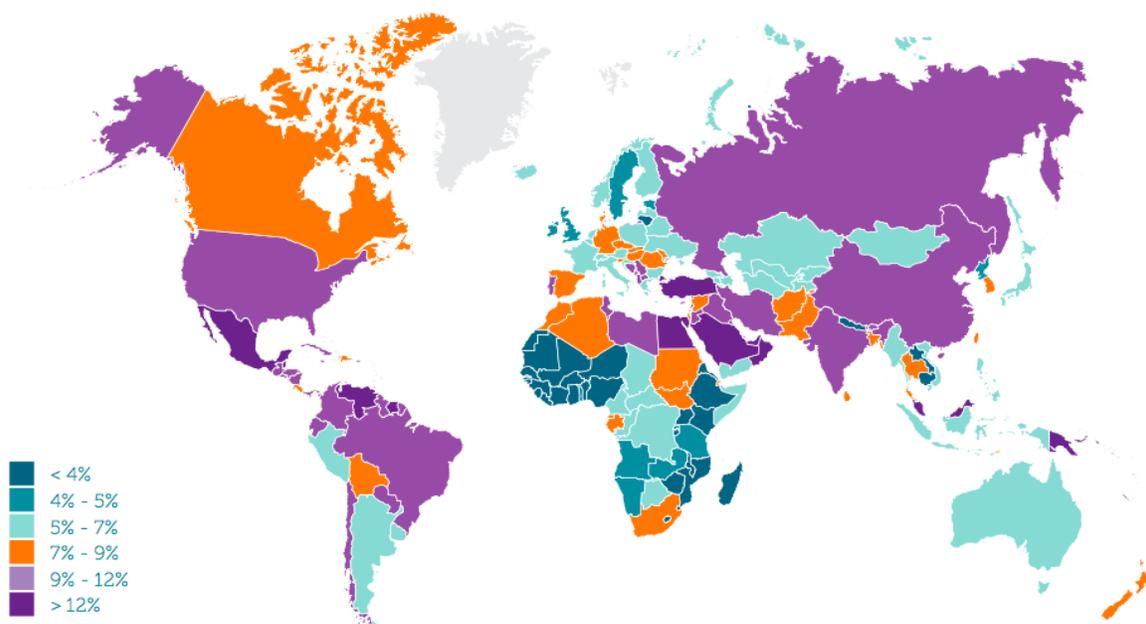
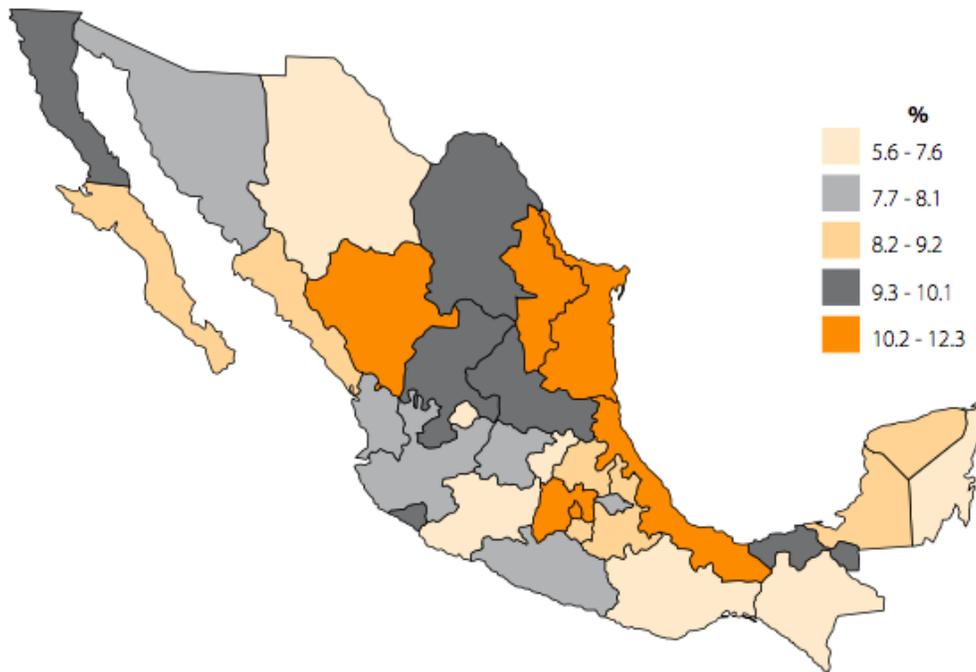


Fig. 1. Prevalencia de diabetes ajustada por edad en adultos (20-79 años de edad) (3).

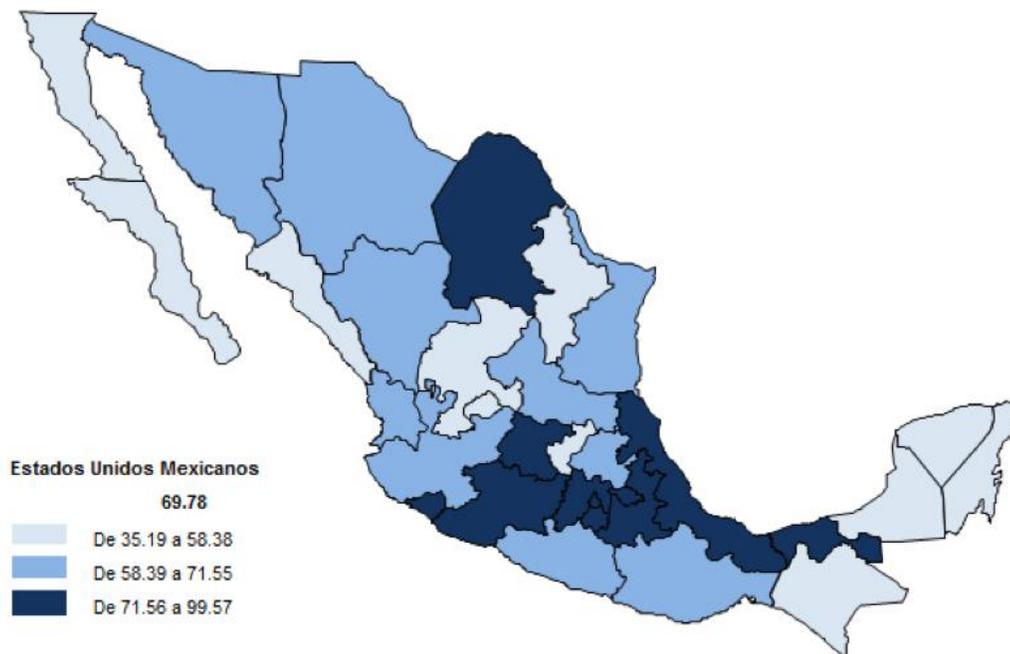
Tabla 2. Los 10 principales países por número de personas afectadas por diabetes en 2015.

	<b>País</b>	<b>Número de personas con DT2 en 2015</b>
1	China	109.6 millones (99.6-133.4)
2	India	69.2 millones (56.2-84.8)
3	Estados Unidos de América	29.3 millones (27.6-30.9)
4	Brasil	14.3 millones (12.9-15.8)
5	Federación Rusa	12.1 millones (6.2-17.0)
6	México	11.5 millones (6.2-13.7)
7	Indonesia	10.0 millones (8.7-10.9)
8	Egipto	7.8 millones (3.8-9.0)
9	Japón	7.2 millones (6.1-9.6)
10	Bangladesh	7.1 millones (5.3-12.0)

Respecto a la proporción de adultos con diagnóstico médico previo de diabetes por entidad federativa, las prevalencias más altas se identifican en el Estado de México, Distrito Federal, Nuevo León, Veracruz, Tamaulipas, Durango y San Luis Potosí (Fig. 2). Mientras que si se analiza la distribución de la tasa de mortalidad debido a la enfermedad, el INEGI reporta que en 2011 los estados más afectados fueron Estado de México, Coahuila, Veracruz, Tabasco, Hidalgo, Nayarit, Michoacán, DF, Puebla, Tlaxcala y Morelos (Fig. 3).



*Fig. 2. Prevalencia de diabetes por diagnóstico médico previo según entidad federativa en México (10).*



*Fig. 3. Tasa de mortalidad observada en la población por diabetes mellitus por entidad federativa en 2011 por cada 100 mil habitantes (11).*

#### **1.4. Diabetes tipo 2: enfermedad compleja.**

La DT2 es una enfermedad compleja y multifactorial en la que coexisten factores ambientales y genéticos para su desarrollo. Dentro de los factores de riesgo se encuentran algunos modificables como el sobrepeso y la obesidad, la inactividad física, los factores dietarios, el fumar, las dislipidemias, la hipertensión y los factores intrauterinos, entre otros. Entre los factores no modificables que destacan son la edad, el sexo, la etnicidad, la historia familiar de DT2, historia gestacional y el síndrome de ovario poliquístico (12). Ya que la epidemia global de DT2 está unida a tasas en incremento de sobrepeso y obesidad en adultos la cual a su vez está relacionada con dislipidemias, se considera que son los predictores más importantes de la DT2 por lo que a continuación se describe brevemente su relación con el desarrollo de la enfermedad. Así mismo se habla de la definición de población vulnerable y su relación con el desarrollo de DT2.

##### *Sobrepeso y obesidad.*

El sobrepeso y la obesidad son los factores de riesgo modificables más importantes de la DT2, de hecho se ha encontrado que la obesidad contribuye a aproximadamente el 55% de los casos (13). Estos factores se pueden determinar a partir del Índice de Masa Corporal (IMC), valores que la OMS ha establecido para definir si una persona padece sobrepeso u obesidad (Tabla 3) (14).

Por otra parte, se han hecho estudios en los cuales otros tipos de indicadores como la circunferencia de cintura y el índice cintura/cadera (ICC), son muy adecuados para la determinación de riesgo a padecer la enfermedad ya que reflejan la adiposidad central y han sido sugeridos como superiores al IMC para determinar el riesgo de padecer DT2 debido a que evita las diferencias en la antropometría racial (15).

Tabla 3. Factores de riesgo, su clasificación, valor y asociación con el nivel de riesgo a padecer DT2.

Factor de riesgo	Clasificación	Valor	Nivel de riesgo
IMC* (kg/m <sup>2</sup> )	Normal	18.5-24.9	Muy bajo
	Sobrepeso	25-29.9	Bajo
	Obesidad grado I	30 - 34.9	Alto
	Obesidad grado II	35 - 39.9	Severo
	Obesidad grado III	>40	Muy severo
ICC	Hombres	<0.95	Muy bajo
		0.96 - 0.99	Bajo
		>1	Alto
	Mujeres	<0.8	Muy bajo
		0.81 - 0.84	Bajo
>0.85		Alto	
Circunferencia de cintura (cm)	Hombres	<94	Bajo
		94 - 101.9	Alto
		>102	Muy alto
	Mujeres	<80	Bajo
		80 - 87.9	Alto
> 88		Muy alto	
*Puntos de corte propuestos por la Organización Mundial de la Salud. IMC, índice de masa corporal; ICC, índice cadera-cintura.			

### Dislipidemias.

Los ácidos grasos son la fuente de energía esencial para las células  $\beta$  en un estado normal de salud, éstos se convierten en tóxicos cuando están en niveles elevados crónicamente. La exposición prolongada de las células  $\beta$  a los ácidos grasos incrementa la liberación basal de insulina pero inhibe su secreción inducida por la presencia de glucosa. Además, los ácidos grasos inhiben la expresión del gen de la insulina en presencia de niveles elevados de glucosa (16) vía la regulación negativa del factor de transcripción PDX1 (Gen homeótico de páncreas y duodeno) (17). Así, un excesivo nivel de ácidos grasos induce la muerte de la célula  $\beta$  por apoptosis *in vitro* (18). De la misma forma, una concentración baja de HDL es un factor de riesgo para el desarrollo de DT2 (19) lo que a su vez conlleva a una elevada concentración de colesterol en sangre generando cambios en el patrón de los lípidos séricos los cuales generan

también daño vascular aterosclerótico que constituye la complicación más común de la enfermedad. Los niveles recomendados por la ADA para los lípidos séricos en una persona saludable se pueden observar en la Tabla 4.

Tabla 4. Valores recomendados por la ADA para una persona saludable.

	Concentración (mg/dL)	Concentración (mmol/L)
LDL	<130	<2.6
HDL	> 40	>1.1
Triglicéridos	< 150	1.7
LDL, lipoproteínas de baja densidad; HDL, lipoproteínas de alta densidad.		

#### *Las poblaciones vulnerables y su relación con DT2.*

La vulnerabilidad se define como la susceptibilidad a sufrir un daño y resulta de la interacción entre los recursos disponibles de los individuos y los desafíos que éstos enfrentan en la vida. La vulnerabilidad se genera debido a problemas de desarrollo, incapacidades personales, estatus social en desventaja, redes interpersonales inadecuadas, entornos degradados e interacciones complejas de todos estos factores en el curso de la vida (20).

Las poblaciones en situación vulnerable respecto a la salud han sido definidas como aquellos grupos sociales que poseen un elevado riesgo o susceptibilidad a padecer alguna enfermedad debido a que tienen menores probabilidades de recibir cuidados de prevención y calidad en su salud (22). Ejemplos de ellos son los individuos económicamente desfavorecidos, las minorías raciales o étnicas, los individuos sin seguro de salud, los niños de bajos recursos, las personas de la tercera edad, los vagabundos, los individuos con el virus humano de inmunodeficiencia, los individuos con condiciones crónicas de salud, entre otros (23). Sus problemas de salud intersectan con factores sociales tales como vivienda, pobreza y educación inadecuada (24).

Los factores sociales determinantes de salud juegan un papel de suma importancia en la prevención y manejo de la DT2. Estos factores incluyen el ingreso económico, la educación, el desempleo, la inseguridad de trabajo, las condiciones de trabajo, el desarrollo de la infancia temprana, la inseguridad alimentaria, la vivienda, la exclusión social, los servicios de salud, el origen étnico, el sexo y las discapacidades físicas (21).

La DT2 tiene una mayor prevalencia en poblaciones con bajos ingresos económicos inclusive en países desarrollados (25). Un estudio canadiense encontró que la prevalencia de la enfermedad fue 4 veces más alta en el grupo de individuos con el menor ingreso económico comparado con aquellos del más alto ingreso (26). Además, también se ha reportado que las poblaciones de bajos ingresos tienen mayores tasas de complicaciones relacionadas con la diabetes y mortalidad prematura (27). Entre otras razones se encuentra la inseguridad alimentaria la cual pudiera ser considerado de alto impacto en la prevalencia y control de la DT2. La inseguridad alimentaria establece una estrecha relación entre la dieta y la salud metabólica de los individuos. La ingesta insuficiente de calorías genera bajo peso en las personas mientras que la ingesta de una inadecuada calidad de calorías participa en el desarrollo de sobrepeso, de obesidad, de intolerancia a la glucosa y de DT2 (en orden descendente). Por el contrario, la seguridad alimentaria permite (aunque no implica que así sea en todos los casos) una ingesta calórica en calidad y cantidad adecuada que conlleva una buena salud metabólica (28).

Debido a que no se entienden por completo los mecanismos a través de los cuales se relaciona la enfermedad y la inseguridad alimentaria, mayores estudios son requeridos para poder eliminar esta relación como estrategia prometedora para mejorar las necesidades de salud pública de acuerdo a las características propias de cada población.

## 1.5. Genética de la diabetes tipo 2.

Tal como muchas otras enfermedades complejas, la DT2 tiene un significativo componente genético con una heredabilidad estimada que va del 26 a 73% (29). Existen pruebas convincentes de que el riesgo individual a padecer DT2 está fuertemente influenciado por factores genéticos (30) tal como la agrupación familiar de sensibilidad y la secreción de insulina, el alto grado de concordancia en las tasas de DT2 en gemelos monocigóticos vs dicigóticos, así como su alta prevalencia en ciertos grupos étnicos (Indios Pima o Mexicanos-Americanos) (31, 32), inclusive se ha demostrado que el riesgo a padecer DT2 es el doble si la madre la tiene, aunque aún se desconoce el mecanismo de transmisión parental (33) y que en un individuo el tener una historia familiar de diabetes incrementa el riesgo para presentar la enfermedad de 1.5 hasta 3.0, lo cual se ha confirmado consistentemente tanto en estudios transversales como longitudinales (33, 34). Los patrones de herencia sugieren que la DT2 es tanto poligénica como heterogénea, es decir, múltiples genes están involucrados y diferentes combinaciones de ellos juegan un rol distinto en diferentes subgrupos de individuos (35).

Los esfuerzos por identificar genes con variantes asociadas a DT2 a nivel mundial han sido diversos (Anexo I), éstos comenzaron a dar frutos en la década de 1990 a través de estudios de gen candidato al encontrar dichas variantes en los genes del receptor de sustrato de insulina 1 (IRS1) (36), glucocinasa (GCK) (37), canal de potasio, subfamilia J, miembro 11. (KCNJ11) (38) y receptor activado por proliferador de peroxisoma gamma (PPAR $\gamma$ ) (39). Más tarde, durante la década del año 2000 se descubrieron variantes en los genes del factor nuclear del hepatocito 1B (HNF1B) (40), de la wolframina (WFS1) (41) y a través de estudios de análisis de ligamiento en el del factor nuclear del hepatocito 4 $\alpha$  (HNF4 $\alpha$ ) (42) y factor 7 de células T similar al 2 (TCF7L2) (43). A partir de la década del año 2010, los estudios de asociación del genoma completo (GWAS por sus siglas en inglés) basados en microarreglos de alto rendimiento dieron lugar al conocimiento actual de más de 75 genes con variantes asociadas a la enfermedad, en los cuales 88 polimorfismos han sido robustamente asociados ( $p < 5 \times 10^{-8}$ ) (44) a la enfermedad a pesar de los 136 que han sido

identificados (45).

### **1.6. Variabilidad genética entre individuos.**

La variabilidad genética entre individuos se refiere a mutaciones que puede presentar un sujeto en su información genética el cual es de alrededor del 0.1%, esto es  $3 \times 10^6$  pares de bases susceptibles de presentar cambios de un solo nucleótido o de polimorfismos múltiples. Para que esta presencia de dos o más alelos en un locus sea considerada un polimorfismo, se requiere que su frecuencia sea igual o superior al 1% de los individuos de una misma población de estudio (46).

El 90% de la diversidad fenotípica humana proviene de las variaciones heredadas en una sola base o polimorfismo de un solo nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés) (47). Actualmente se han descrito más de 10 millones de SNP, aunque se estima que existen aproximadamente 20 millones, alcanzando una distribución de aproximadamente un SNP por cada 100-300 nucleótidos (48).

### **1.7. Generalidades de los polimorfismos estudiados.**

La variación genética en los *loci* de riesgo para DT2 ha sido ampliamente caracterizada en poblaciones de descendencia Europea y en mucho menor escala en poblaciones Africana e Hispana (49, 50); sin embargo, réplicas multiétnicas son útiles para identificar genes de susceptibilidad significativos en una región específica debido a la heterogeneidad ya descrita de la enfermedad (51). Así, en la Tabla 5 se encuentran resumidos los diez genes elegidos para el presente trabajo los cuales muestran hasta el momento distintos resultados de asociación con DT2 en mestizos mexicanos con resultados controversiales los cuales han sido en su mayoría identificados en población europea. Todos ellos se han estudiado en habitantes de México (mestizos o indígenas) y a través de estudios casos-control.

Tabla 5. Polimorfismos elegidos con los resultados de asociación a DT2 reportados en población mexicana.

Gen	rs	Razón de momios	p	Población	Referencia
<i>CDKN2A/2B</i>	rs10811661	2.02 (1.01-4.02)	0.047	Indígena mexicana	91.
		1.47 (1.14-1.89)	0.003	Mestiza mexicana	90.
<i>ABCA1</i>	rs9282541	2.29 (1.39-3.93)	0.003	Indígena mexicana	91.
		2.50 (1.48-4.24)	0.001	Mestiza mexicana	118.
<i>SLC16A11</i>	rs13342692	-	-	Mestiza mexicana	126.
<i>TCF7L2</i>	rs7903146	1.41 (1.30-1.53)	2.5x10 <sup>-17</sup>		
		1.39 (1.04-1.85) <sup>a</sup>	0.024	Mestiza mexicana	90.
		1.73 (1.27-2.35)	0.0001	Mestiza mexicana	144.
		1.39 (0.89-2.17)	0.152	Mestiza mexicana	111.
		1.76 (*)	0.001	Mestiza mexicana	112.
<i>SLC30A8</i>	rs13266634	1.21 (1.00-1.46)	0.040	Mestiza mexicana	90.
		1.007 (0.764-1.327)	0.961	Mestiza mexicana	97
<i>CDC123/CAMK1D</i>	rs12779790	1.26 (1.02-1.58)	0.036	Mestiza mexicana	90.
<i>HHEX</i>	rs1111875	1.12 (0.875-1.436)	0.367	Mestiza mexicana	97.
		1.01 (0.89-1.16)	0.859	Mestiza mexicana	90.
<i>HNF4a</i>	rs1800961	3.38 (1.14-10.03) <sup>a</sup>	0.028	Mestiza mexicana	46.
<i>KCNJ11</i>	rs5219	1.10 (0.96-1.26)	0.154	Mestiza mexicana	90.
<i>PPARγ</i>	rs1801282	1.10 (0.90-1.34)	0.342	Mestiza mexicana	90.
		1.05 0.46-2.39	0.89	Mestiza mexicana	144.

a. Asociación con diabéticos tempranos. \*No reportado. rs; SNP de referencia; ABCA1, cassette transportador de unión a ATP tipo A1; PPAR $\gamma$ , receptor activado por proliferador de peroxisoma gamma; HNF4 $\alpha$ , factor nuclear del hepatocito 4 $\alpha$ ; CDKN2A, inhibidor de cinasas dependiente de ciclina 2A/B; SLC30A8, transportador de solutos integrante de la familia 30 miembro 8; TCF7L2, factor 7 de células T similar al 2; KCNJ11, canal de potasio, subfamilia J, miembro 11; HHEX, gen homeótico hematopoiéticamente expresado; SLC16A11, transportador de solutos familia 16 miembro 11; CDC123, proteína de división del ciclo celular 123; CAMK1D, proteína cinasa 1D dependiente de calcio/calmodulina.

## Factor nuclear 4 $\alpha$ del hepatocito (*HNF4 $\alpha$* )

El gen se encuentra en el cromosoma 20q13.1-13.2, se compone de al menos 12 exones, tiene dos promotores y abarca > 60kb. Al menos 6 isoformas de HNF4 $\alpha$  son generados por corte y empalme activando la expresión de diversos genes, especialmente los involucrados en el metabolismo de glucosa, ácidos grasos y colesterol (52). Los dominios funcionales del gen en humanos se observan en la figura 4.

En hígado el HNF4 $\alpha$  se requiere para el mantenimiento de la gluconeogénesis hepática normal (53) y en células  $\beta$  regula la expresión de genes implicados en el metabolismo de la glucosa, la activación de la expresión del gen de la insulina, la secreción de ésta, así como también actúa sobre genes blanco de GLUT2 (54). Es un gen altamente polimórfico.

El rs1800961 involucra un cambio de nucleótidos C/T que genera a su vez un cambio de treonina por isoleucina (T130I). Ésta afecta el dominio de unión al ADN resultando en una reducción de la función de transactivación de la proteína (55). Estudios en cultivos primarios de hepatocitos de ratón y en la línea celular HepG2 con la variante T130I muestran una disminución transcripcional de HNF4 $\alpha$  (78%), sin embargo en las líneas celulares Hela y MIN6 este efecto no se observa (56).

La variante rs1800961 se ha asociado a DT2 en diferentes poblaciones europeas (42, 57, 58) y en japoneses. En mexicanos ha sido asociada en diabéticos no obesos menores a 35 años de edad (55) y con diabetes mellitus gestacional (59). La última asociación reportada en diabetes de aparición temprana es en población española (60)



Fig. 4. Dominios funcionales del gen *HNF4* en humanos y ubicación del polimorfismo *T130I*.

Gen homeótico hematopoiéticamente expresado (*HHEX*).

Se localiza en el cromosoma 10 región q23.33 y codifica una proteína de 270 aminoácidos con tres dominios principales: un dominio N-terminal rico en prolina, un homeodominio y una región C-terminal ácida; contiene 4 exones y se extiende en 5.7 kb (61).

El gen *HHEX* codifica para un factor de transcripción regulador involucrado en la vía de señalización Wnt. Es esencial en el desarrollo de los vertebrados y en la formación de órganos vitales, como el hígado, tiroides, corazón y páncreas donde participa en la diferenciación de la célula delta sin afectar el número de células  $\beta$  en páncreas (62).

Su actividad primaria en la vida adulta está en el mantenimiento de la somatostatina producida por las células delta y por tanto en el control parácrino de las células alfa y  $\beta$ . Dicho control parácrino para la homeostasis de glucosa se ha reforzado con la presencia de la proteína *HHEX* en células delta (11% de las células del islote humano) comprobado en ratón y humano (63). Con base en lo anterior se ha propuesto que la desregulación de la expresión de *HHEX* genera un mal control parácrino de la secreción de insulina en la DT2 generando un agotamiento acelerado de la célula  $\beta$  y eventualmente su falla (64).

La variante rs1111875 se encuentra en una región intrónica donde el cambio de nucleótido es T/C siendo el alelo de riesgo C. Se ha asociado a menor función de la célula  $\beta$  corroborado por OGGT y clamp, a menor sensibilidad a la insulina y a DT2 en

población japonesa (65) y germana (66).

Canal de potasio, subfamilia J, miembro 11 (*KCNJ11*).

El gen *KCNJ11* se encuentra en la posición 11p15.1 y codifica para la subunidad Kir6.2 del canal  $K_{ATP}$  la cual es una proteína de 390 aminoácidos sin intrones con la que se forma la parte interior del canal (67). La parte exterior la forman las subunidades SUR1 que son codificadas por el gen *ABCC8* (68) (Fig. 5).

La mutación rs5219 resulta de una transición  $G \rightarrow A$  en el codón 23 del amino terminal de Kir6.2 provocado un cambio de ácido glutámico por lisina (E23K)(69). Reportes de modelos *in vitro* han revelado que la mutación K23 requiere un mayor umbral de concentración de ATP para la liberación de insulina lo que implica una menor sensibilidad del canal (70). Dicha mutación predispone a DT2 en el adulto asociándose con una respuesta alterada de insulina luego de un examen de tolerancia a la glucosa (71) y en general involucrándola con el funcionamiento de la célula  $\beta$  y la acción de la insulina (72).

Ha sido estudiado principalmente en población caucásica (38, 72). En un último meta-análisis, la variante reportó una asociación con DT2 de 1.12 (95% CI: 1.09–1.16;  $P < 10^{-5}$ ) encontrando riesgos incrementados para caucásicos y asiáticos del este. En general reporta un modesto pero estadísticamente significativo efecto en la susceptibilidad a la enfermedad (73).

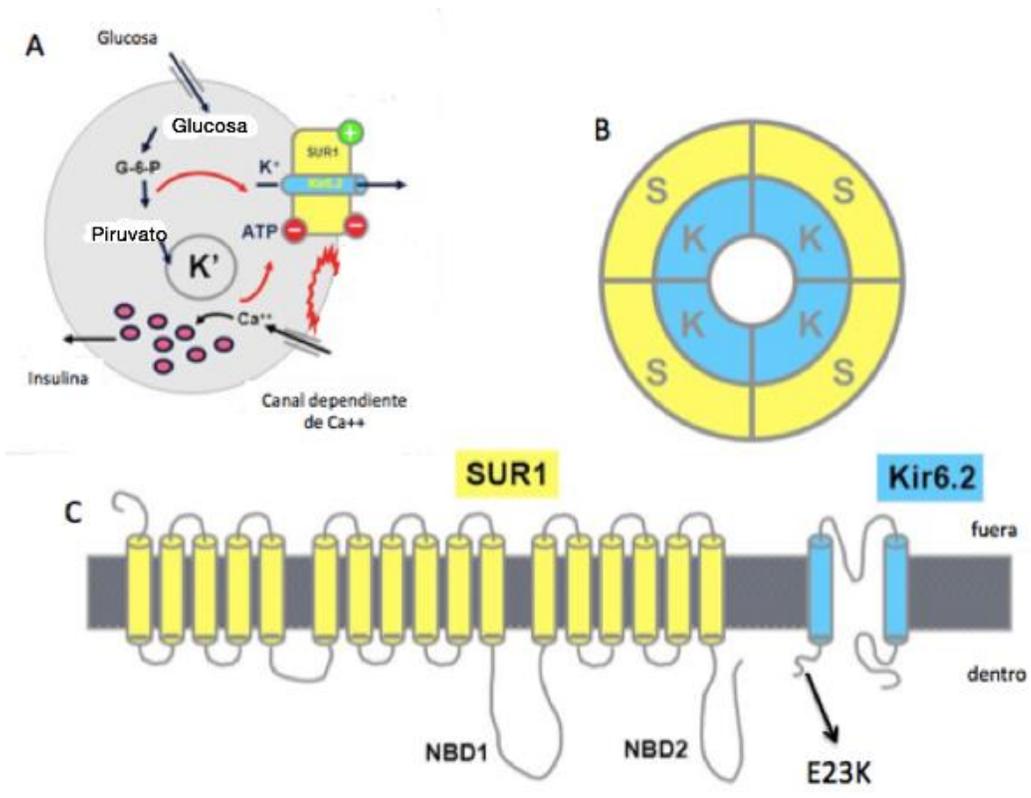


Fig. 5. A) Esquema de la secreción de insulina con la participación del canal de  $K_{ATP}$ . B) Estructura del canal de  $K_{ATP}$  a partir de las subunidades SUR1 (S) y Kir6.2 (K). C) Dominios transmembranales de las subunidades SUR1 y Kir6.2 con la ubicación del polimorfismo E23K. Modificado de (74).

Receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma gamma ( $PPAR\gamma$ ).

Se localiza en el brazo corto del cromosoma 3 (3p25), contiene 9 exones, abarcando cerca de 100 kb (75). Se expresa de manera importante en tejido adiposo aunque también en intestino grueso, hígado, riñón y en muy pequeñas cantidades en músculo esquelético (76).  $PPAR\gamma$  se presenta en dos isoformas,  $\gamma 1$  y  $\gamma 2$  que son generadas por corte y empalme alternativo (Fig. 6). Aproximadamente el 15% de todo el RNAm de  $PPAR\gamma$  es de tipo  $PPAR\gamma 2$  y está presente en el tejido adiposo e hígado.

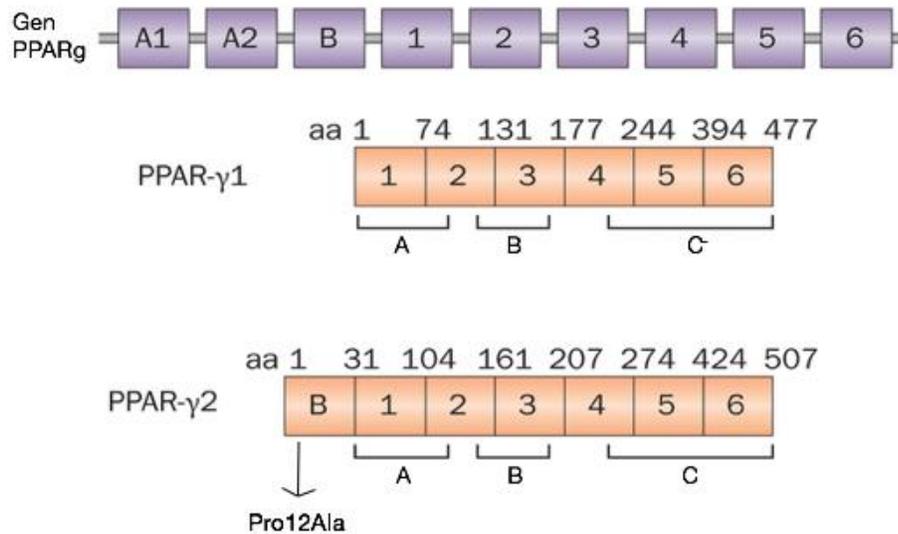


Fig. 6. El gen del receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma gamma (PPAR $\gamma$ ), las proteínas PPAR $\gamma$ 1, PPAR $\gamma$ 2 y ubicación del polimorfismo P12A. A) Dominio de activación independiente de ligando. B) Dominio de unión a ADN. C) Dominio de unión a ligando. Modificado de (77).

El gen PPAR $\gamma$  dimeriza con los receptores retinoides X (RXR) regulando la transcripción de genes involucrados en sensar la glucosa así como la secreción y transcripción de insulina (pdx-1, GLUT-2, glucocinasa). Es activado tanto por los ácidos grasos de la dieta como por sus derivados metabólicos que actúan como sensores de lípidos redireccionando el metabolismo hacia la adipogénesis (78). La expresión ectópica de PPAR $\gamma$  lleva a la expresión de genes específicos del adipocito y a la acumulación de lípidos como los triglicéridos en numerosas células no adiposas (79, 80).

El polimorfismo rs1801282 es un cambio de C/G donde el alelo de riesgo (C) se encuentra en una alta frecuencia (0.86) en la población mundial, es un alelo ancestral. Pro12Ala se identificó por primera vez en 1997 (81) y su primer asociación con la enfermedad a través de un meta-análisis ocurrió en el año 2000 (82). A pesar de que ha sido estudiado en asiáticos y mexico-americanos, su asociación con la enfermedad en su mayoría se ha demostrado en población de descendencia europea (83). El efecto que

proporciona el alelo C es modesto, sin embargo debido a su elevada frecuencia en la población éste se traduce en un 13 – 16% de riesgo incrementado a padecer DT2 (82, 84).

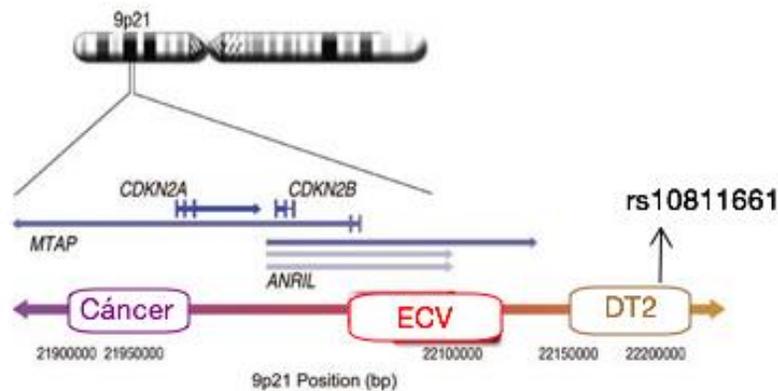
Se ha asociado en japoneses-americanos (39), caucásicos y asiáticos (85, 86). Su principal efecto en la homeostasis de glucosa es la resistencia a la insulina con un OR 1.13 (1.09-1.17) (84). En población mexicana dicho polimorfismo solo ha sido asociado a sobrepeso y obesidad tanto en Mestizos como en Indígenas (87); sin embargo, no se ha informado ninguna relación directa con diabetes.

Inhibidor de cinasas dependiente de ciclina 2A/B (*CDKN2A/CDKN2B*).

Los genes *CDKN2A* y *CDKN2B* están ambos ubicados en 9p21.3 con 8 y 2 exones respectivamente que codifican para p16<sup>INK4a</sup>, ARF y p15<sup>INK4b</sup> los cuales son tres inhibidores de las cinasas dependientes de ciclinas CDK4 y CDK5. p16<sup>INK4a</sup> y p15<sup>INK4b</sup> controlan la proliferación celular (deteniendo el ciclo celular en la fase G1), el envejecimiento celular y la apoptosis (88-90). Estas funciones pueden ser influenciadas por altas concentraciones de glucosa (91) u otras condiciones asociadas con ello tal como la resistencia a la insulina. CDK4 y CDK5 se expresan en islotes pancreáticos y adipocitos y juegan un papel importante en la regeneración y función de las células  $\beta$  (92). De hecho en modelos murinos p15<sup>INK4b</sup> se asocia con hipoplasia de los islotes pancreáticos y una alteración de la secreción de insulina inducida por glucosa (93). Ratones knock-out para CDK4 han presentado una reducción en las células  $\beta$  pancreáticas y por tanto han desarrollado diabetes; ratones con CDK4 mutante han mostrado alteraciones en la unión al inhibidor p16<sup>INK4a</sup> produciendo hiperplasia pancreática debido a una mayor proliferación de las células  $\beta$  (94, 95).

La mutación rs10811661 se encuentra en una región intergénica con un cambio T/C donde el alelo de riesgo es T y no es el alelo menor en la mayoría de las poblaciones de acuerdo con reportes del proyecto 1000 genomas. Éste se localiza río arriba del gen *CDKN2B* en una región donde se han descrito diversos polimorfismos asociados a DT2

(Fig. 7). El primer año en que se presentó asociación entre esta variante con DT2 fue en 2007 (96) y a partir de entonces se ha encontrado en diversas poblaciones principalmente caucásica (96-98), asiática (99, 100) y en dos estudios de mexicanos (101, 102). En un meta-análisis reciente se reporta para la variante de riesgo un OR de 1.18 (1.15-1.22) (84) cuyo efecto en la homeostasis de glucosa se ha asociado con una reducción en la función de la célula  $\beta$  e inclusive con glucosa alterada en ayunas (103). Cabe mencionar que existen otras variantes cercanas a estos genes cuyo efecto también se ha descrito como una reducida masa de la célula  $\beta$  lo cual resulta en una menor secreción de insulina (104, 105).



*Fig. 7. Ubicación cromosómica del locus 9p21 que comprende a los genes del inhibidor de cinasas dependiente de ciclina 2A/B (CDKN2A/B), CDKN2B-AS (ANRIL) y metil tioadenosin fofsforilasa (MTAP). Cada región contiene polimorfismos asociados a las enfermedades descritas, se muestra la ubicación del polimorfismo rs10811661. ECV, enfermedad cardiovascular; DT2, diabetes tipo 2.*

Transportador de solutos integrante de la familia 30 miembro 8 (*SLC30A8*).

La insulina se encuentra almacenada como un hexámero sólido unido a dos iones de  $Zn^{2+}$  dentro de vesículas secretoras que contienen en su membrana un transportador para dicho metal. Cuando se secreta insulina, estas vesículas se fusionan con la membrana plasmática de las células  $\beta$  del páncreas y se libera su contenido a la circulación, es decir tanto la insulina como el zinc (Fig. 8).

El gen SLC30A8 se localiza en el cromosoma 8q24.11, consta de 13 exones que codifican 52 aminoácidos y existen dos isoformas principalmente localizadas en el páncreas que es donde éste se expresa principalmente y codifica para el transportador de Zinc ZnT-8 el cual lo acarrea del citoplasma a los gránulos intracelulares secretores de insulina por lo que a su vez está implicado en la maduración y almacén de insulina en las células  $\beta$  (106). La expresión del ZnT-8 se ha observado disminuida en el páncreas de ratones diabéticos y en ratones cuyo gen está deletado existe una menor insulina plasmática y una marcada menor concentración de zinc (107).

El polimorfismo rs13266634 es un cambio C/T que conduce en la proteína a un cambio de arginina (R) por triptófano (W) en el codón 325. El alelo C (Arg325) de mayor frecuencia se asocia con un aumento en la susceptibilidad de DT2 en población caucásica, árabe de Túnez y mestiza mexicana (174, 179, 180(108)) y en otro estudio de mexico-americanos se le ha asociado con un mayor IMC (109). El alelo de riesgo de este polimorfismo ha sido una de las primeras y más reproducibles variantes asociadas con la enfermedad con un efecto modesto pero fuerte, lo cual se refleja en un último meta-análisis cuyos estadísticos reportan OR de 1.13 (1.09-1.16) con  $p=1.3 \times 10^{-21}$  (110). También se ha asociado con un menor índice insulinogénico y HOMA- $\beta$ , sugiriendo un defecto en el procesamiento de la insulina de células  $\beta$  y en su secreción. A pesar de los diversos estudios realizados, el mecanismo a través del cual la perturbación de SLC30A8 afecta el riesgo a padecer DT2 aún no es clara (111).

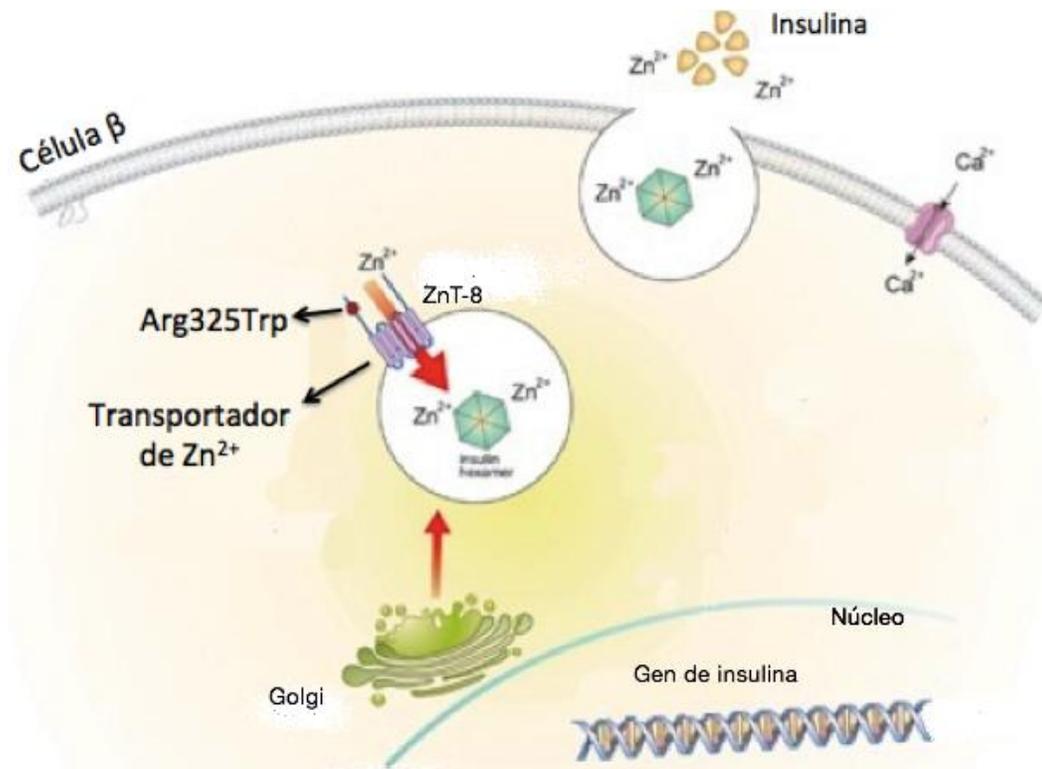


Fig. 8. Esquema del transportador de  $Zn^{2+}$ , su participación en la secreción de insulina y ubicación del polimorfismo R325W. Modificado de (112).

### CDC123 / CAMK1D

Homólogo 123 de división celular / Proteín cinasa i-delta dependiente de calcio/calmodulina.

El gen CDC123 se localiza en 10p13, tiene 13 exones y participa en la regulación del ciclo celular siendo necesaria la proteína para que de inicio la fase S. Mayores estudios sobre la función de la proteína son escasos, sin embargo en *S. cerevisiae* se ha visto que ésta es regulada por la disponibilidad de nutrientes.

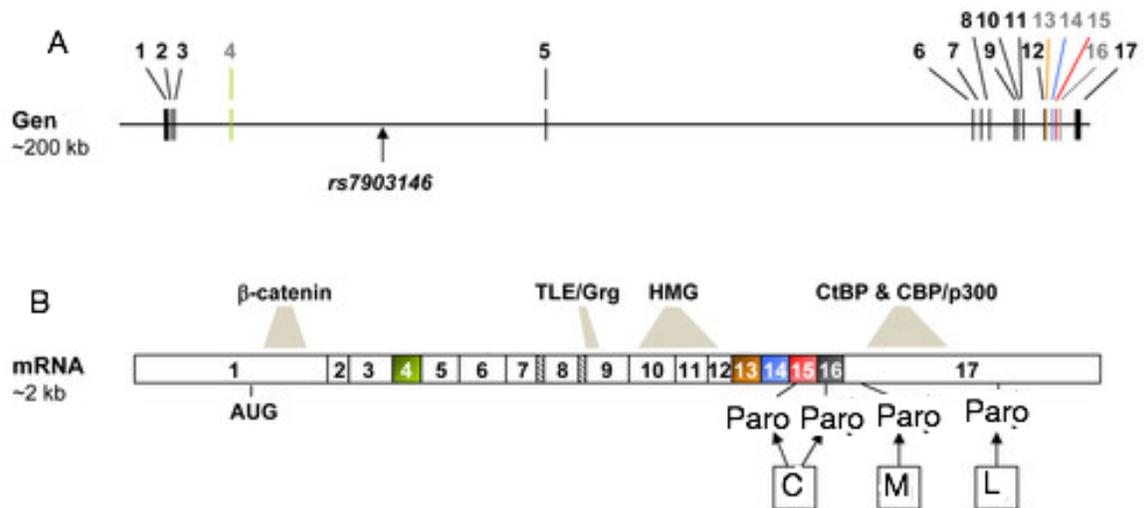
El gen CAMK1D también se encuentra en 10p13, tiene 19 exones y codifica para una proteína componente de la cascada de protein-quinasas dependientes de calmodulina reguladas por calcio las cuales a su vez son una subfamilia de las cinasas de serina/treonina. CAMK1D es un mediador de transducción de señales de quimiocinas (proteínas de pequeño tamaño pertenecientes a una familia de las citocinas con

capacidad para inducir la quimiotaxis en las inmediaciones de las células sensibles) específicamente en granulocitos (35), además ha sido asociado con otros múltiples procesos tales como activación de la transcripción del gen dependiente de CREB, síntesis de aldosterona, diferenciación y activación de neutrófilos y apoptosis de células eritroleucémicas. Dadas las funciones del calcio citosólico en la regulación de la maquinaria que lleva a cabo la exocitosis en las células  $\beta$  y de CREB en la supervivencia de las células  $\beta$ , CAMK1D puede tener un papel en la secreción de insulina (113).

El polimorfismo rs12779790 (región intrónica) se encuentra en alto desequilibrio de ligamiento con otras variantes (113). En general a este polimorfismo se le relaciona con una menor función de la célula  $\beta$  y se ha asociado con DT2 en población caucásica y en un estudio de población mestizo-mexicana (101, 114, 115). La función precisa del gen en relación a la patogénesis de la enfermedad aún no se conoce; sin embargo estudios previos de GWA sugieren que una desregulación del ciclo celular es un mecanismo patogénico común en la DT2 (116). Variantes en regiones intrónicas encontradas en otros genes relacionados también con el ciclo celular tales como CDKN2A/2B y CDKAL1 apoyan dicha premisa.

Factor 7 de células T similar al 2 (*TCF7L2*).

El gen *TCF7L2* se localiza en el cromosoma 10q25.3, consta de 17 exones de los cuales al menos cinco son empalmados alternativamente, contiene diversos codones de paro en los últimos tres exones que generan isoformas cortas, medianas y largas de la proteína (Fig. 9). El gen *TCF7L2* codifica para un factor de transcripción involucrado en la cascada de señalización canónica Wnt el cual regula la expresión de genes río abajo y dirige aspectos clave del desarrollo embrionario (117). En ausencia de  $\beta$ -catenina, *TCF7L2* se une a elementos de respuesta Wnt para reprimir la transcripción de sus genes blanco. Se expresa en la mayoría de los tejidos incluyendo islotes, tejido adiposo y en órganos como hígado, intestinos y cerebro. Sin embargo, aún no es claro cómo la cascada de señalización Wnt participa en la regulación de la secreción de insulina en los islotes pancreáticos humanos.



*Fig. 9. Estructura del gen y mRNA de TCF7L2. A) Ubicación de los 17 exones que conforman el gen y ubicación del polimorfismo rs7903146. B) Estructura de los exones mostrando en color los alternativos, secuencias para sitios importantes de unión y codones de paro que generan isoformas cortas, medianas o largas de la proteína (cuadros C, M y L) en los cuales se unen otros factores de transcripción. TLE, potenciador de ruptura parecido a transducina; Grg, genes relacionados a gorucho; HMG, grupo de alta movilidad; CtBP, proteína de unión al C-terminal.*

Ratones knock-out para el gen son letales y en líneas celulares se ha demostrado que TCF7L2 se une al promotor del gen del proglucagon para controlar su actividad transcripcional (118). También se cree que TCF7L2 tiene un papel importante en el funcionamiento de la célula  $\beta$  ya que al alterarlo en islotes pancreáticos humanos y líneas celulares se inhiben genes y proteínas tanto de la vía de proinsulina (MAFA, ISL-1, etc.) como de sus reguladores (PCSK1 y PCSK2) (119), observándose una alteración en la secreción de insulina estimulada por glucosa y promoviéndose un fenotipo diabético (120). En células  $\beta$  knockdown de TCF7L2 se ha observado menor masa en éstas, disfunción y alterada secreción de insulina (121).

El polimorfismo rs7903146 se localiza en el tercer intrón de TCF7L2. El alelo de riesgo T confiere el riesgo más fuertemente identificado hasta el momento de las variantes comunes alrededor del mundo con un de OR 1.46 [1.42–1.51] y  $p = 5.4 \times 10^{-140}$  (122). Fue descrito por primera vez en 2006 siendo uno de los primeros descubrimientos de polimorfismos asociados a diabetes y hasta el momento es también uno de los más

estudiados. Se identificó en población danesa y se ha replicado en diversas poblaciones como la europea, africana e inclusive mestiza mexicana pero no asiática (123-125).

Cuando fue identificada por primera vez esta variante, se observó asociación con glucosa alterada y con la secreción de insulina estimulada por GLP-1 (43), en general se ha asociado con una menor concentración y secreción de insulina sin embargo, la forma en la cual la variante ejerce su efecto aún no es claro ni sencillo de dilucidar debido al alto grado de corte y empalme que sufre y los diversos cortes que el extremo 3' presenta en sus diversas isoformas por mencionar algunas razones (126).

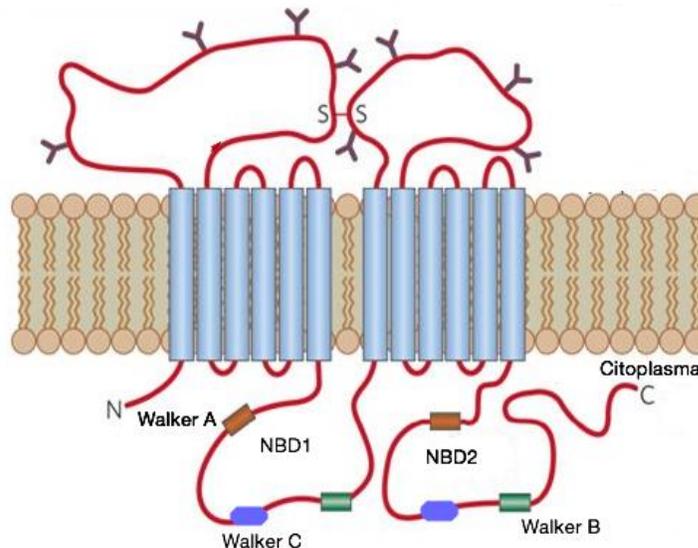
Cassette transportador de unión a ATP tipo A1 (*ABCA1*).

El gen *ABCA1* se localiza en 9q31.1, posee 50 exones y codifica para 2261 aminoácidos. Se expresa en páncreas, macrófagos, hígado, intestino, entre otros órganos y su nivel de expresión está regulado por el contenido intracelular de colesterol. Se han descrito varios transcritos alternativos que generan isoformas de la proteína (127). Su estructura incluye un dominio transmembranal con seis hélices y un dominio de unión a nucleótidos presentes en proteínas que utilizan ATP. Los extremos terminales de la proteína se presumen estar orientados hacia el citosol mientras que dos grandes asas glucosiladas y unidas por enlaces cisteína están orientadas al espacio extracelular (128) (Fig. 10).

La proteína *ABCA1* se localiza en la membrana plasmática cuya función es el transporte de lípidos (colesterol celular, fosfolípidos y otros metabolitos) para llevarlos a un aceptor de lipoproteína pobre en lípidos (*ApoA1*) el cual es el paso limitante en la biogénesis de HDL con requerimiento de ATP para generar la energía necesaria (128).

En el estudio de este gen con relación a la patogénesis de la DT2 se ha encontrado que un exceso de colesterol inhibe la secreción de insulina lo cual puede ser un mecanismo que contribuye a la disfunción de la célula  $\beta$  y la aparición de diabetes sobretodo en pacientes obesos. Además se ha observado *in vitro* que la insulina disminuye la expresión de *ABCA1* mientras que la glucosa la eleva en leucocitos *in vivo* (129, 130).

En este gen se han descrito más de 70 mutaciones de las cuales casi un tercio son con cambio de sentido. La mayoría de éstas se encuentran en individuos con niveles bajos de HDL en plasma lo que sugiere ser la causa (128). El polimorfismo rs9282541 implica un cambio de C/T donde el alelo de riesgo es T provocando un cambio de aminoácido (Arg230Cys). Fue primero descrito en población Oji-Cree (131) y desde entonces ha sido asociado a bajos niveles de HDL, obesidad y DT2 de aparición temprana (132, 133). Se ha descrito como una variante propia de población amerindia (132) y de hecho a pesar de que también ha sido evaluada en individuos de Malasia y Colombia no ha presentado asociación con DT2 (134, 135).



*Fig. 10 Estructura de la proteína ABCA1. NBD-1 y NBD-2 son los dominios de unión de nucleótidos que contienen los regiones altamente conservadas Walker A, Walker B y Walker C.*

Transportador de solutos familia 16 miembro 11 (*SLC16A11*).

El gen *SLC16A11* poco caracterizado hasta el momento se localiza en la posición 17p13.1. Codifica para un transportador de solutos familia 16 miembro 11 cuya familia también es conocida como transportadores de monocarboxilato debido a que facilitan el paso de moléculas tales como piruvato, lactato y cuerpos cetónicos a través de la membrana plasmática. Son por tanto esenciales para el metabolismo de hidratos de

carbono, lípidos, aminoácidos y regulan el pH intracelular mediando el influjo y eflujo de lactato. Se propone que las proteínas de esta familia tienen 12 hélices transmembrana con los dominios C terminal y N terminal orientados hacia el citoplasma de la célula así como también un gran lazo citosólico entre las hélices 6 y 7 (136).

Algunos estudios sugieren que estos transportadores tienen un papel en los mecanismos reguladores de glucosa e inclusive se han reconocido como un posible blanco terapéutico para DT2 (137). En presencia de hiperglicemia y apoptosis inducida con interleucina 1 $\beta$ , se ha demostrado daño del endotelio de la aorta en ratones diabéticos debido a una disminución del transportador cuatro de esta familia, así como también una falla en su ubicación celular e incremento de ácido láctico (138). El miembro uno de esta familia está altamente reprimido en la célula  $\beta$  por miR-495; sin embargo en un estudio reciente se trasplantó este mRNA junto con células madre a un modelo murino con DT2 inducida por una dieta alta en grasas donde se observó la mejora de hiperglicemia e hiperinsulinemia (139). A SLC16A11 se le asocia con metabolismo hepático de lípidos: su sobreexpresión resulta en un aumento de los niveles de triglicéridos, menores incrementos de diacilgliceroles intracelulares y decrementos de lisofosfatidilcolina, ésteres de colesterol y esfingomielina (140).

El polimorfismo rs13342692 pertenece a un haplotipo que se ha observado con una frecuencia del 50% en amerindios de México y que ha sido asociado con DT2 en éstos, mientras que en Europeos y Africanos raramente se encuentra (141) (Fig. 11). El cambio de nucleótidos es T/C lo cual provoca un cambio de ácido aspártico por glicina en la posición 127 (D127G) donde el alelo de riesgo es C (102, 142). Su asociación con DT2 ha sido relacionada con un efecto en la homeostasis de glucosa a través de la alteración del metabolismo de triglicéridos (141). Recientemente otro polimorfismo del mismo haplotipo al que pertenece rs13342692 fue estudiado en indígenas de Norte América encontrando que el alelo A del rs75493593 está nominalmente asociado con DT2 siendo ésta más fuerte en individuos no obesos (143).

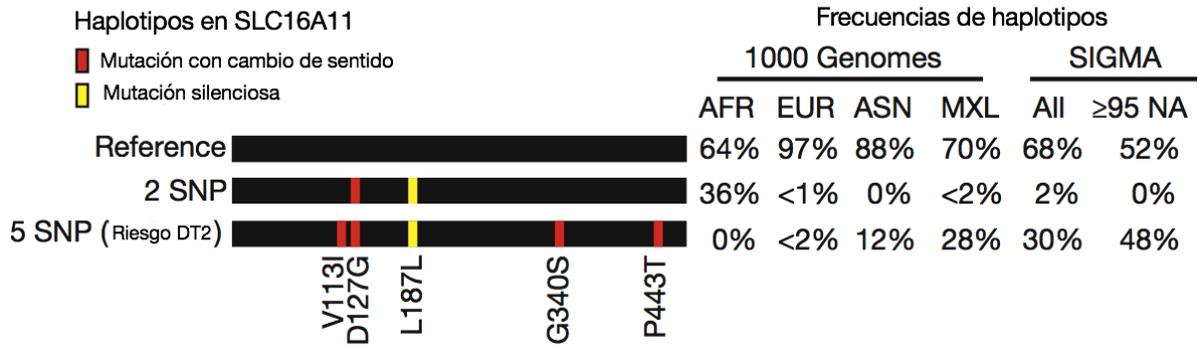


Fig. 11. Haplotipos reportados en el gen *SLC16A11* y sus frecuencias en distintas poblaciones: AFR, africana, EUR, europea, ASN, asiática; MXL, mexicanos de Los Ángeles; NA, nativos americanos. Modificado de (141).

En la figura 12 se observa un esquema donde se han incluido los 10 polimorfismos elegidos para el presente estudio clasificados conforme a la función en la cual están involucrados respecto de la célula  $\beta$ .

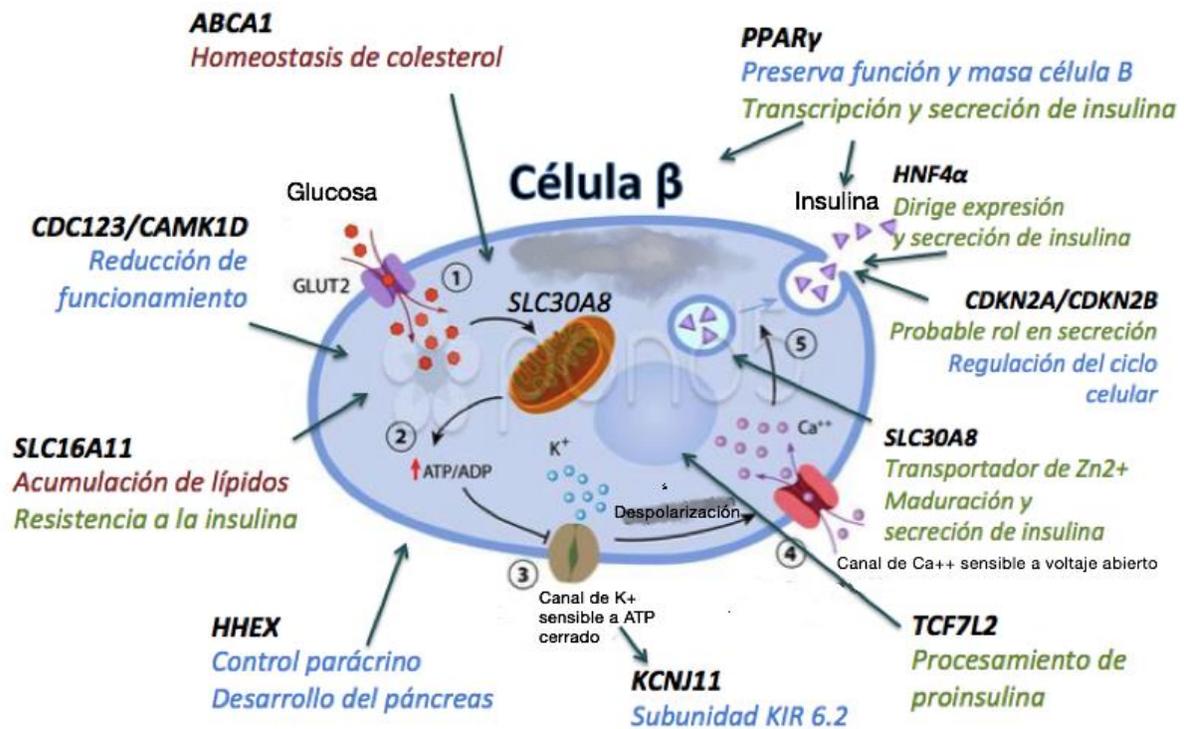


Fig. 12. Función general de los genes elegidos para el presente estudio. En rojo se encuentran los relacionados con lípidos, en verde con insulina y en azul con la función general de la célula  $\beta$ . ABCA1, cassette transportador de unión a ATP tipo A1; PPAR $\gamma$ , receptor activado por proliferador de peroxisoma gamma; HNF4 $\alpha$ , factor nuclear del hepatocito 4 $\alpha$ ; CDKN2A, inhibidor de cinasas dependiente de ciclina 2A/B; SLC30A8, transportador de solutos integrante de la familia 30 miembro 8; TCF7L2, factor 7 de células T similar al 2; KCNJ11, canal de potasio, subfamilia J, miembro 11; HHEX, gen homeótico hematopoiéticamente expresado; SLC16A11, transportador de solutos familia 16 miembro 11; CDC123, proteína de división del ciclo celular 123; CAMK1D, proteína cinasa 1D dependiente de calcio/calmodulina.

### 1.8. Chimalhuacán, Estado de México.

El municipio de Chimalhuacán tiene una superficie de 55.06 km<sup>2</sup> (144) y se localiza en la Zona Metropolitana de la Ciudad de México, en su parte oriente del Estado de México formando parte de la metrópoli más importante del país y de Latinoamérica (145). Colinda con los municipios de Texcoco al norte, al sur con La Paz y Nezahualcóyotl, al oriente con Chicoloapan y Texcoco, y al poniente con Nezahualcóyotl (145).

Está dividido en cuatro grandes zonas que van desde la parte central donde se encuentra la parte antigua de origen prehispánico desarrollada a la orilla del Lago de Texcoco, hasta la zona alta de desarrollos que se han dado en el cerro Chimalhuachi resultado de la migración de habitantes que buscaron terreno barato, viviendas de alquiler de bajo costo, viviendas compartidas, vecindades a bajo precio, prestadas o de escaso valor comercial. En esta zona las vialidades no siguen un patrón claramente definido, éste ha sido resultado de los procesos de subdivisión ilegal de los predios sin un orden preestablecido, combinada con las características físicas del terreno que dificultan el acceso, por lo que posee escasas áreas destinadas a equipamientos públicos (145).

Su población es de 614 453 habitantes en el municipio (144) lo cual arroja una densidad poblacional de 11,171 habitantes/km<sup>2</sup>. En dos decenios (1970-1990) la población del municipio creció más del 400% con tasa de crecimiento promedio de más del 7% anual, situación inédita en esta región y en el municipio, pues veinte años atrás era un pueblo con características que se identificaron con vida rural en una periferia urbana. De 1980 a 2010, la población de este territorio creció en más del 200% con lo cual se convirtió en uno de los municipios más importantes de la periferia de la Ciudad de México y la Zona Metropolitana (145).

En 2010, 385,262 individuos del total de la población del municipio se encontraban en situación de pobreza (62.7% respecto del 46.2% reportada a nivel nacional (146), de los cuales 84,180 (13.7%) estaban en pobreza extrema. El porcentaje de personas que reportó habitar en viviendas sin disponibilidad de servicios básicos fue de 12.2% y la incidencia de la carencia por acceso a la alimentación fue de 40.7% (147). En la población de 15 años o más en el municipio, el grado promedio de escolaridad fue de 8.0 años y en las zonas de mayor rezago social de 6.6 años, generando así una condición de rezago educativo que afectó a 20.4% de la población. El porcentaje de personas sin acceso a servicios de salud fue de 48.4% y la población sin derechohabencia a servicios de salud ascendió en 2010 a 333,619 personas; así mismo se reportaron 13,073 habitantes por unidad médica (148).

Este territorio por su cercanía a la capital del país representa una oportunidad para el desarrollo de las familias de diferentes partes de la república que pretenden mejorar sus condiciones de vida (149). En 1990 se encontró que el 45.8 % de su población residente era nacida en otra entidad siendo los estados de mayor afluencia en orden descendente el Distrito Federal, Oaxaca, Puebla, Michoacán y Veracruz (150). De acuerdo con Moreno y Espejel (145) esta tendencia se ha mantenido durante los últimos tres decenios en el oriente del Estado de México donde existe una particularidad que está asociada a la migración de personas y familias producto de buscar oportunidades de vivienda, empleo y desarrollo social cerca de la Ciudad de México.

Así, Chimalhuacán es parte de una gran zona económica y metropolitana que se caracteriza por presentar un patrón de crecimiento de desarrollo poco planificado. Las desigualdades sociales y territoriales, así como la escasa organización de la actividad social y económica son una realidad. Las diferencias en los estilos de vida, la pobreza, la insuficiente infraestructura, la carencia de vivienda, el pésimo transporte y diversos problemas ambientales son características que se hacen latentes en la periferia de la gran ciudad producto de la excesiva concentración económica y poblacional de la zona metropolitana, situación también existente en diversas regiones de América Latina (151).

## **2. JUSTIFICACIÓN.**

La diabetes es una de las más importantes emergencias de salud del siglo XXI debido al gran número de adultos que afecta a nivel mundial y se estima que su prevalencia irá en aumento en los próximos años. México es uno de los países con mayor número de personas diabéticas en el mundo. La enfermedad es la segunda causa de muerte en el país y representa un gasto importante para el sector salud debido a su carácter crónico.

Existen diversos estudios genéticos a nivel mundial en los que se han asociado polimorfismos con el riesgo a padecer DT2; sin embargo, en México es necesario realizarlos por las características de la compleja composición genética de la población mexicana y porque se ha observado que la diabetes afecta principalmente a poblaciones vulnerables.

Debido a las características de la población que habita en Chimalhuacán, este municipio se considera un mosaico poblacional vulnerable representativo de México, por lo que los resultados de este estudio serán muy importantes para el conocimiento de las bases genéticas de la DT2 en la población mexicana.

### 3. HIPÓTESIS.

Los polimorfismos rs1800961 (*HNF4 $\alpha$* ), rs1111875 (*HHEX*), rs5219 (*KCNJ11*), rs1801282 (*PPAR $\gamma$* ), rs10811661 (*CDKN2A/2B*), rs13266634 (*SLC30A8*), rs12779790 (*CDC123/CAMK1D*), rs7903146 (*TCF7L2*), rs9282541 (*ABCA1*) y rs13342692 (*SLC16A11*) estarán asociados con una mayor susceptibilidad a desarrollar diabetes tipo 2 en la población del municipio de Chimalhuacán, Estado de México.

## 4. OBJETIVOS.

### 4.1. General.

Asociar los polimorfismos rs1800961 (*HNF4 $\alpha$* ), rs1111875 (*HHEX*), rs5219 (*KCNJ11*), rs1801282 (*PPAR $\gamma$* ), rs10811661 (*CDKN2A/2B*), rs13266634 (*SLC30A8*), rs12779790 (*CDC123/CAMK1D*), rs7903146 (*TCF7L2*), rs9282541 (*ABCA1*) y rs13342692 (*SLC16A11a*) con diabetes tipo 2 en adultos del municipio de Chimalhuacán, Estado de México.

### 4.2. Específicos.

- ✓ Caracterizar bioquímica y somatométricamente a la población en estudio.
- ✓ Determinar las frecuencias alélicas de los polimorfismos elegidos.
- ✓ Evaluar los polimorfismos seleccionados con la susceptibilidad a desarrollar diabetes tipo 2 en adultos de Chimalhuacán, Estado de México.

## **5. METODOLOGÍA.**

### **5.1. Tipo y diseño del estudio.**

El presente estudio es de casos y controles, no experimental, transversal y cuantitativo.

El diseño de la investigación se dividió en dos etapas:

#### Fase 1. Conformación del grupo de sujetos con diabetes tipo 2 (Casos)

- Obtención del permiso y colaboración de la Secretaría de Salud del municipio.
- Obtención de muestras sanguíneas y medidas antropométricas.
- Evaluación de parámetros bioquímicos en sangre.
- Genotipificación del ADN.
- Análisis estadístico.

#### Fase 2. Conformación del grupo de sujetos no diabéticos (Controles)

- Obtención del permiso y colaboración de la Secretaría de Salud del municipio.
- Obtención de muestras sanguíneas y medidas antropométricas.
- Evaluación de parámetros bioquímicos en sangre.
- Genotipificación del ADN.
- Análisis estadístico.

### **5.2. Participantes.**

Para conformar el grupo de casos se invitó a participar a los individuos diabéticos de Chimalhuacán a una campaña de salud apoyados de las autoridades municipales por medio de una convocatoria pública. Los participantes fueron atendidos en la Unidad de Especialidades Médicas del municipio acompañados de un familiar no diabético esto únicamente con el fin de dar un servicio de salud más general a la población, sin embargo en este estudio solo se incluyen a los pacientes diabéticos (n=209). A ambos

participantes se les entregaron sus resultados de la toma de medidas somatométricas y de estudios bioquímicos en sangre.

El grupo de controles se conformó por individuos de la tercera edad no diabéticos los cuales fueron convocados con ayuda de las autoridades municipales. Un grupo de aproximadamente 10 personas fueron atendidos semanalmente durante un semestre en la “Casa de día” (DIF Chimalhuacán) donde se encuentra la atención especializada para adultos mayores del municipio, se les tomaron medidas somatométricas, muestras de sangre y aplicación de cuestionario (Anexo II). A cada participante se le entregaron sus resultados de la toma de medidas somatométricas y de estudios bioquímicos en sangre a la semana siguiente de la toma de muestras (n=159) y se procedió a evaluar quiénes cumplían con los criterios de inclusión para ser parte del grupo de controles.

Los permisos correspondientes para realizar el presente estudio están avalados por el Comité de Ética del Hospital Juárez de México (Anexo III) y todos los participantes del estudio accedieron previo consentimiento informado mediante firma o huella digital (Anexo IV).

### **5.3. Criterios de inclusión.**

Casos:

- Adultos >18 años de edad.
- Residentes del municipio de Chimalhuacán, Estado de México.
- Tener mínimo 10 h de ayuno.
- Sin restricción de sexo.
- Firma del consentimiento.
- Sujetos con diagnóstico previo de DT2 y/o tratamiento farmacológico para el control de dicha enfermedad y/o hemoglobina glicosilada  $\geq 6.5\%$ .

Controles:

- Adultos  $\geq 60$  años de edad.
- Residentes del municipio de Chimalhuacán, Estado de México.
- Tener mínimo 10 h de ayuno.
- Sin restricción de sexo.
- Firma del consentimiento.
- No tener familiares diabéticos (no hermanos, padres o abuelos con DT2).
- HbA1C  $< 6.0$  %.
- Sin tratamiento farmacológico para el control de DT2.

La determinación de diabetes de aparición temprana o tardía se realizó utilizando una edad de 45 años como punto de corte como ha sido descrito en otros estudios genéticos para DT2 (101, 133).

De acuerdo con los criterios de diagnóstico de diabetes con base en la Hb1Ac establecidos por la ADA, el rango de 5.7 a 6.4% es considerado de alto riesgo para padecer la enfermedad (2); sin embargo, también ésta ha declarado que en individuos de la tercera edad es posible ser flexible con dicho rango debido al desgaste celular propio de la vejez. Selvin E. y colaboradores en 2010 (152) analizaron el riesgo a padecer DT2 en personas con diversos valores de Hb1Ac y determinaron que en individuos con Hb1Ac  $< 5.5\%$  fue de 1.0, con 5.5 a 6.0% fue de 2.12 (1.9-2.3) y con 6.0 a 6.5% fue de 6.29 (5.5-7.1). Por tanto para el presente estudio se determinó que el punto de corte para los individuos control sería Hb1Ac  $< 6.0\%$ .

#### **5.4. Tamaño de la muestra.**

Para el cálculo del tamaño de muestra se utilizó el programa en línea Quanto desarrollado por la Universidad del Sur de California (<http://biostats.usc.edu/software>). Para realizarlo se proporcionaron los siguientes valores: poder estadístico del 80%, la frecuencia alélica de cada uno de los SNPs tomando la más baja reportada en estudios de mestizos-mexicanos, el OR siguiendo el

mismo criterio y la prevalencia de la enfermedad en el Estado de México (10.5% según la ENSANUT 2012(10)). Los valores obtenidos para cada uno de los genes oscilaron entre 105 y 10,675 individuos, sin embargo, este estudio representa solo una primera etapa del estudio completo que se realizará en un futuro. Así, se procedió al cálculo de la fórmula para una población finita con 95% de confianza y una precisión del 5% la cual arrojó un total de n=144 individuos necesarios para este estudio.

### **5.5. Medidas somatométricas y toma de muestras sanguíneas .**

Las mediciones antropométricas se realizaron por evaluadores previamente entrenados. A cada participante se le midió la cintura (cm), la cadera (cm), el peso (kg) y la talla (m) para calcular el IMC e ICC de acuerdo a las normas antropométricas internacionales (153). La presión arterial se midió con baumanómetros electrónicos previo reposo del adulto de al menos 5 min y por duplicado. Los criterios utilizados para la clasificación de la población respecto del IMC fueron los establecidos por la OMS y los de circunferencia de cintura de la IDF.

Para las determinaciones bioquímicas se tomaron 7 ml de sangre periférica y 2 tubos con EDTA de 4 ml para el análisis genético. Las muestras se etiquetaron, se almacenaron y se conservaron debidamente hasta su procesamiento.

### **5.6. Determinaciones bioquímicas.**

Las determinaciones bioquímicas que se realizaron en suero fueron las siguientes: glucosa, colesterol, colesterol de alta densidad (HDL), colesterol de baja densidad (LDL), colesterol de muy baja densidad (VLDL), triglicéridos, urea, creatinina, ácido úrico, proteínas totales, albúmina, aspartato aminotransferasa (AST), Alanina aminotransferasa (ALT), Hemoglobina glicosilada (Hb1Ac) e Insulina. Las muestras fueron procesadas en el Hospital Juárez de México a través de los equipos ADVIA 1800 e Immulite 2000 ambos de la compañía Siemens (Anexo V).

### **5.7. Análisis molecular.**

Para obtener el ADN se utilizó la muestra de sangre almacenada en el tubo con EDTA. El ADN se extrajo a partir de los leucocitos por el método de salting out (Anexo VI) (154). El ADN obtenido se cuantificó espectrofotométricamente a dos longitudes de onda (260/280nm), se comprobó su integridad en un gel de agarosa al 2% y se realizaron diluciones a 20 ng/ml para la genotipificación de los polimorfismos rs7923837 de *HHEX*, T130I de *HNF4 $\alpha$* , R230C de *ABCA1*, E23K de *KCNJ11*, P12A de *PPAR $\gamma$* , rs10811661 de *CDKN2A/CDKN2B*, rs13266634 de *SLC30A8*, rs12779790 de *CDC123/CAMK1D*, rs7903146 de *TCF7L2* y D127G de *SLC16A11* a través de PCR tiempo real (Anexo VII) con sondas Taqman validadas (Anexo VIII) en el equipo ViiA 7 de Applied Biosystems, CA (Anexo IX).

### **5.8. Análisis de ancestría.**

Para el análisis de la estratificación de la población se evaluaron 10 marcadores informativos de ancestría (AIM's por sus siglas en inglés) en el 10% del total general de los individuos diabéticos utilizando sondas Taqman validadas. Del total de marcadores utilizados, 7 fueron informativos tanto para población Europea/Nativa americana como para Africana/Nativa americana y tres de ellos únicamente para Europea/Nativa americana. Todos ellos cumplieron una diferencia de frecuencias en las respectivas poblaciones mayor a 0.3 ( $\Delta > 0.3$ ) para ser considerados AIM's y han sido ampliamente utilizados en diversos estudios. La lista de marcadores y sus características se encuentran descritos en los Anexos X y XI. Las frecuencias genotípicas y alélicas obtenidas se contabilizaron utilizando el programa Genepop alimentado con un archivo previamente tratado con el programa Formatomatic. El equilibrio de Hardy-Weinberg también fue evaluado con Genepop y la composición genética de la población se realizó con el programa Structure 2.3.2. Para las poblaciones de referencia se utilizaron la Europea y Africana con genotipos de residentes de la Península Ibérica con ancestría Europea y Yorubas, respectivamente. En ambos casos se obtuvo la información del proyecto 1000 Genomas y de Hapmap para cada uno de los alelos. Para

todas las poblaciones se utilizaron 20 genotipos con los cuales se alimentó al programa Structure mismo que se corrió con 5 repeticiones y con valores para L.B.P. y MCMC de 30,000 cada uno; los valores de K evaluados fueron de 1 a 5.

### **5.9. Análisis estadístico.**

Para la estratificación de la población se utilizaron los criterios descritos por la ADA. Con el fin de llevar a cabo los cálculos estadísticos necesarios, se utilizó el Paquete estadístico para ciencias sociales versión 18 (SPSS 18) por sus siglas en inglés. Para evaluar diferencias estadísticamente significativas entre los diversos parámetros a comparar se evaluó la distribución normal de los datos, en caso de no presentarla se realizó la prueba de U Mann-Whitney y en caso necesario una corrección previamente reportada para obtener normalidad (155). Para la correlación fenotípica con cada uno de los polimorfismos se utilizó el modelo lineal general univariante. Para evaluar el equilibrio de Hardy-Weimberg de las frecuencias alélicas de las variantes se empleó una prueba de chi cuadrada. Para realizar el estudio de asociación se realizó una regresión logística multinomial. Debido a que la previa probabilidad de asociación de los SNPs está altamente basada en estudios en europeos y replicada en otras poblaciones, es poco probable que se detecten efectos debidos únicamente a la fluctuación estadística. Por lo tanto, la corrección por comparaciones múltiples no se aplicó y una asociación se consideró estadísticamente significativa con un valor de  $p \leq 0.05$ .

## 6. RESULTADOS.

### 6.1. Características generales de la población de estudio.

La población de estudio estuvo conformada por adultos habitantes del municipio de Chimalhuacán reclutados en dos etapas. La primera incluyó a 207 individuos diabéticos, de los cuales 77 notificaron diabetes de aparición temprana y 65 de aparición tardía sumando un total de 142 identificados por edad de aparición de la enfermedad. La segunda etapa se llevó a cabo para conformar el grupo de controles reuniendo en total 159 individuos presuntamente no diabéticos, únicamente 79 fueron seleccionados ya que el resto no cumplía con los criterios de inclusión y el 9.4% resultó ser diabético (Tabla 6).

Como se puede observar en la Tabla 6 los fenotipos que se encontraron fuera de los valores de referencia en los individuos control (n=79) correspondieron al IMC, circunferencia de cintura e ICC en mujeres, PAS, triglicéridos e índice metabólico. En relación al IMC el 3.8% de los individuos se encontraron con bajo peso ( $IMC < 18.5$ ), 31.6% en peso normal ( $18.5 < IMC < 25$ ), 32.9% con sobrepeso ( $25 < IMC < 30$ ) y 31.6% con obesidad ( $IMC > 30$ ).

En los individuos con diabetes (n=207) (Tabla 6) los fenotipos con valores mayores a los de referencia fueron el IMC, circunferencia de cintura e ICC en mujeres, circunferencia de cintura en hombres, PAS, glucosa, VLDL, triglicéridos, Hb1Ac, HOMA-IR e índice metabólico. Al comparar a los individuos control con el total de los individuos diabéticos se observaron diferencias estadísticamente significativas con  $p < 0.001$  para la edad, glucosa, creatinina, AST, Hb1Ac, HOMA-IR, HOMA- $\beta$  e índice metabólico; con  $p < 0.01$  para la circunferencia de cintura de mujeres y PAS y con  $p < 0.05$  para la circunferencia de cintura en hombres, colesterol VLDL y triglicéridos. Al separar a los diabéticos en tempranos (n=77) y tardíos (n=65) las diferencias significativas respecto del grupo control se perdieron para el colesterol VLDL y triglicéridos; por el contrario en el grupo de diabéticos tempranos se observó

Tabla 6. Características generales y estratificación de la población total.

	Valores de referencia para sujetos sanos	Sujetos control (Hb1Ac<6.0%)	Individuos con diabetes tipo 2		
			Total de casos	Individuos con DT2 de aparición temprana	Individuos con DT2 de aparición tardía
<b>n</b>		79	207	77	65
<b>Hombres (%)</b>		30.4	26.1	19.5	29.3
<b>Edad (años)</b>		68 (66-70)	53 (49-60)***	50 (40-56)***	58 (52.5-65.5)***
<b>Edad al diagnóstico (años)</b>		-	44.9 ± 9.6	38 (34.7-42)	52 (47-57.5)
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	<25	28 ± 5.4	28.7 ± 4.8	28.7 ± 4.9	29.5 ± 4.2
<b>Circunferencia cintura (cm)</b>					
<b>Mujeres</b>	<80	92.7 (84-97)	98 (91-106)**	97 (89.7-97)	101 (92.7-106.2)**
<b>Hombres</b>	<90	86.5 (80-98.7)	97 (92-101)*	94 (89-100)*	99 (93-109)**
<b>Índice cintura/cadera</b>					
<b>Mujeres</b>	<0.8	0.9 (0.86-0.95)	0.91 (0.89-0.95)	0.91 (0.88-0.94)	0.91 (0.89-0.95)
<b>Hombres</b>	<1.0	0.89 (0.87-0.99)	0.96 (0.92-1.0)	0.95 (0.92-1.0)	0.96 (0.93-1.02)
<b>PAS (mmHg)</b>	<120	133 (123-140)	124 (113-140)**	120 (109-135)**	128 (119.5-140)
<b>PAD (mmHg)</b>	<80	76 (71-79)	77 (70-85)	75 (68.5-83)	78 (71-82.5)
<b>Glucosa (mg/dL)</b>	<100	93 (85-103)	159 (117-237)***	185 (134-249)***	149 (109.5-225)***
<b>Colesterol (mg/dL)</b>	<200	188 ± 38.0	193.8 ± 45.2	192.8 ± 46.4	191.8 ± 37.1
<b>Colesterol HDL (mg/dL)</b>	>40	44 (38-53.9)	41.6 (35.9-51)	41 (35.7-51.9)	41.6 (36.3-50.8)
<b>Colesterol LDL (mg/dL)</b>	<130	121.2 (101.7-145.7)	121.2 (99-144.3)	122.5 (95.3-144.1)	118.2 (95.7-145.5)
<b>Colesterol VLDL (mg/dL)</b>	<30	30 (22-40)	35 (25-48)*	35 (23.5-45)	37 (27-51.5)
<b>Triglicéridos (mg/dL)</b>	<150	174 (125-243)	204 ± 122.6*	174 (117.5-225)	186 (134.5-259)
<b>Urea (mg/dL)</b>	19-49	30 (26-39)	29.8 (23.3-39.6)	26.7 (21.4-43.1)	33 (24.3-40.3)
<b>Creatinina (mg/dL)</b>	0.5-1.3	0.73 (0.63-0.86)	0.85 (0.7-0.9)***	0.85 (0.7-0.9)***	0.85 (0.75-0.9)**
<b>Ácido úrico (mg/dL)</b>	2.5-6	4.9 ± 1.7	4.9 ± 1.7	4.5 (3.4-5.7)*	5.1 (4.0-5.1)
<b>AST (UI/L)</b>	10-34	28 (22-33)	20.3 (15.7-27.8)***	20.2 (16.2-29.1)*	21.2 (15.8-28.6)***
<b>ALT (UI/L)</b>	10-40	22 (19-32)	23 (17.1-31.1)	23.1 (17.1-34.2)	23 (16.3-33.9)
<b>Hb1Ac (%)</b>	<6.5	5.4 (5.1-5.6)	9.2 (6.7-11.3)***	9.5 (7.4-11.2)***	8.2 (6.2-11.1)***
<b>Insulina (uU/mL)</b>	2.6-24.9	6.9 (4.5-12)	8 (4.6-12.8)	8.4 (4.4-14.6)	7.2 (4.7-9.4)
<b>HOMA-IR</b>	<2.6	1.5 (1.0-3.0)	2.9 (1.6-5.1)***	2.9 (1.6-6.2)**	2.7 (1.6-5.2)*
<b>HOMA-B</b>		81.9 (55-142)	29.5 (15.3-69.1)***	32.2 (15.2-70)***	24.8 (15.1-64.3)***
<b>Índice metabólico</b>	<7.0	7.4 (3.9-12.2)	15.8 (7.9-30.6)***	18.4 (11.7-28.2)***	15.4 (6.6-25.7)***

\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001: Comparaciones de sujetos control vs total de casos, sujetos control vs diabéticos tempranos y sujetos control vs diabéticos tardíos. DT2, diabetes tipo 2; IMC, índice de masa corporal; PAS, presión arterial sistólica; PAD, presión arterial diastólica; HDL, colesterol de alta densidad; LDL, colesterol de baja densidad; VLDL, colesterol de muy baja densidad; AST, aspartato aminotransferasa; ALT, alanina aminotransferasa; Hb1Ac, hemoglobina glicosilada; HOMA-IR, modelo homeostático de evaluación de la resistencia a la insulina; HOMA-β, modelo homeostático de evaluación de la función de la célula β.

diferencia para el ácido úrico. Cabe mencionar que al realizar una clasificación de los individuos diabéticos totales por décadas de edad, se encontró el mayor porcentaje de personas afectadas en las edades de 50 a 59 años (44%) seguidos de la década de los 40 a 49 años (23%) y en tercer lugar las personas que van de los 60 a 70 años de edad. Por otra parte al hacer una estratificación en función del IMC no se encontraron individuos con bajo peso ( $IMC < 18.5$ ), 25.8% corresponden a un peso normal ( $18.5 < IMC < 25$ ), 37.3% se encuentran con sobrepeso ( $25 < IMC < 30$ ) y 36.8% con obesidad ( $IMC > 30$ ).

Para el estudio de casos y controles (Tabla 7) el grupo de controles fue el mismo que se describe en la Tabla 6 mientras que para el grupo de casos se eliminaron los individuos de los cuales no se tenía el dato de aparición de la enfermedad y/o la genotipificación adecuada de las muestras. Así se trabajó con 75 individuos con diabetes de aparición temprana y 64 individuos con diabetes de aparición tardía para dar un total de 139 individuos con DT2. En éstos los rasgos por arriba de los valores de referencia fueron los mismos que los descritos para los diabéticos totales de la Tabla 6. En cuanto a la comparación del total de casos respecto de los individuos control se observaron diferencias estadísticamente significativas con  $p < 0.001$  para la edad, glucosa, creatinina, AST, Hb1Ac, HOMA-IR, HOMA- $\beta$  e índice metabólico; con  $p < 0.01$  para la circunferencia de cintura de mujeres y hombres y PAS; con  $p < 0.05$  para colesterol VLDL y triglicéridos. Al separar al total de casos en tempranos y tardíos las diferencias significativas respecto del grupo control se perdieron en ICC de hombres, VLDL y triglicéridos de diabéticos tempranos y en PAS de diabéticos tardíos, para el ácido úrico se observó una  $p < 0.05$  en los diabéticos tempranos respecto de los controles.

Tabla 7. Características generales y estratificación de la población para el estudio de asociación.

	Valores de referencia para sujetos sanos	Individuos sin DT2	Individuos con DT2		
			Total	Individuos con DT2 de aparición temprana	Individuos con DT2 de aparición tardía
<b>n</b>		79	139	75	64
<b>Hombres (%)</b>		30.4	24.4	20.0	29.7
<b>Edad (años)</b>		68 (65-71)	53 (48-60)***	50 (40-56)***	58 (52.5-65.8)***
<b>Edad al diagnóstico (años)</b>		-	44 (38-52)	38 (35-42)	52 (47-57.8)
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	<25	28.3 (24.4-32)	28.9 (25.4-32.3)	28.2 (24.8-31.4)	29.3 (25.6-32.4)
<b>Circunferencia cintura (cm)</b>					
<b>Mujeres</b>	<80	93 (84.5-97)	98 (91-106)**	97 (89.2-105.8)*	101 (92.5-105)**
<b>Hombres</b>	<90	86.5 (80-96.5)	97.5 (92-104.5)**	94 (89-100)*	99 (93-109)**
<b>Índice cintura/cadera</b>					
<b>Mujeres</b>	<0.8	0.90 (0.86-0.95)	0.91 (0.89-0.94)	0.91 (0.88-0.94)	0.91 (0.89-0.95)
<b>Hombres</b>	<1.0	0.91 (0.87-0.98)	0.96 (0.92-1.0)**	0.95 (0.92-1.0)	0.96 (0.93-1.02)*
<b>PAS (mmHg)</b>	<120	133 (124-143)	124 (114-137)**	120 (108-130.7)***	128.5 (119.5-140)
<b>PAD (mmHg)</b>	<80	76 (69-80)	76 (70-83)	75 (68-82.7)	78 (71-82.5)
<b>Glucosa (mg/dL)</b>	<100	93 (85-103)	165 (114-242)***	185.5 (134-251)***	147 (109.5-226)***
<b>Colesterol (mg/dL)</b>	<200	189±37.6	192.8 ± 42.6	193.1 ± 46.9	192.3 ± 37.1
<b>Colesterol HDL (mg/dL)</b>	>40	44 (38.7-53.1)	41.4 (36-51.6)	41 (35.4-52)	41.6 (36.1-51.2)
<b>Colesterol LDL (mg/dL)</b>	<130	125±36	122±36	123±39	120±33
<b>Colesterol VLDL (mg/dL)</b>	<30	30.5 (22-40)	35 (24-49)*	35 (23-46)	36 (27-51.8)**
<b>Triglicéridos (mg/dL)</b>	<150	151 (110-205)	174 (121-246)*	171 (116-228)	180 (134.2-260)*
<b>Urea (mg/dL)</b>	19-49	30 (26-39)	29.3 (23.2-41)	26.7 (22.1-43.5)	33 (24.3-40.5)
<b>Creatinina (mg/dL)</b>	0.5-1.3	0.73 (0.63-0.86)	0.85 (0.77-0.9)***	0.85 (0.77-0.9)***	0.85 (0.75-0.9)***
<b>Ácido úrico (mg/dL)</b>	2.5-6	4.9 (4.3-6.4)	4.7 (3.9-5.8)	4.5 (3.5-5.8)*	5.1 (4.1-5.8)
<b>AST (UI/L)</b>	10-34	28 (22-33)	20.6 (16-28.8)***	20.2 (16.2-29.0)***	20.8 (15.7-27.7)***
<b>ALT (UI/L)</b>	10-40	22 (19-32)	23 (17-33.9)	23.1 (17.1-34.0)	23 (16.3-33.7)
<b>Hb1Ac (%)</b>	<6.5	5.4 (5.1-5.6)	9.1 (6.7-11.1)***	9.5 (7.8-11.3)***	8 (6.2-11.0)***
<b>Insulina (uU/mL)</b>	2.6-24.9	6.9 (4.4-12.1)	8 (4.6-11.6)	8.4 (4.4-14.6)	7.2 (4.7-9.0)
<b>HOMA-IR</b>	<2.6	1.5 (1.0-3.0)	2.8 (1.6-5.7)***	2.9 (1.6-6.2)***	2.7 (1.6-4.9)**
<b>HOMA-β</b>		81.9 (53-140)	26 (15-64)***	26.6 (15.2-67.4)***	23.6 (15.1-62.5)***
<b>Índice metabólico</b>	<7.0	7.4 (3.9-12.2)	16 (7.4-33.7)***	16.9 (8.7-33)***	16 (7-35)***

\*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.001: Comparaciones de sujetos control vs total de casos, sujetos control vs diabéticos tempranos y sujetos control vs diabéticos tardíos. DT2, diabetes tipo 2; IMC, índice de masa corporal; PAS, presión arterial sistólica; PAD, presión arterial diastólica; HDL, colesterol de alta densidad; LDL, colesterol de baja densidad; VLDL, colesterol de muy baja densidad; AST, aspartato aminotransferasa; ALT, alanina aminotransferasa; Hb1Ac, hemoglobina glicosilada; HOMA-IR, modelo homeostático de evaluación de la resistencia a la insulina; HOMA-β, modelo homeostático de evaluación de la función de la célula β.

### 6.1.1. Evaluación de ancestría.

Debido a que la población de Chimalhuacán proviene de diversos estados de la República Mexicana, se hizo un análisis del lugar de origen de los participantes y el porcentaje que representan de la población de estudio.

En la Tabla 8 se observa que el 63% de la población de estudio proviene de 5 estados del país: Distrito Federal (26.1%), Estado de México (15.4%) (Chimalhuacán se evaluó por separado), Oaxaca (11.6%), Puebla (6.0%) y Veracruz (4.4%). En general se tiene presencia de 20 distintas entidades federativas y de 5 lenguas indígenas (solo información disponible de individuos no diabéticos) aunque en muy bajo porcentaje (Tabla 9).

Tabla 8. Procedencia del total de sujetos participantes en este estudio.

<b>Estado de origen</b>	<b>No. participantes*</b>	<b>Porcentaje que representan del muestreo (%)</b>
Aguascalientes	1	0.3
Chiapas	3	0.9
Distrito Federal	83	26.1
Durango	1	0.3
Guerrero	17	5.3
Guanajuato	12	3.8
Hidalgo	15	4.7
Jalisco	3	0.9
México	49	15.4
Michoacán	11	3.5
Morelos	4	1.3
Oaxaca	37	11.6
Puebla	19	6.0
Querétaro	5	1.6
Sn Luis Potosí	5	1.6
Sinaloa	1	0.3
Tamaulipas	1	0.3
Tlaxcala	5	1.6
Veracruz	14	4.4
Zacatecas	4	1.3
Chimalhuacán	14	4.4
No dan información	14	4.4

\*Información obtenida del cuestionario aplicado, incluye individuos diabéticos y no diabéticos

Tabla 9. Lenguas indígenas habladas por los participantes.

Variante lingüística	Porcentaje que representa del muestreo (%)
Mazahua	4.0
Zapoteco	1.0
Náhuatl	1.0
Popolaca	1.0
Otomí	1.0
No	54.0
No da información	38.0

\*Información obtenida del cuestionario aplicado.  
Sólo incluye individuos no diabéticos

El análisis de 20 individuos diabéticos reveló que su estructura genética está formada por un 83.7% de componente amerindio, 13.5% de caucásico y 2.8% de africano (Fig. 13). El número de poblaciones claramente identificadas por el programa Structure fueron tres (K=3) lo cual a su vez se puede corroborar con el diagrama de árbol realizado con base en las distancias genéticas (Fst) calculadas por el mismo programa (Fig. 14).

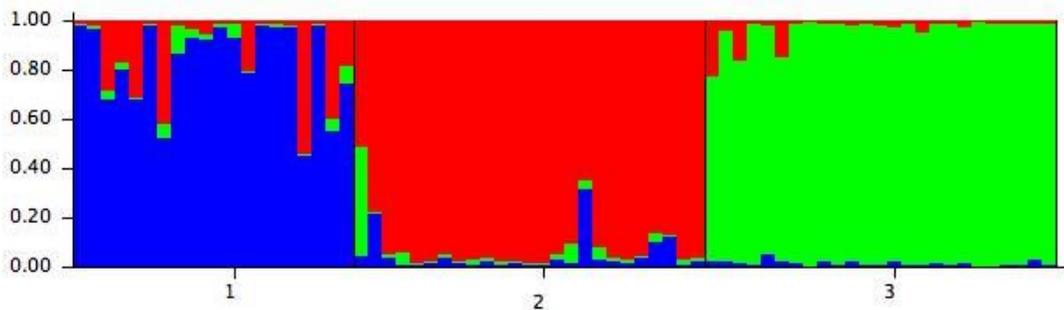


Fig. 13. Composición genética de la población de Chimalhuacán vs otras poblaciones de referencia (1000 Genomas). 1. Población de estudio de Chimalhuacán 2. Población Ibérica (IBS) 3. Población Africana (YRU). En azul se observa el componente amerindio, en rojo el caucásico y en verde el africano.

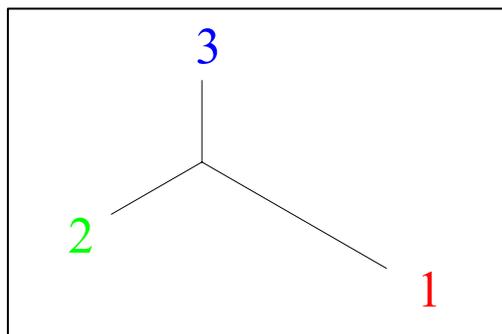


Fig. 14. Diagrama de árbol realizado con base en las distancias genéticas (Fst) de los tres componentes de la población analizada en su ancestría (Fig.13). En rojo se muestra el componente europeo, en verde el africano y en azul el amerindio.

## **6.2. Comparación de las frecuencias alélicas de los polimorfismos estudiados en la población de Chimalhuacán con las frecuencias de las poblaciones del Proyecto 1000 Genomas.**

Se realizó un análisis de las frecuencias alélicas de los polimorfismos estudiados para compararlas con las reportadas en el Proyecto 1000 Genomas, el cual representa la diversidad genética alrededor del mundo. Debido a que 1000 genomas reporta frecuencias alélicas de individuos que se declaran a sí mismos sanos y es menos probable encontrar sesgos en las frecuencias del alelo de riesgo en sujetos no diabéticos, el análisis se realizó con los datos del grupo control (Tabla 10).

La frecuencia obtenida para la población de estudio del alelo C de HHEX (rs1111875) fue de 63.3% superior a lo descrito en población Maya, Americana, Europea y Asiática, pero inferior a la población Africana, observándose diferencias estadísticamente significativas en las dos últimas. El alelo T de *HNF4a* (rs1800961) presentó una frecuencia de 5.1% la cual respecto de las poblaciones Americana, Europea, Africana y Asiática fue mayor siendo significativa para las dos últimas, en comparación de la maya que fue significativamente menor. La frecuencia del alelo T de *KCNJ11* (rs5219) fue de 37.3% siendo mayor para todas las poblaciones y estadísticamente significativa para la Americana y Asiática. Respecto al alelo C de *PPAR $\gamma$*  (rs1801282) la frecuencia obtenida fue de 81.6% siendo menor en relación a todas las poblaciones y no significativa respecto de la Maya. Para el alelo T de *CDKN2A/B* (rs10811661) la frecuencia fue de 87.3% mayor respecto de la Europea y significativamente de la Asiática pero menor de la Maya, Americana y Africana, siendo significativa respecto de la última. En el caso del alelo C de *SLC30A8* (rs13266634) la frecuencia fue de 77.2%, mayor respecto de la Maya, Americana, Europea y Asiática pero menor de la Africana siendo significativa para estas dos últimas. El alelo G en *CDC123/CAMK1D* (rs12779790) estuvo presente en un 11.4% siendo menor respecto de las frecuencias en la población Maya, Americana, Europea y Asiática siendo significativas para las dos últimas pero mayor en la Africana. Para el alelo T de *TCF7L2* (rs7903146) la frecuencia fue de 9.5% siendo significativamente menor respecto de la Americana, Europea y Africana pero mayor

Tabla 10. Comparación de frecuencias alélicas de la población de estudio de Chimalhuacán (n=79) vs población maya<sup>1</sup> y poblaciones de 1000 genomas<sup>2</sup>.

SNP/Gen	Frecuencias alélicas (%)						
		CHIM	MYA	AMR	EUR	AFR	ASN
rs1111875 HHEX	T	36.7	41.1	37.9	42.4	18.4	71.6
	C	63.3	58.9	62.1	57.6	81.6*	28.4*
rs1800961 HNF4α	C	94.9	89.7	94.5	96.3	99.9	98.4
	T	5.1	10.3*	5.5	3.7	0.1*	1.6*
rs5219 KCNJ11	C	62.7	65.4	70.7	66.7	97.7	66.2
	T	37.3	34.6	29.3*	35.3	2.3*	33.8
rs1801282 PPARγ	G	18.4	17.2	11.7	12	0.5	2.6
	C	81.6	82.8	88.3*	88*	99.5*	97.4*
rs10811661 CDKN2A/2B	C	12.7	11.5	12.4	16.8	4.5	43.6
	T	87.3	88.5	87.6	83.2	95.5*	56.4*
rs13266634 SLC30A8	T	22.8	25	26.7	28.3	7.4	45.7
	C	77.2	75	73.3	71.7	92.6*	54.3*
rs12779790 CDC123/CAMK1D	A	88.6	87.7	84.3	79.6	88.4	80.1
	G	11.4	12.3	15.7	20.4*	11.6	19.9*
rs7903146 TCF7L2	C	90.5	91	76.5	68.3	74	97.7
	T	9.5	9	23.5*	31.7*	26*	2.3*
rs9282541 ABCA1	C	89.2	79.6	95.8	100	99.9	100
	T	10.8	20.4*	4.2*	0*	0.1*	0*
rs13342692 SLC16A11	T	60.1	57.6	72.5	97.7	62	90.3
	C	39.9	42.4	27.5*	2.3*	38	9.7*

Alelos en negritas corresponden a los alelos de riesgo para diabetes tipo 2 identificados en otros estudios. \*p<0.05 CHIM vs otras poblaciones. CHIM, Chimalhuacán; MYA, Maya; AMR, Americana; EUR, Europea; AFR, Africana; ASN, Asiática; ABCA1, casete transportador de unión a ATP tipo A1; PPARγ, receptor activado por proliferador de peroxisoma gamma; HNF4α, factor nuclear del hepatocito 4α; CDKN2A, inhibidor de cinasas dependiente de ciclina 2A/B; SLC30A8, transportador de solutos integrante de la familia 30 miembro 8; TCF7L2, factor 7 de células T similar al 2; KCNJ11, canal de potasio, subfamilia J, miembro 11; HHEX, gen homeótico hematopoiéticamente expresado; SLC16A11, transportador de solutos familia 16 miembro 11; CDC123, proteína de división del ciclo celular 123; CAMK1D, proteína cinasa 1D dependiente de calcio/calmodulina.

1. Lara-Riegos, J.C., et al., Gene (2015) 2. 1000 Genomes release 17-nov-2015

respecto de la Maya y significativamente de la Asiática. El alelo T de *ABCA1* (rs9282541) se presentó en un 10.8% mostrando diferencias estadísticamente significativas respecto de todas las poblaciones siendo menor en relación a la maya y mayor en razón del resto de las poblaciones. Finalmente la frecuencia del alelo C de *SLC16A11* (rs13342692) fue de 39.9% la cual es mayor respecto de la Africana, Americana, Europea y Asiática siendo significativa para las últimas tres pero menor respecto de la Maya.

### 6.3. Relación genotipo-fenotipo en casos y controles.

Se analizó el efecto del genotipo con el fenotipo de los sujetos del grupo control los cuales cabe mencionar que realizan alguna actividad física propia de la edad (información obtenida del cuestionario). Con respecto a los niveles de presión arterial e IMC reportados como factores de riesgo y debido a la edad de los participantes, se realizó una corrección en el análisis estadístico utilizando como covariables el estado de HTA y obesidad (Tabla 11).

Los portadores de CT/CC para HHEX (rs1111875) tuvieron menores valores estadísticamente significativos de Hb1Ac respecto del genotipo TT ( $p=0.018$ ); para HNF4 $\alpha$  (rs1800961) se obtuvieron mayores valores para los portadores de CT/TT vs CC en triglicéridos ( $p=0.008$ ) y VLDL ( $p=0.006$ ) y menores en LDL ( $p=0.019$ ). Respecto a KCNJ11 (rs5219) los portadores de CT/TT tuvieron mayores valores de glucosa respecto del genotipo CC ( $p=0.041$ ) y a su vez una tendencia a mayor HOMA-IR ( $p=0.080$ ) mientras que para PPAR $\gamma$  (rs1801282) los portadores de CG/CC tuvieron una tendencia a mayores valores de colesterol respecto del genotipo GG ( $p=0.053$ ) y mayores valores de PAS ( $p=0.042$ ). En el genotipo CT/TT de CDKN2A/B (rs10811661) se obtuvieron valores mayores de LDL a diferencia del genotipo CC ( $p=0.021$ ) así como también de PAS ( $p=0.032$ ) y para SLC30A8 (rs13266634) el genotipo TT/TC presentó mayores valores de insulina ( $p=0.003$ ), HOMA-IR ( $p=0.006$ ), HOMA- $\beta$  ( $p=7.6 \times 10^{-5}$ ), AST ( $p=0.0003$ ) y ALT ( $p=0.004$ ) respecto del genotipo CC. El resto de las variantes no mostró ninguna correlación con los parámetros bioquímicos evaluados.

Tabla 11. Efecto del alelo de riesgo en individuos del grupo control.

SNP/ Gen		N	Glucosa	Colesterol	Triglicéridos	HDL	LDL	VLDL	Insulina	HOMA-IR	HOMA-B	Hb1Ac	PAS	PAD	AST	ALT	Ac. úrico
		79	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(uU/mL)			(%)			(U/L)	(U/L)	(mg/dL)
rs1111875	TT	8	96±23.8	201±27.7	146 (96-308)	45±12.8	130±26.5	46±50.3	7.6 (5.4-13.4)	1.8 (1.1-3.9)	68(44-162)	<b>5.5+0.21</b>	125(105-143)	72(62-86)	33.3±11	32±13.5	4.6±1.5
HHEX	CT/CC	71	95.8±12.4	188±38	155 (116-206)	46.5±11	124.6±37	33.7±16	6.9 (4.5-12.5)	1.5 (1-2.9)	84(53-137)	<b>5.3+0.33</b>	133(126-144)	76(69-82)	28±13	28±19.7	5.4±1.5
p <sup>a</sup>			0.336	0.337	0.352	0.702	0.37	0.357	0.519	0.615	0.805	<b>0.018</b>	0.661	0.767	0.127	0.16	0.127
rs1800961	CC	71	96.4±14	192±38	<b>150 (106-201)</b>	46.8±11	<b>129+36</b>	<b>31.7±17.7</b>	7 (4.8-12.5)	1.6 (1.1-3.3)	84(53-141)	5.3±0.3	133(124-144)	76(69-83)	29±12.3	27.7±17	5.4±1.5
HNF4α	CT/TT	8	91.4±9.7	170±23	<b>192 (140-389)</b>	43.2±9	<b>94+20</b>	<b>50.5±29</b>	5.6 (4.2-12.8)	1.2 (0.8-2.7)	79(62-153)	5.2±0.4	131(120-134)	76(73-83)	29.5±14.3	<b>34±32</b>	4.9±1.5
p <sup>a</sup>			0.608	0.259	<b>0.008</b>	0.703	<b>0.019</b>	<b>0.006</b>	0.831	0.623	0.679	0.098	0.637	0.558	0.636	0.957	0.636
rs5219	CC	31	<b>90.7+11.5</b>	190.5±38	145 (102-203)	47.4±11	129±36.6	31.5±14.5	6.1 (3.7-10.1)	1.3 (0.8-2.3)	81.9(49-156)	5.3±0.3	133(120-142)	76(69-81.5)	27.3±9.3	27.3±17	5.1±1.5
KCNJ11	CT/TT	48	<b>99.7+13.8</b>	189±37	160.5 (121-212)	45.6±11	122±35	37.3±24.5	8 (5.6-12.8)	1.8 (1.1-3.5)	82(57-124)	5.3±0.2	133(126-145)	76(69-84)	30.4±15	29.5±21	5.6±1.5
p <sup>a</sup>			<b>0.041</b>	0.812	0.177	0.565	0.313	0.254	0.160	0.080	0.784	0.361	0.538	0.203	0.602	0.203	0.203
rs1801282	GG/CG	26	94.8±13	191.8±36	153 (105-204)	46.6±10.6	126.7±36	34.4±21	6.1 (4.3-8.2)	1.5 (0.9-2.2)	78(51-139)	5.2±0.3	<b>135(123-148)</b>	75.8(67-79)	27.7±13	29.5±21	5.3±1.4
PPARγ	CC	53	94.7±14	187±39.4	150 (119-206)	45.4±11.2	124.4±36	33.6±19.6	7.2 (4.4-12.8)	1.5 (1.0-3.5)	95(53-142)	5.3±0.3	<b>131(125-136)</b>	76(70-84.6)	31±16	27.7±18.3	5.3±1.5
p <sup>b</sup>			0.356	0.053	0.284	0.695	0.386	0.570	0.987	0.986	0.972	0.242	<b>0.042</b>	0.616	0.788	0.565	0.788
rs10811661	CC/CT	19	95.7±12.5	199±32.7	153 (133-180)	49.8±7.5	<b>137+29</b>	31.2±7.3	7 (4.7-14.5)	1.5 (1.0-3.8)	108(52-188)	5.4±0.27	<b>138(128-151)</b>	76.5(72-85)	25.7±5.2	23.5±7.6	5.6±1.4
CDKN2A/ 2B	TT	60	96±14	186.5±38.7	154.5 (106-218)	45.2±11.7	<b>119+33</b>	36±23.7	6.8 (4.5-11.5)	1.54 (0.9-2.9)	79(57-130)	5.3±0.33	<b>131(120-139)</b>	76(69-80)	30.2±14	30.2±21.6	5.3±1.5
p <sup>b</sup>			0.708	0.132	0.507	0.109	<b>0.021</b>	0.563	0.538	0.508	0.816	0.328	<b>0.045</b>	0.181	0.548	0.68	0.548
rs13266634	TT/TC	32	95±14.4	185.7±39.4	162 (125-226)	45.8±11.8	121±37	39.1±27.4	<b>7.7 (5.8-15)</b>	<b>1.9 (1.1-4.2)</b>	<b>114(73-185)</b>	5.3±0.3	133(122-145)	76(69.5-84)	<b>35+16</b>	<b>32.6+18</b>	5.4±1.7
SLC30A8	CC	47	96.4±13	192±36	150 (113-193)	46.8±10.5	128±35	29.9±10.8	<b>6.6 (3.7-8.3)</b>	<b>1.4 (0.9-2.2)</b>	<b>75(44-103)</b>	5.3±0.3	133(126-135)	76(69-81)	<b>25.5+8.7</b>	<b>23.7+10</b>	5.3±1.3
p <sup>b</sup>			0.470	0.188	0.411	0.360	0.095	0.300	<b>0.003</b>	<b>0.006</b>	<b>7.6x10<sup>-5</sup></b>	0.869	0.834	0.659	<b>0.0003</b>	<b>0.004</b>	0.660
rs12779790	AA	63	96.4±13	190±37	156 (121-202)	46.8±11.4	124.7±36.7	34.7±21.3	7 (4.8-12.8)	1.5 (1.1-3.1)	91(53-153)	5.3±0.3	133(126-144)	76(69-83)	28.5±11.2	27.1±15	5.4±1.5
CDC123/ CAMK1D	AG/GG	16	93.6±15.5	187±41	137 (102-109)	44.6±9.1	126.7±33.8	29.5±11	6.7 (4.4-10.4)	1.6 (0.9-2.9)	78(51-110)	5.2±0.3	133(116-142)	76(69-80)	31.3±18.4	34±31.5	5±1.4
p <sup>a</sup>			0.585	0.677	0.700	0.781	0.489	0.758	0.544	0.51	0.552	0.849	0.49	0.527	0.79	0.71	0.79
rs7903146	CC	65	95.6±14	190±39.6	143 (106-206)	47±11.6	125±37	34.6±22.5	6.9 (21-41)	1.5 (1.0-3.0)	80.4(52.5-135)	5.3±0.3	133(125-141)	76(69-79)	29.5±13.7	29.2±20.7	5.4±1.5
TCF7L2	CT/TT	14	96.6±10.5	189±26	183 (150-203)	43.7±7.1	123±28	35.5±11	8.6 (30-40)	2.1 (1.1-3.3)	100(61-174)	5.3±0.4	137(122-146)	78.5(74-85)	27±7.3	25.5±9.3	5.1±1.1
p <sup>a</sup>			0.76	0.684	0.588	0.800	0.837	0.501	0.58	0.688	0.736	0.394	0.977	0.73	0.981	0.378	0.981
rs9282541	CC	63	96±12.6	193±36.6	157 (119-206)	47.3±11.3	127±34	34.7±21	7 (4.5-14)	2.8 (1.0-3.5)	91(57-155)	5.3±0.3	133(126-142)	76(71-83)	27.4±8.3	27±14.5	5.1±1.4
ABCA1	CT/TT	16	95±18	172±39	131.5 (100-200)	42.3±8.2	116.5±43.5	29.5±12.6	8.9 (4.2-7.9)	1.6 (1.0-1.9)	75(39-103)	5.4±0.3	133(113-150)	75(63-83)	36.7±24	34.8±33.3	6.2±1.7
p <sup>a</sup>			0.787	0.12	0.549	0.182	0.318	0.614	0.892	0.749	0.598	0.463	0.393	0.510	0.552	0.488	0.552
rs13342692	TT	29	96±13	179.8±31	152 (104-180)	45±10.5	119±25	29.5±10.5	7.3 (4.5-13.9)	1.6 (1.0-3.5)	82(51-132)	5.4±0.3	133(120-143)	76(69-85)	27.5±7.0	25.7±10	5.4±1.5
SLC16A11	CT/CC	50	95.7±13.9	196±40	157 (116-228)	47.2±11.3	128±41	38±25	6.9 (4.7-10.4)	1.5 (1.0-2.6)	82(57-155)	5.3±0.3	133(126-144)	76(70-79)	30.0±15.4	30±23	5.3±1.5
p <sup>a</sup>			0.614	0.136	0.091	0.466	0.300	0.110	0.480	0.402	0.414	0.158	0.140	0.889	0.692	0.870	0.692

Se reportan medias ± SD y medianas (percentiles 25-75). p < 0.05 (negritas) bajo modelo dominante (a) o recesivo (b). Covariables: edad, género, obesidad, hipertensión. SNP, Polimorfismo de un solo nucleótido; HDL, colesterol HDL; LDL, colesterol-LDL; VLDL, colesterol VLDL; HOMA-IR, modelo homeostático de resistencia a la insulina; HOMA-B, modelo homeostático del funcionamiento de la célula beta; Hb1Ac, hemoglobina glicosilada; PAS, presión arterial sistólica; DBP, presión arterial diastólica; AST, aspartato transaminasa; ALT, alanina aminotransferasa

Por otra parte, para evaluar el efecto de portar el alelo de riesgo en los individuos con DT2 también se realizó un análisis genotipo-fenotipo en los individuos que conformaron el grupo de casos (Tabla 12) tomando como covariables la edad, sexo e IMC. Para HHEX (rs1111875) los valores de HDL fueron mayores en los portadores del alelo de riesgo CT/CC ( $p=0.027$ ) así como también una tendencia a mayores valores de PAS ( $p=0.057$ ) y para HNF4 $\alpha$  (rs1800961) los portadores de CT/TT tuvieron mayores valores de Hb1Ac ( $p=0.040$ ). Con respecto a PPAR $\gamma$  (rs1801282) las concentraciones de HDL fueron mayores ( $p=0.045$ ) para el genotipo CC y hubo una tendencia en la glucosa a ser mayor ( $p=0.071$ ) mientras que los valores de HOMA- $\beta$  y ácido úrico fueron menores ( $p=0.002$  y  $p=0.013$ , respectivamente). Para CDKN2A/B (rs10811661) tanto PAS como PAD fueron menores para los portadores de TT ( $p=0.044$  y  $p=0.014$ , respectivamente) y en relación a ABCA1 (rs7903146) los portadores de CT/TT tuvieron mayores valores de Hb1Ac ( $p=0.024$ ) y menores valores de HDL ( $p=0.027$ ). Finalmente, para el gen SLC16A11 (rs13342692) los portadores de CT/CC mostraron un mayor valor de HOMA-IR ( $p=0.021$ ) y menor valor de ácido úrico ( $p=0.010$ ) respecto del genotipo TT.

Tabla 12. Efecto del alelo de riesgo en individuos diabéticos.

SNP/ Gen		N	Glucosa (mg/dL)	Colesterol (mg/dL)	Triglicéridos (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	VLDL (mg/dL)	Insulina (uU/mL)	HOMA-IR	HOMA B	Hb1AC (%)	PAS (mm Hg)	PAD (mm Hg)	AST (UI/L)	ALT (UI/L)	Ac. úrico (mg/dL)
rs1111875	TT	23	177±82	199±42	200 (135-301)	40.6±10.9	122±25.3	45.9±23.7	5.9 (4.2-15.5)	2.7 (1.5-5.1)	40.2 (14.8-83.8)	9.4±3.2	114 (107-129)	73 (68-83.5)	27.3±16.4	29.7±18.2	5.4±2.4
HHEX	CT/CC	116	181±73.7	186±43.8	169 (124-235)	46.3±11.2	129±39.2	37.7±19.0	8.1 (4.8-11.3)	2.9 (1.7-5.7)	23.6 (15.1-60.9)	8.9±2.6	128 (116-139)	77 (70-82)	21.9±8.2	23.9±11.2	5.1±1.7
p <sup>a</sup>			0.743	0.428	0.113	0.021	0.188	0.114	0.742	0.285	0.294	0.514	0.057	0.669	0.492	0.794	0.322
rs1800961	CC	129	178±73.8	193±42	174 (121-245)	44.2±12.5	122±37	40.4±23.6	8.0(4.7-12.8)	2.7 (1.6-5.6)	26.0 (15.2-65.7)	<b>9.0±2.6</b>	125 (114-138)	77 (70-84)	24.3±12.2	27.6±15.1	5.0±1.8
HNF4α	CT/TT	10	210±85.7	182±42	193 (129-273)	40.1±6.2	115±33.4	39.7±17.9	8.6 (4-10.9)	4.4 (2.2-6.4)	21.9 (13.3-51.4)	<b>10.8±3.3</b>	119 (109-137)	75 (72-77)	22.3±9.5	24.3±8.8	4.7±1.8
p <sup>a</sup>			0.24	0.619	0.625	0.557	0.866	0.640	0.848	0.420	0.499	<b>0.040</b>	0.861	0.490	0.378	0.440	0.900
rs5219	CC	64	183±76.2	195±44.2	166 (116-236)	43.7±11.9	123±37.2	41.4±27.5	7.5 (4.9-14.8)	2.9 (1.7-5.7)	38.6 (15.1-67.1)	9.1±3.1	124 (114-135)	77.5 (72-82)	25.0±12.3	27.7±14.1	4.8±2.1
KCNJ11	CT/TT	75	179±74.1	191±41.4	178 (126-251)	44.2±12.6	121±35.7	39.5±18.9	8.2 (4.3-11.0)	2.7 (1.6-5.2)	23.0 (14.8-56.8)	9.1±2.4	125 (113-140)	75 (70-83)	23.4±11.8	27.1±15.3	5.2±1.6
p <sup>a</sup>			0.825	0.708	0.607	0.801	0.996	0.654	0.884	0.815	0.920	0.807	0.986	0.358	0.275	0.315	0.223
rs1801282	GG/CG	28	153.9±56.8	188±39.8	176 (126-217)	<b>41.2±11.4</b>	123±34.5	36.2±12.8	8.3 (6.5-13.3)	2.4 (1.6-4.4)	<b>58.7 (33.3-84.5)</b>	8.4±2.3	129 (116-139)	76 (70-84)	28.3±15.0	32.2±19.4	<b>5.3±1.9</b>
PPARγ	CC	111	187±77.5	194±43.3	174 (121-257)	<b>44.6±12.4</b>	122±36.8	41.4±25.1	7.4 (4.1-11.3)	2.9 (1.6-6.0)	<b>22.3 (12.7-56.2)</b>	9.3±2.8	123 (113-137)	76 (70-83)	23.1±11.0	26.1±13.1	<b>4.9±1.8</b>
p <sup>b</sup>			0.071	0.507	0.934	<b>0.045</b>	0.781	0.900	0.178	0.224	<b>0.002</b>	0.117	0.140	0.515	0.153	0.405	<b>0.013</b>
rs10811661	CC/CT	21	180±76.6	198±34.3	191 (119-306)	43.4±11.2	124±34.7	45.7±27.5	6.1 (4.2-14.5)	2.3 (1.4-5.8)	23.6 (18.2-86.0)	8.5±3.8	130 (122-141)	<b>81.0 (74-88)</b>	23.0±8.1	26.5±10.8	4.9±1.6
CDKN2A/2B	TT	118	181±75.0	192±44	174 (122-241)	44.1±12.5	122±36.7	39.4±22.3	8.0 (4.7-11.3)	2.9 (1.7-5.3)	26.6 (13.3-63.5)	9.2±2.5	123 (112-136)	<b>75 (70-82)</b>	24.4±12.6	27.5±15.4	5.0±1.8
p <sup>b</sup>			0.92	0.399	0.234	0.792	0.695	0.228	0.880	0.526	0.481	0.184	0.043	<b>0.014</b>	0.789	0.578	0.986
rs13266634	TT/TC	60	178±70.1	199±36.5	175 (118-246)	46.3±12	126±30.8	40.9±25.3	7.6 (5.3-12.0)	3.2 (1.8-5.9)	22.4 (14.2-64.1)	9.3±2.5	126 (114-140)	76.0 (71-82)	22.3±9.6	25.6±10.9	5.1±1.8
SLC30A8	CC	79	183±78.0	188.1±46.4	174 (126-254)	42.1±12.2	119±39.8	39.9±21.6	8.1 (4.3-12.8)	2.7 (1.6-5.3)	31.9 (15.9-66.3)	9.0±2.9	123 (113-136)	77.0 (70-83)	25.6±13.5	28.6±7.0	4.9±1.8
p <sup>b</sup>			0.875	0.105	0.668	0.143	0.123	0.635	0.549	0.228	0.869	0.287	0.462	0.776	0.202	0.892	0.325
rs12779790	AA	101	176±74.3	196±41.8	177 (126-259)	44.5±13.3	122.7±36.1	42.0±24.6	7.1(4.0-10.7)	2.4 (1.6-4.6)	27.4 (15.2-64.6)	8.9±2.8	127 (114-140)	77 (70-83)	24.3±12.1	27.5±14.9	5.0±1.8
CDC123/ CAMK1D	AG/GG	38	193±75.7	184±44	170 (109-218)	42.5±9.0	119.8±37.2	35.9±18.5	8.7 (5.2-15.4)	4.6 (2.2-7.4)	22.3 (14.2-53.2)	9.7±2.5	122 (110-132)	76 (69-82)	23.7±11.9	26.8±14.1	5.0±1.9
p <sup>a</sup>			0.146	0.338	0.227	0.962	0.942	0.226	0.202	0.218	0.601	0.111	0.849	0.575	0.205	0.135	0.950
rs7903146	CC	92	179 ± 73.4	192±43.5	173 (123-243)	44.4±13.2	120.3±37	40.8±24.3	8 (5.2-14.5)	2.8 (1.7-5.6)	39.6 (15.8-68.7)	9.1±2.9	125 (112-140)	76.0 (69-82)	24.1±11.1	27.4±13.7	5.0±1.8
TCF7L2	CT/TT	47	183.4±78.3	194±41.1	177 (117-251)	43.1±10.3	125±35	39.4±21.0	7.5 (4.1-10.7)	2.6 (1.6-5.6)	22 (12.9-43.0)	9.1±2.4	125 (114-136)	77.0 (72-83)	24.3±13.8	27.1±16.7	5.0±1.7
p <sup>a</sup>			0.936	0.491	0.842	0.840	0.325	0.865	0.687	0.544	0.314	0.700	0.776	0.522	0.989	0.414	0.798
rs9282541	CC	103	175±76.3	196±43.7	174 (119-254)	<b>45.4±12.1</b>	124.3±38.1	39.6±21.9	6.1 (4.1-12.8)	2.3 (1.6-5.7)	25.9 (13.7-67.4)	<b>8.9±2.5</b>	126 (114-137)	76 (70-83)	23.5±11.1	26.4±13.6	5.2±1.8
ABCA1	CT/TT	36	196±69.1	185±38.7	180 (128-246)	<b>39.9±12.4</b>	115±30	42.3±26.7	8.4 (7.4-10.5)	4.1(2.5-5.6)	37.9 (15.2-62.5)	<b>9.7±3.2</b>	123 (114-138.5)	78 (70-82)	27.0±14.4	29.5±17.7	4.6±1.9
p <sup>a</sup>			0.087	0.283	0.811	<b>0.027</b>	0.301	0.823	0.145	0.094	0.948	<b>0.024</b>	0.827	0.821	0.152	0.365	0.112
rs13342692	TT	49	171±74.5	209±39	191 (137-261)	44.9±11.7	127±33.7	43.3±23.3	5.4 (3.8-8.8)	<b>1.9 (1.4-3.2)</b>	22.3 (12.3-63.0)	8.5±2.5	126 (116-142)	78 (72-85)	24.8±12.9	27.2±15.5	<b>5.5±1.5</b>
SLC16A11	CT/CC	90	186±75	188.5±44.8	162 (117-242)	43.8±12.8	119±38	38.8±23.3	8.4 (5.4-15.3)	<b>4.1 (2.2-6.3)</b>	31.8 (15.2-71.8)	9.4±2.8	123 (112-135)	75. (69.5-82)	24±11.9	27.3±14.4	<b>4.8±1.9</b>
p <sup>b</sup>			0.415	0.145	0.138	0.960	0.301	0.147	0.126	<b>0.021</b>	0.711	0.097	0.392	0.472	0.373	0.673	<b>0.010</b>

Se reportan medias ± SD y medianas (percentiles 25-75). p < 0.05 (negritas) bajo modelo dominante (a) o recesivo (b). Covariables: edad, género e IMC. SNP, Polimorfismo de un solo nucleótido; HDL, colesterol HDL; LDL, colesterol-LDL; VLDL, colesterol VLDL; HOMA-IR, modelo homeostático de resistencia a la insulina; HOMA-B, modelo homeostático del funcionamiento de la célula beta; Hb1Ac, hemoglobina glicosilada; PAS, presión arterial sistólica; DBP, presión arterial diastólica; AST, aspartato transaminasa; ALT, alanina aminotransferasa

#### 6.4. Estudio de asociación con DT2.

En la Tabla 13 se muestran los resultados del estudio de asociación de las 10 variantes con la susceptibilidad al desarrollo de DT2 utilizando la estratificación de la población mencionada anteriormente en la Tabla 7. Las frecuencias alélicas correspondientes a los sujetos control se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg mientras que para el rs5219 de KCNJ11 el total de casos y los diabéticos tempranos no lo cumplieron. Las covariables utilizadas en el análisis fueron el sexo debido a que el porcentaje de participación de hombres y mujeres fue distinto y el IMC ya se quiere evitar que el sobrepeso u obesidad sea un factor confusor, es importante mencionar que debido al diseño de la investigación la edad no fue incluida como covariable. Debido al alto porcentaje amerindio que presentó la muestra de individuos analizados en el estudio de ancestría, no se realizó ninguna corrección por ésta.

Así al hacer el análisis del total de casos (n=139) vs controles (n=79) se encontró que la variante rs1801282 (PPAR $\gamma$ ) tuvo una asociación con DT2 presentando un OR de 1.95 e IC al 95% (1.04-3.6) con una p=0.037 bajo el modelo recesivo así como también el rs7903146 (TCF7L2) con un OR de 2.4 e IC al 95% (1.2-4.7) y p=0.012 bajo el modelo dominante; en ambas variantes se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre las frecuencias alélicas de casos y controles (p=0.019 y p=0.008 respectivamente). Al evaluar las frecuencias alélicas de los diabéticos tempranos (generando así un grupo de 75 casos), la asociación previamente encontrada en los diabéticos totales con la variante rs1801282 (PPAR $\gamma$ ) se vuelve nominal presentando una p=0.054 con un OR de 2.1 e IC al 95% (0.98-4.4) manteniendo una diferencia significativa entre las frecuencias alélicas de casos y controles (p=0.036). La variante rs10811661 (CDKN2A/B) denota una asociación no presentada en los diabéticos totales con un OR de 2.8 e IC al 95% (1.1-6.7) y p=0.026. La asociación con rs7903146 (TCF7L2) se mantiene mostrando un OR de 2.4 e IC al 95% (1.2-5.2) cuya p=0.020. Tanto en el rs10811661 (CDKN2A/B) como en el rs7903146 (TCF7L2) se encuentran diferencias significativas entre las frecuencias alélicas de casos y controles (p=0.045 y p=0.006 respectivamente). Finalmente, al evaluar la asociación en los diabéticos

tardíos (n=64), la asociación previamente reportada en los diabéticos totales con el rs7903146 (TCF7L2) se vuelve nominal obteniendo un OR de 2.2 e IC al 95% (0.99-4.8) con una  $p=0.051$  cuya diferencia entre las frecuencias alélicas de casos y controles también es nominal ( $p=0.053$ ). El resto de las variantes no mostró ninguna asociación.

Tabla 13. Análisis de asociación de las variantes de riesgo con diabetes tipo 2 en la población de estudio estratificada por edad de aparición de la enfermedad.

SNP Gen	Alelo	Total población diabética					Diabéticos tempranos					Diabéticos tardíos				
		Conteo de alelos		p <sub>alélica</sub>	OR (IC 95%)	p <sup>a,b</sup>	Conteo de alelos		p <sub>alélica</sub>	OR (IC 95%)	p <sup>a,b</sup>	Conteo de alelos		p <sub>alélica</sub>	OR (IC 95%)	p <sup>a,b</sup>
		Controles (%)	Casos (%)				Controles (%)	Casos (%)				Controles (%)	Casos (%)			
rs1111875	T	58 (36.7)	106 (38.1)	0.768	0.56 (0.2-1.3)	0.189 <sup>a</sup>	58 (36.7)	61 (40.7)	0.475	0.60 (0.2-1.6)	0.31 <sup>a</sup>	58 (36.7)	45 (35.2)	0.785	0.54 (0.2-1.5)	0.22 <sup>a</sup>
HHEX	C	100 (63.3)	172 (61.9)				100 (63.3)	89 (59.3)				100 (63.3)	83 (64.8)			
rs1800961	C	150 (94.9)	268 (96.4)	0.459	0.67 (0.3-1.8)	0.43 <sup>a</sup>	150 (94.9)	143 (95.3)	0.873	0.88 (0.3-2.6)	0.82 <sup>a</sup>	150 (94.9)	125 (97.7)	0.234	0.42 (0.1-1.6)	0.21 <sup>a</sup>
HNF4α	T	8 (5.1)	10 (3.6)				8 (5.1)	7 (4.7)				8 (5.1)	3 (2.3)			
rs5219	C	99 (62.7)	177§ (63.7)	0.833	0.76 (0.4-1.3)	0.33 <sup>a</sup>	99 (62.7)	98§ (65.3)	0.625	0.64 (0.3-1.2)	0.18 <sup>a</sup>	99 (62.7)	79 (61.7)	0.872	0.92 (0.4-1.8)	0.79 <sup>a</sup>
KCNJ11	T	59 (37.3)	101 (36.3)				59 (37.3)	52 (34.7)				59 (37.3)	49 (38.3)			
rs1801282	G	29 (18.4)	29 (11.0)	<b>0.019</b>	<b>1.95 (1.04-3.6)</b>	<b>0.037<sup>b</sup></b>	29 (18.4)	15 (10.0)	<b>0.036</b>	<b>2.1 (0.98-4.4)</b>	<b>0.054<sup>b</sup></b>	29 (18.4)	14 (10.9)	0.081	1.7 (0.8-3.7)	0.15 <sup>b</sup>
PPARγ	C	129 (81.6)	249 (89.6)				129 (81.6)	135 (90.0)				129 (81.6)	114 (89.1)			
rs10811661	C	20 (12.7)	23 (8.3)	0.139	1.87 (0.92-3.8)	0.081 <sup>b</sup>	20 (12.7)	9 (6.0)	<b>0.045</b>	<b>2.8 (1.1-6.7)</b>	<b>0.026<sup>b</sup></b>	20 (12.7)	14 (10.9)	0.654	1.4 (0.6-3.2)	0.42 <sup>b</sup>
CDKN2A/2B	T	138 (87.3)	255 (91.7)				138 (87.3)	141 (94.0)				138 (87.3)	114 (89.1)			
rs13266634	T	36 (22.8)	68 (24.5)	0.693	0.89 (0.5-1.6)	0.711 <sup>a</sup>	36 (22.8)	36 (24.0)	0.801	1.2 (0.2-5.5)	0.85 <sup>a</sup>	36 (22.8)	32 (25.0)	0.661	0.7 (0.2-2.7)	0.69 <sup>a</sup>
SLC30A8	C	122 (77.2)	210 (75.5)				122 (77.2)	114 (76.0)				122 (77.2)	96 (75.0)			
rs12779790	A	140 (88.6)	237 (85.3)	0.324	1.5 (0.7-2.8)	0.278 <sup>a</sup>	140 (88.6)	126 (84.0)	0.238	1.6 (0.8-3.5)	0.20 <sup>a</sup>	140 (88.6)	111 (86.7)	0.627	1.3 (0.6-2.8)	0.54 <sup>a</sup>
CDC123/CAMK1D	G	18 (11.4)	41 (14.7)				18 (11.4)	24 (16.0)				18 (11.4)	17 (13.3)			
rs7903146	C	143 (90.5)	225 (80.9)	<b>0.008</b>	<b>2.4 (1.2-4.7)</b>	<b>0.012<sup>a</sup></b>	143 (90.5)	119 (79.3)	<b>0.006</b>	<b>2.4 (1.2-5.2)</b>	<b>0.020<sup>a</sup></b>	143 (90.5)	106 (82.8)	<i>0.053</i>	<i>2.2 (0.99-4.8)</i>	<i>0.051<sup>a</sup></i>
TCF7L2	T	15 (9.5)	53 (19.1)				15 (9.5)	31 (20.7)				15 (9.5)	22 (17.2)			
rs9282541	C	141 (89.2)	239 (86.0)	0.326	1.4 (0.7-2.8)	0.302 <sup>a</sup>	141 (89.2)	130 (86.7)	0.487	1.3 (0.6-2.8)	0.52 <sup>a</sup>	141 (89.2)	109 (85.2)	0.300	1.6 (0.7-3.5)	0.24 <sup>a</sup>
ABCA1	T	17 (10.8)	39 (14.0)				17 (10.8)	20 (13.3)				17 (10.8)	19 (14.8)			
rs13342692	T	95 (60.1)	158 (56.8)	0.503	1.07 (0.6-1.9)	0.822 <sup>a</sup>	95 (60.1)	76 (50.7)	0.094	1.6 (0.8-3.3)	0.158 <sup>a</sup>	95 (60.1)	82 (64.1)	0.495	0.7 (0.4-1.4)	0.32 <sup>a</sup>
SLC16A11	C	63 (39.9)	120 (43.2)				63 (39.9)	74 (49.3)				63 (39.9)	46 (35.9)			

§ Las frecuencias alélicas no se encuentran en equilibrio de HW. Valor de p y OR calculado con un análisis de regresión logística ajustado por género e IMC a través del modelo dominante<sup>a</sup> o el modelo recesivo<sup>b</sup>.

### **6.5. Relación genotipo-fenotipo de las variantes asociadas a DT2 en individuos diabéticos de aparición temprana y tardía.**

También se analizó el efecto del genotipo de las variantes asociadas a la enfermedad en los diversos rasgos fenotípicos de diabéticos tempranos (Tabla 14) y tardíos (Tabla 15). En los individuos diabéticos de aparición temprana se observaron diferencias significativas para rs1801282 (PPAR $\gamma$ ) siendo mayores los valores de los portadores del alelo de riesgo en HDL (p=0.023) y menores para AST (p=0.043) y ácido úrico (p=0.029); en los diabéticos de aparición tardía se observó un menor HOMA- $\beta$  (p=0.005). En rs10811661 (CDKN2A/B) para los diabéticos tempranos homocigotos de la variante de riesgo se observaron mayores valores de glucosa (p=0.047) y de Hb1Ac (p=0.005) y menores para PAD (p=0.024); respecto a los diabéticos tardíos por el contrario reportaron menores valores de glucosa. Para el rs7903146 (TCF7L2) no se observaron diferencias significativas en ninguno de los dos grupos.

Tabla 14. Efecto del alelo de riesgo en individuos diabéticos de aparición temprana.

SNP/ Gen	N	Glucosa (mg/dL)	Colesterol (mg/dL)	Triglicéridos (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	VLDL (mg/dL)	Insulina (uU/mL)	HOMA-IR	HOMA B	Hb1AC (%)	PAS (mm Hg)	PAD (mm Hg)	AST (UI/L)	ALT (UI/L)	Ac. úrico (mg/dL)	
<b>rs1801282</b>	GG /CG	14	160.5±18.5	189±47	183(118-209)	<b>39.6±13.5</b>	125.5±41	36±13	8.4 (4.9-13.7)	2.4(1.6-4.4)	47.5 (21-93)	8.7±2.3	125 (111-138)	76 (70-87)	<b>29.7±13.4</b>	35.5±22.8	<b>5.2±1.6</b>
<b>PPAR<math>\gamma</math></b>	CC	61	193±9.2	194±47	166 (110-244)	<b>44.8±12</b>	123±39	39±24	8.6 (4.1-15.2)	3.2 (1.5-7.9)	22 (12-63)	9.6±2.7	1230(108-134)	75 (68-83)	<b>23.5±11.9</b>	26.4±12.6	<b>4.8±1.9</b>
<b>p<sup>b</sup></b>			0.08	0.63	0.619	<b>0.023</b>	0.657	0.591	0.627	0.101	0.232	0.259	0.068	0.344	<b>0.043</b>	0.789	<b>0.029</b>
<b>rs10811661</b>	CC/CT	9	<b>143±67</b>	188±41	118 (112-234)	43±9.7	118±46	38±32	9(4.3-16)	1.8(1.1-4.8)	92(35-370)	<b>7.3±4.4</b>	133(119-140)	<b>86(75-89)</b>	21.5±6.6	26.6±7.9	4.8±2
<b>CDKN2A/2B</b>	TT	66	<b>193±71.7</b>	194±48	177 (119-231)	44±13	124±39	39±21	8.4 (4.4-14.6)	3.2(1.6-7.5)	26 (14-59)	<b>9.8±2.2</b>	118 (108-129)	<b>75 (68-82)</b>	25±12.9	28.3±16.1	4.8±1.8
<b>p<sup>b</sup></b>			<b>0.047</b>	0.844	0.593	0.719	0.564	0.621	0.656	0.072	0.305	<b>0.005</b>	0.120	<b>0.024</b>	0.817	0.79	0.741
<b>rs7903146</b>	CC	49	189± 68	192±46	179 (119-234)	43±13.6	121±37	40±23	8.7(5.1-17)	4.1 (2-7.5)	39.2(17.6-84)	9.5±3	122 (109-136)	75(68-84)	25±10.7	29±15	4.8±1.8
<b>TCF7L2</b>	CT/TT	26	183±82	196±49	158 (106-224)	45±9.6	127±43	36±20	8.1 (4-12.4)	2.2(1.4-5.4)	23.4 (12.5-54)	9.4±2	118 (108-132)	75 (71-83)	24±15.1	26±17	4.9±1.9
<b>p<sup>a</sup></b>			0.505	0.725	0.262	0.8296	0.835	0.265	0.624	0.304	0.218	0.848	0.509	0.901	0.144	0.103	0.962

Se reportan medias  $\pm$  SD y medianas (percentiles 25-75). p < 0.05 (negritas) bajo modelo dominante (a) o recesivo (b). Covariables: edad, género e IMC. SNP, Polimorfismo de un solo nucleótido; HDL, colesterol HDL; LDL, colesterol-LDL; VLDL, colesterol VLDL; HOMA-IR, modelo homeostático de resistencia a la insulina; HOMA-B, modelo homeostático del funcionamiento de la célula beta; Hb1Ac, hemoglobina glicosilada; PAS, presión arterial sistólica; PAD, presión arterial diastólica; AST, aspartato transaminasa; ALT, alanina aminotransferasa

Tabla 15. Efecto del alelo de riesgo en individuos diabéticos de aparición tardía.

SNP/ Gen	N	Glucosa (mg/dL)	Colesterol (mg/dL)	Triglicéridos (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	VLDL (mg/dL)	Insulina (uU/mL)	HOMA-IR	HOMA B	Hb1AC (%)	PAS (mm Hg)	PAD (mm Hg)	AST (UI/L)	ALT (UI/L)	Ac. úrico (mg/dL)	
<b>rs1801282</b>	GG / GC	14	147±43	186±32	172 (126-226)	43±8.9	121±28	33±11	8.1 (7.0-13.3)	2.6 (1.6-4.7)	<b>64 (41-81)</b>	8±2.4	135(122-141)	77 (70-82)	27±16.8	28.8±15.3	5.3±2.2
<b>PPAR<math>\gamma</math></b>	CC	50	180±83	193±38	196 (135-270)	44±13	119±34	39.7±20	6.0 (4.0-9.0)	2.7 (1.6-3.9)	<b>22.3 (13-52)</b>	8.9±2.8	128 (118-140)	79 (71-84)	22±9.9	25.7±13.7	5.2±1.6
<b>p<sup>b</sup></b>			0.526	0.495	0.797	0.412	0.631	0.692	0.131	0.813	<b>0.004</b>	0.521	0.636	0.628	0.524	0.167	0.464
<b>rs10811661</b>	CC / CT	12	<b>207±74</b>	205±27	<b>241(170-326)</b>	44±12.7	128±23.7	51.6±22.7	6.1 (4.2-14.5)	3.1 (1.6-10.6)	22.3 (16.7-26)	9.3±3.2	129 (121-147)	81 (73-87)	23.9±9.1	26.4±13	5±1.4
<b>CDKN2A/2B</b>	TT	52	<b>165±76</b>	189±38	<b>169 (126-249)</b>	44±12.2	118±34.3	40.5±24.3	7.2 (4.7-8.7)	2.6 (1.6-4.3)	32 (13.0-69.0)	8.6±2.6	128 (118-140)	78 (70-82)	23.4±12.3	26±14.4	5.2±1.9
<b>p<sup>b</sup></b>			<b>0.049</b>	0.070	<b>0.026</b>	0.582	0.138	0.056	0.830	0.417	0.305	1.00	0.748	0.224	0.206	0.615	0.525
<b>rs7903146</b>	CC	43	167.9±81	192±41	169 (129-265)	45.5±12.7	118.8±36.7	41.9±25.6	7.4 (5.6-8.9)	2.5 (1.7-3.9)	51.5 (15.2-66)	8.6±2.8	128 (120-140)	78 (70-82)	23±11.5	25.5±12.4	5.3±1.9
<b>TCF7L2</b>	CT/TT	21	184±75.5	193±29	202 (135-256)	40.9±10.9	122±22.8	44±21.7	6 (4.0-9.8)	3 (1.6-5.8)	22 (12.3-28.5)	8.7±2.7	129 (118-140)	78 (72-86)	24.6±12.4	28.1±17	5.0±1.5
<b>p<sup>a</sup></b>			0.338	0.525	0.361	0.404	0.444	0.562	0.826	0.584	0.218	0.878	0.742	0.334	0.244	0.838	0.625

Se reportan medias  $\pm$  SD y medianas (percentiles 25-75). p < 0.05 (negritas) bajo modelo dominante (a) o recesivo (b). Covariables: edad, género, IMC. SNP, Polimorfismo de un solo nucleótido; HDL, colesterol HDL; LDL, colesterol-LDL; VLDL, colesterol VLDL; HOMA-IR, modelo homeostático de resistencia a la insulina; HOMA-B, modelo homeostático del funcionamiento de la célula beta; Hb1Ac, hemoglobina glicosilada; PAS, presión arterial sistólica; PAD, presión arterial diastólica; AST, aspartato transaminasa; ALT, alanina aminotransferasa

## 7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

La prevalencia y heredabilidad de enfermedades como la diabetes son distintas en los diversos grupos étnicos del mundo debido a la heterogeneidad alélica entre ellos (156). La población mexicana tiene una alta prevalencia de DT2 y una estructura genética particular (157), por lo que estudios específicos son necesarios para identificar el fondo genético de la diabetes en esta población.

Se han realizado esfuerzos al respecto estudiando en su mayoría a la población de la Ciudad de México. Los reportes existentes aún son pocos y en algunos casos los resultados son controversiales (Tabla 5), más aún, los estudios en poblaciones vulnerables del país como Chimalhuacán son escasos. En este contexto, en el presente trabajo se exploraron 10 *loci* de riesgo asociados a padecer DT2 en una muestra de habitantes del municipio de Chimalhuacán, Estado de México a través de un estudio de casos y controles que permitió identificar variantes asociadas a la enfermedad y relacionarlas con fenotipos de riesgo para padecerla.

Los estudios de asociación han adoptado frecuentemente un diseño de caso-control para evaluar si los polimorfismos analizados afectan el riesgo o a la enfermedad directamente (158). Por lo general debido a que estos estudios son transversales, no es posible asegurar que los individuos del grupo control no padecerán la enfermedad eventualmente, así en la presente investigación, este grupo estuvo conformado por sujetos no diabéticos de la tercera edad ya que en ellos la probabilidad de que desarrollen DT2 es menor.

En un estudio de asociación es importante controlar las covariables que puedan tener un efecto confusor entre el marcador genético y la afección para evitar asociaciones espurias (159). Es por esto que se incluyeron covariables en los diversos análisis realizados en el presente estudio. Para la correlación genotipo-fenotipo de los sujetos control se corrigió por edad, sexo, hipertensión y obesidad debido al envejecimiento celular propio de la edad (Tabla 11); para los casos las covariables utilizadas fueron edad, sexo e IMC (Tabla 12). Respecto al análisis de asociación de las variantes con DT2

se corrigió por sexo e IMC (1). Diversos estudios en población mestiza mexicana consideran la ancestría como una covariable; sin embargo el análisis en la muestra de diabéticos evaluados arrojó un alto porcentaje amerindio (83.7%) en comparación con lo reportado en dichos estudios (101, 102, 160), por tanto ninguna corrección fue incluida para este parámetro.

La composición del cuerpo cambia con la edad (161), las personas tienden a ganar peso y a redistribuir la grasa corporal ubicándola al centro del cuerpo e incrementando la circunferencia de cintura, lo cual a su vez se refleja en un incremento de la grasa visceral (162). La masa grasa alcanza sus máximos niveles a los 60–70 años de edad (163) e inclusive existen asociaciones que sugieren que un IMC < 27 debiera ser considerado como peso normal para el anciano (164). Sin embargo la OMS mantiene los puntos de corte iguales para cualquier etapa de la vida sin importar la edad (165) considerando entonces los criterios de la OMS, las mujeres del grupo control, presentaron valores de IMC, cintura e ICC por arriba de los de referencia, mientras que en los hombres únicamente el IMC estuvo fuera de rango.

Entre las principales alteraciones de las vías metabólicas involucradas en el envejecimiento se incluyen mayor lipogénesis y gluconeogénesis hepática, defectuosa síntesis de glucógeno y consumo de glucosa en el músculo esquelético, incremento en las citocinas proinflamatorias las cuales interfieren con la acción de la insulina (166) y resistencia a la insulina propiciada por el aumento de triglicéridos en hígado y músculo (167). A pesar de lo anterior, la mediana de los triglicéridos de estos individuos se encontró justo en el límite recomendado y el IM solo 0.4 unidades por encima del valor sugerido. Los valores de Hb1Ac, HOMA- $\beta$  y HOMA-IR estuvieron muy por debajo de los puntos de corte definidos para el diagnóstico de diabetes (1). Por tanto los datos sugieren que la probabilidad de que los sujetos control desarrollen DT2 en un corto tiempo es baja a pesar del descontrol metabólico propio de la edad.

De acuerdo con las sugerencias de la ADA para un buen control de la DT2 (168) y de la NOM-015-SSA2-2010 para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus

(Anexo XII) (169), la población diabética presentó un estado no controlado de la enfermedad (Tabla 7). Cabe mencionar que dicho descontrol fue distinto en hombres y mujeres respecto a las medidas antropométricas. Las mujeres tuvieron valores de IMC, circunferencia de cintura e ICC por encima de los de referencia y los hombres solamente IMC y cintura. En comparación con un estudio de caracterización de pacientes mexicanos con DT2 (170) los hombres del presente trabajo tuvieron menores valores de cintura (98 cm vs 105 cm), mientras que para las mujeres la tendencia a mayor obesidad central coincide en ambos estudios (170). Respecto a los parámetros bioquímicos, la glucosa y Hb1Ac se encontraron por arriba de los valores recomendados y el mismo comportamiento se observó para el colesterol LDL y los triglicéridos. Una aparición temprana de la enfermedad puede estar asociada a factores genéticos de riesgo (55, 133) la cual tiene un mayor impacto sobre la calidad de vida de los pacientes. Así, se estratificó por edad de aparición de la diabetes observando que en los diabéticos tempranos hay una evolución de la enfermedad de 12 años y en los tardíos de 6. Ambos subgrupos mantienen el descontrol de la enfermedad en los mismos parámetros que la población diabética total; a pesar de que se observa un aparente valor de glucosa y Hb1Ac mayor en los individuos de aparición temprana esta diferencia no es estadísticamente significativa (Tabla 7).

Importantes resultados de este trabajo fueron las asociaciones con DT2 obtenidas de las variantes en PPAR $\gamma$  (rs1801282) para la población diabética total cuyo poder estadístico se calculó en 47.4%, en CDKN2A/B (rs10811661) para población diabética de aparición temprana con poder estadístico de 54.6% y en TCF7L2 (rs7903146) para la población diabética total con poder estadístico de 83% y para la de aparición temprana con poder estadístico de 72.6% (Tabla 13). Así mismo se obtuvieron asociaciones nominales de la variante de PPAR $\gamma$  (rs1801282) en población diabética temprana y de TCF7L2 (rs7903146) en población diabética de aparición tardía (Tabla 13). Esto implica un factor genético de riesgo importante debido a que la aparición temprana de la enfermedad conlleva una mayor exposición a los factores relacionados con complicaciones de la diabetes (171). Por otra parte es importante mencionar que

las variantes en PPAR $\gamma$  y TCF7L2 se encontraron en menor frecuencia en la población control vs las poblaciones de 1000 genomas (excepto de la asiática para TCF7L2) (Tabla 10).

El polimorfismo rs1801282 de PPAR $\gamma$  presenta un comportamiento peculiar debido a que el alelo ancestral (C) (Tabla 10) es el que se ha reportado como de riesgo en diversas poblaciones (39, 82, 85). La asociación de esta variante en la población diabética total representa la primera reportada en población mestiza mexicana a pesar de que existen estudios previos en indígenas mexicanos (102), en mestizos diabéticos tempranos (101), tardíos (101) y estudios de mestizos evaluando el alelo alterno como de protección (160) (Tabla 5).

PPAR $\gamma$  participa en el proceso de adipogénesis (172) e inclusive en la supervivencia del adipocito maduro (173). La presencia de altos niveles de tejido adiposo pueden reflejarse en elevados valores de IMC y circunferencia de cintura los cuales constituyen factores de riesgo para el desarrollo de DT2 ya que originan resistencia a la insulina (174). Es por esto que se han realizado estudios para evaluar la asociación del alelo de riesgo (C) con el IMC, sin embargo se han encontrado resultados controversiales. En un meta-análisis de 2015, el alelo C de rs1801282 fue asociado con menor IMC en población de distintas etnicidades (175), sin embargo también CC se ha asociado con un mayor riesgo a padecer sobrepeso y obesidad en pacientes asiáticos con DT2 no controlada (176, 177). Ya que tanto casos como controles presentaron sobrepeso y adiposidad central, se evaluó la asociación de CC con el exceso de peso de la población de estudio sin encontrarla (OR = 0.83 (0.3-2.3), p=0.73).

El análisis de correlación genotipo-fenotipo del rs1801282 en el total de individuos diabéticos tuvo un HOMA- $\beta$  significativamente menor en los portadores de CC (p=0.002) así como una tendencia a mayores concentraciones de glucosa (p=0.071) (Tabla 12). Este comportamiento respecto al HOMA- $\beta$  se mantiene también en los diabéticos tardíos (p=0.004) (Tabla 15). Lo anterior sugiere que la asociación de CC

con DT2 está orquestada por una disfunción de la célula  $\beta$  relacionada con un descontrol del metabolismo de lípidos, dado el importante papel que PPAR $\gamma$  tiene con éstos (172). De hecho los valores de triglicéridos y LDL de los diabéticos se encontraron por encima de los valores sugeridos para un buen control de la enfermedad, mientras que para los controles dichos valores se encontraron dentro de lo establecido para un sujeto sano. Ya que la variante se encuentra específicamente en la isoforma PPAR- $\gamma$ 2 la cual está íntimamente involucrada en la regulación de los niveles de glucosa, en la adipogénesis, en la sensibilidad a insulina y en la homeostasis de lípidos (178), la asociación del alelo C con DT2 y las correlaciones genotipo-fenotipo de HOMA- $\beta$  y glucosa en diabéticos, proponen que la variante genera una alteración en la transcripción de los genes blanco de PPAR $\gamma$ . El papel de este SNP se ha investigado en individuos con DT2 descontrolada sin embargo los resultados aún no son claros (179).

A pesar de que el principal efecto reportado en la homeostasis de glucosa del alelo C ha sido la resistencia a la insulina (180), no se encontró ninguna correlación entre los portadores de CC con un elevado valor de HOMA-IR en diabéticos totales, tempranos, tardíos ni controles, sin embargo es cierto que el proceso es más complejo que sólo la presencia de un SNP.

El SNP rs7903146 de *TCF7L2* (Tabla 13), ha sido la variante más ampliamente replicada en todo el mundo respecto a la susceptibilidad a la DT2 (181) y en este trabajo sorprendentemente también fue la variante con una mayor asociación estadísticamente significativa ( $p=0.012$ ) (Tabla 13). Cabe mencionar que la asociación con diabéticos tempranos en mestizos mexicanos también es reportada por Gamboa-Meléndez y cols. (101) luego de estratificar por edad de aparición de la enfermedad. Con base en lo anterior, los datos brindan confiabilidad a los resultados obtenidos como información preliminar que genera expectativas para explorar con un mayor poder estadístico los efectos de la variante en los rasgos fenotípicos de riesgo para la enfermedad.

Entre los diversos estudios del efecto de rs7903146 sobre el metabolismo está la disminución del índice insulinogénico sin aumento de la RI (182) y la alteración del desarrollo de la célula  $\beta$  y su homeostasis (183). Llama la atención que a pesar de ser la variante con mayor asociación con DT2, en este trabajo no se observó correlación entre portar el alelo de riesgo con algún rasgo fenotípico que comúnmente se evalúa en este tipo de estudios (Tablas 11, 12, 14 y 15) aún cuando es una variante común de susceptibilidad a la DT2 en todo el mundo (43, 122, 141, 181, 182) y que plantea la posibilidad de que existen otros biomarcadores que estén relacionados en el metabolismo del gen pero que aún no son evaluados rutinariamente.

El segundo SNP que se encontró asociado a DT2 fue la variante rs10811661 (*CDKN2A/B*) con un OR de 1.95 (1.04-3.6;  $p=0.037$ ). En población maya Lara-Riegos y cols. también la reportaron asociada (102) con un OR de 2.015 (1.010-4.022;  $p=0.047$ ) en indígenas mayas, al igual que Gamboa-Meléndez y cols. (101) la refieren en mestizos-mexicanos con un OR de 1.47 (1.14-1.89;  $p=0.003$ ). Pese a que la frecuencia alélica de dicha variante no muestra diferencia significativa con la población europea (Tabla 10), este polimorfismo pudiera ser parte del conjunto de SNPs que en población indígena confiera susceptibilidad a padecer diabetes ya que Gamboa-Meléndez la encuentra luego de hacer corrección por ancestría y tanto mayas como la población de Chimalhuacán presentaron un alto componente amerindio. Esta es la única variante que sólo tuvo asociación con población diabética de aparición temprana lo que implica un factor de riesgo genético que sería importante estudiar con mayor poder estadístico.

La expresión de *CDKN2B* ha sido altamente reportada en tejido adiposo (184) y una de las asociaciones que Gamboa-Meléndez (101) obtuvo del SNP con DT2 fue en presencia de obesidad. Debido a que todos los subgrupos de la población de estudio tuvieron elevados valores de IMC, ICC y cintura, no es posible determinar si la asociación obtenida con diabéticos tempranos se deba a una condición de obesidad a pesar de la corrección por IMC que se realizó en dicho análisis, ya que para observar el efecto con claridad se requeriría hacer una subestratificación de la población diabética en obesa y

no obesa y evaluar en cada subgrupo dicha asociación. Por otra parte, al analizar la correlación genotipo-fenotipo, en los diabéticos de aparición temprana se encontró una tendencia de presentar mayores valores de resistencia a la insulina para los portadores del alelo de riesgo ( $p=0.072$ ). Se puede especular que esta sea la causa de las diferencias estadísticamente significativas que la glucosa ( $p=0.047$ ) y la Hb1Ac ( $p=0.005$ ) presentaron en los portadores del alelo de riesgo, además de explicar la asociación con DT2 en este subgrupo de la población.

A pesar de que el rs18011661 ha mostrado en diversas réplicas correlación con una menor secreción de insulina y función de la célula  $\beta$  (185-187), esto no se pudo observar en la población de estudio corroborando que la asociación encontrada obedece más a un proceso de resistencia a la insulina.

El polimorfismo rs5219 de KCNJ11 provoca un ligero aumento de la actividad del canal  $K_{ATP}$  (para el que codifica la subunidad menor) lo que a su vez genera hiposecreción de insulina (188). Aproximadamente 50% de la población mundial porta al menos un alelo de riesgo (T) del SNP lo que genera un ligero factor de riesgo ( $OR\sim 1.2$ ) (189, 190). En este trabajo, a pesar de no haber encontrado asociación de los portadores del alelo de riesgo con DT2, es importante mencionar que en el grupo control los portadores de CT/TT presentaron una mayor concentración de glucosa ( $p=0.041$ ) (Tabla 11) y es probable que la falta de asociación con la enfermedad se haya debido al bajo efecto que aporta la variante haciendo necesario un mayor poder estadístico para observar su efecto.

Se ha descrito que el rs1800961 de HNF4 $\alpha$  afecta el dominio de unión al ADN resultando en una reducción de su función como factor transcripcional sobre sus genes blanco (55). HNF4 $\alpha$  en páncreas dirige la expresión y secreción de insulina, así como también actúa sobre genes relacionados con GLUT2 (Boj SF, 2001) (54). A pesar de no haber observado en sujetos diabéticos ni controles ninguna relación entre portar el alelo de riesgo (CT/TT) con menores niveles de insulina (Tablas 11 y 12), sí se observó que los diabéticos tuvieron mayores valores de Hb1Ac ( $p=0.04$ ). Esto refleja un descontrol crónico del metabolismo de la glucosa que pudiera deberse a una falla en la

secreción de la hormona (Tabla 12).

Por otra parte HNF4 $\alpha$  actúa sobre más de 40 genes blanco entre los que se encuentran los de regulación de apolipoproteínas y el metabolismo de ácidos grasos (55, 191). El grupo de controles portadores de la variante de riesgo presentó correlación con mayores valores de triglicéridos y VLDL lo cual sugiere que el rs1800961 podría estar involucrado en dicha regulación. Pese a que el SNP ha sido asociado con DT2 de aparición temprana (55, 60) en este trabajo no se pudo observar (Tabla 13).

El alelo C de rs13266634 en SLC30A8 se encuentra en alta frecuencia en poblaciones de todo el mundo, por ejemplo se ha reportado en 66% de población europea en la cual ha sido fuertemente asociada a DT2 ( $p=1.3 \times 10^{-21}$ ) (84). En el presente trabajo, a pesar de que la frecuencia alélica del alelo de riesgo fue de 77% no se observó ninguna asociación con la enfermedad. El factor de riesgo que confiere para padecer DT2 es modesto con OR que varían de 1.11-1.16 en diversas etnicidades (110) lo que sugiere ser la razón de no haber obtenido dicha asociación.

El rs13266634 se ha asociado a una menor producción de insulina en diversas poblaciones (101, 192, 193). Los individuos del grupo control portadores del genotipo CC tuvieron menores valores de HOMA- $\beta$  ( $p=7.6 \times 10^{-5}$ ) siendo ésta la correlación más fuerte de todos los análisis genotipo-fenotipo (Tablas 11 y 12). Adicionalmente, se observaron valores menores de insulina en dichos sujetos con una importante diferencia significativa ( $p=0.003$ ) lo cual era de esperarse debido a lo mencionado respecto a HOMA- $\beta$  (Tabla 11). A pesar de lo anterior, las medianas de ambos parámetros (insulina y HOMA- $\beta$ ) se encontraron dentro de los valores de referencia. Estas correlaciones resultan particularmente importantes debido a que están presentes en individuos que no padecen la enfermedad, sugiriendo que, a pesar de no haber encontrado los mismos resultados en diabéticos, el rs13266634 sí sea una variante de riesgo asociada a diabetes en esta población cuyo efecto pudiera observarse al aumentar el número de participantes en el estudio.

El alelo de riesgo (T) de rs9282541 en ABCA1 ha sido asociado con menor concentración de colesterol HDL en población mexicana (133) lo cual fue observado también en los sujetos diabéticos portadores de CT/TT ( $p=0.027$ ) (Tabla 12) en este estudio. La disminución de HDL también se ha reportado en individuos con DT2 de aparición temprana por lo cual se analizó este parámetro en la población diabética estratificada por edad de aparición, encontrando una correlación significativa en los diabéticos tempranos ( $p=0.046$ ) y sólo una tendencia en los tardíos ( $p=0.068$ ) (datos no mostrados). El resultado es particularmente importante para los diabéticos tempranos ya que esto indica una mayor predisposición al desarrollo de afecciones cardiovasculares, lo cual disminuye su calidad de vida a edades más tempranas como se mencionó anteriormente.

La proteína ABCA1 funciona como un transportador de lípidos en la membrana plasmática de las células. En modelos murinos se ha demostrado que un exceso de colesterol en la célula  $\beta$  impide la correcta secreción de insulina a causa de lipotoxicidad en los islotes pancreáticos (54). A partir de lo anterior se puede especular que el SNP en ABCA1 pudiera estar involucrado en dicha lipotoxicidad por una afectación en el transporte de lípidos de la célula. Los elevados valores de Hb1Ac encontrados en la población diabética portadora del alelo de riesgo CT/TT, sugieren que una menor secreción crónica de insulina puede estar siendo ocasionada por dicho mecanismo. Los bajos niveles de HDL que se mencionaron anteriormente en estos individuos apoya dicha premisa (Tabla 12) debido a que bajas concentraciones de este tipo de colesterol ocasionará la acumulación de lípidos en la células y en consecuencia una toxicidad. Cabe mencionar que la funcionalidad de la variante rs9282541 no ha sido descrita hasta el momento. En el presente trabajo no se encontró asociación del alelo T en el grupo de diabéticos tempranos a pesar de que sí ha sido reportada en mestizos mexicanos (133), se sugiere un estudio con mayor poder estadístico para tener más claridad al respecto.

Finalmente los individuos portadores del alelo C en rs13342692 (SLC16A11) en el grupo de diabéticos tuvieron mayores valores de HOMA-IR ( $p=0.021$ ) (Tabla 12). Esta

variante es una de las 5 mutaciones en desequilibrio de ligamiento que han sido asociadas con un incremento del 20% en el riesgo a padecer DT2 dentro de SLC16A11 (141) A pesar de que el análisis de los rasgos fenotípicos de riesgo relacionados con el padecimiento aún ofrece poca visión sobre el papel fisiológico de esta proteína *in vivo*, la resistencia a insulina encontrada pudiera explicarse a través de la relación que tiene el SNP con el metabolismo de triglicéridos, mismo que se ha identificado como de susceptibilidad a DT2 en población latina (141). De hecho, uno de los parámetros lipídicos descontrolados en sujetos diabéticos fueron los niveles de triglicéridos, sin embargo no se pudo observar ninguna correlación genotipo-fenotipo en los portadores de la variante de riesgo en controles ni casos.

El presente estudio brinda importantes revelaciones de los riesgos genéticos en una población vulnerable mestiza mexicana. Sería interesante evaluar el efecto combinado de los *loci* estudiados, a través del cálculo de un puntaje de riesgo genético lo cual daría mayor información sobre la carga genética de susceptibilidad a DT2 en esta población. Por otra parte debido a la naturaleza multifactorial de la enfermedad, otros rasgos presentes en la población de estudio no pueden ser descartados. Uno de ellos es la situación de bajos ingresos que entre otras cosas implica la mala nutrición de los individuos, afectando principalmente a niños y mujeres embarazadas. En éstas, provocará un deficiente desarrollo fetal del bebé, mismo que al nacer tampoco recibirá una alimentación adecuada haciéndolo propenso a enfermedades metabólicas. Otro riesgo que no puede ser descartado es la contaminación del ambiente que rodea a la población de Chimalhuacán por su cercanía al Bordo de Xochiaca donde existe un basurero.

Así en una situación de vulnerabilidad, portar alelos de riesgo como los antes mencionados pudiera actuar sinérgicamente con el entorno, potencializando la susceptibilidad a la enfermedad en dichos individuos.

## 8. CONCLUSIONES.

- Los SNP's rs1801282 (*PPAR $\gamma$*  modelo recesivo), rs1903146 (*TCF7L2* modelo dominante) y rs10811661 (*CDKN2A/B* modelo recesivo) se asociaron con DT2 en la población de Chimalhuacán.
- La asociación con rs1801282 (*PPAR $\gamma$*  modelo recesivo) es la primera reportada en población mexicana.
- Las variantes estudiadas en *HNF4 $\alpha$* , *PPAR $\gamma$* , *KCNJ11*, *SLC30A8*, *ABCA1* y *SLC16A11* correlacionan con factores de riesgo para presentar DT2.
- Las frecuencias alélicas encontradas en la población de estudio difieren en dos variantes respecto de la maya y en diversas variantes respecto de las poblaciones reportadas en 1000 genomas, lo que sugiere que la composición genética de riesgo a la enfermedad de esta población es particular.
- El análisis de ancestría muestra un elevado componente indígena en la muestra analizada de la población de estudio.
- Los individuos diabéticos en general presentan un descontrol de la enfermedad. Esto generará complicaciones de la misma en un menor tiempo y a su vez un mayor gasto para el sector salud del municipio, ya que además son más jóvenes respecto a cifras nacionales.
- En el presente estudio se encontraron hallazgos de relevancia epidemiológica relacionados con una mayor susceptibilidad a padecer DT2 lo que sugiere la importancia de continuar con un estudio de mayor poder estadístico en la población de Chimalhuacán.

## 9. REFERENCIAS.

1. American Diabetes A. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2014;37 Suppl 1:S81-90.
2. American Diabetes A. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care*. 2016;39 Suppl 1:S13-22.
3. IDF. International Diabetes Federation Diabetes Atlas. 2015.
4. Olokoba AB, Obateru OA, Olokoba LB. Type 2 diabetes mellitus: a review of current trends. *Oman Med J*. 2012;27(4):269-73.
5. Selvin E, Crainiceanu CM, Brancati FL, Coresh J. Short-term variability in measures of glycemia and implications for the classification of diabetes. *Arch Intern Med*. 2007;167(14):1545-51.
6. Phillipou G, Phillips PJ. Intraindividual variation of glycohemoglobin: implications for interpretation and analytical goals. *Clin Chem*. 1993;39(11 Pt 1):2305-8.
7. Rohlfing C, Wiedmeyer HM, Little R, Grotz VL, Tennill A, England J, et al. Biological variation of glycohemoglobin. *Clin Chem*. 2002;48(7):1116-8.
8. WHO WHO. Global health risks: mortality and burden of disease attributable to selected major risks. . Geneva, Switzerland: 2009.
9. INEGI. Principales causas de mortalidad por residencia habitual, grupos de edad y sexo del fallecido 2015 [Available from: <http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/registros/vitales/mortalidad/tabulados/ConsultaMortalidad.asp>].
10. INSP. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados nacionales. Instituto Nacional de Salud Pública, 2012.
11. INEGI. Estadísticas a propósito del día mundial de la diabetes. Instituto Nacional de Estadística y Geografía, 2013 14 noviembre 2013. Report No.
12. Chen L, Magliano DJ, Zimmet PZ. The worldwide epidemiology of type 2 diabetes mellitus--present and future perspectives. *Nat Rev Endocrinol*. 2012;8(4):228-36.
13. Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz G, Liu S, Solomon CG, et al. Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *N Engl J Med*. 2001;345(11):790-7.
14. Kelly T, Yang W, Chen CS, Reynolds K, He J. Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *Int J Obes (Lond)*. 2008;32(9):1431-7.
15. Huxley R, James WP, Barzi F, Patel JV, Lear SA, Suriyawongpaisal P, et al. Ethnic comparisons of the cross-sectional relationships between measures of body size with diabetes and hypertension. *Obes Rev*. 2008;9 Suppl 1:53-61.
16. Maedler K, Spinass GA, Dyntar D, Moritz W, Kaiser N, Donath MY. Distinct effects of saturated and monounsaturated fatty acids on beta-cell turnover and function. *Diabetes*. 2001;50(1):69-76.
17. Gremlich S, Bonny C, Waeber G, Thorens B. Fatty acids decrease IDX-1 expression in rat pancreatic islets and reduce GLUT2, glucokinase, insulin, and somatostatin levels. *J Biol Chem*. 1997;272(48):30261-9.
18. Jacqueminet S, Briaud I, Rouault C, Reach G, Poitout V. Inhibition of insulin gene expression by long-term exposure of pancreatic beta cells to palmitate is dependent on the presence of a stimulatory glucose concentration. *Metabolism*. 2000;49(4):532-6.

19. de Haan W, Karasinska JM, Ruddle P, Hayden MR. Hepatic ABCA1 expression improves beta-cell function and glucose tolerance. *Diabetes*. 2014;63(12):4076-82.
20. Mechanic D, Tanner J. Vulnerable people, groups, and populations: societal view. *Health Aff (Millwood)*. 2007;26(5):1220-30.
21. Mikkonen J RD. *Social Determinants of Health: The Canadian Facts*. Toronto, ON: York University School of Health Policy and Management; 2010.
22. Edward K. Chronic illness and wellbeing: using nursing practice to foster resilience as resistance. *Br J Nurs*. 2013;22(13):741-2, 4, 6.
23. Vanstone M, Giacomini M, Smith A, Brundisini F, DeJean D, Winsor S. How diet modification challenges are magnified in vulnerable or marginalized people with diabetes and heart disease: a systematic review and qualitative meta-synthesis. *Ont Health Technol Assess Ser*. 2013;13(14):1-40.
24. Hankonen N, Absetz P, Haukkala A, Uutela A. Socioeconomic status and psychosocial mechanisms of lifestyle change in a type 2 diabetes prevention trial. *Ann Behav Med*. 2009;38(2):160-5.
25. Pilkington FB, Daiski I, Lines E, Bryant T, Raphael D, Dinca-Panaitescu M, et al. Type 2 diabetes in vulnerable populations: community healthcare providers' perspectives on health service needs and policy implications. *Can J Diabetes*. 2011;35(5):503-11.
26. Dinca-Panaitescu S, Dinca-Panaitescu M, Bryant T, Daiski I, Pilkington B, Raphael D. Diabetes prevalence and income: Results of the Canadian Community Health Survey. *Health Policy*. 2011;99(2):116-23.
27. Thomas J, Jones G, Scarinci I, Brantley P. A descriptive and comparative study of the prevalence of depressive and anxiety disorders in low-income adults with type 2 diabetes and other chronic illnesses. *Diabetes Care*. 2003;26(8):2311-7.
28. Essien UR, Shahid NN, Berkowitz SA. Food Insecurity and Diabetes in Developed Societies. *Curr Diab Rep*. 2016;16(9):79.
29. Medici F, Hawa M, Ianari A, Pyke DA, Leslie RD. Concordance rate for type II diabetes mellitus in monozygotic twins: actuarial analysis. *Diabetologia*. 1999;42(2):146-50.
30. Willemsen G, Ward KJ, Bell CG, Christensen K, Bowden J, Dalgard C, et al. The Concordance and Heritability of Type 2 Diabetes in 34,166 Twin Pairs From International Twin Registers: The Discordant Twin (DISCOTWIN) Consortium. *Twin Res Hum Genet*. 2015;18(6):762-71.
31. Weijnen CF, Rich SS, Meigs JB, Krolewski AS, Warram JH. Risk of diabetes in siblings of index cases with Type 2 diabetes: implications for genetic studies. *Diabet Med*. 2002;19(1):41-50.
32. Flegal KM, Ezzati TM, Harris MI, Haynes SG, Juarez RZ, Knowler WC, et al. Prevalence of diabetes in Mexican Americans, Cubans, and Puerto Ricans from the Hispanic Health and Nutrition Examination Survey, 1982-1984. *Diabetes Care*. 1991;14(7):628-38.
33. Groop L, Forsblom C, Lehtovirta M, Tuomi T, Karanko S, Nissen M, et al. Metabolic consequences of a family history of NIDDM (the Botnia study): evidence for sex-specific parental effects. *Diabetes*. 1996;45(11):1585-93.

34. Lyssenko V, Jonsson A, Almgren P, Pulizzi N, Isomaa B, Tuomi T, et al. Clinical risk factors, DNA variants, and the development of type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2008;359(21):2220-32.
35. Doria A, Patti ME, Kahn CR. The emerging genetic architecture of type 2 diabetes. *Cell Metab.* 2008;8(3):186-200.
36. Almind K, Bjorbaek C, Vestergaard H, Hansen T, Echwald S, Pedersen O. Aminoacid polymorphisms of insulin receptor substrate-1 in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet.* 1993;342(8875):828-32.
37. Stone LM, Kahn SE, Fujimoto WY, Deeb SS, Porte D, Jr. A variation at position -30 of the beta-cell glucokinase gene promoter is associated with reduced beta-cell function in middle-aged Japanese-American men. *Diabetes.* 1996;45(4):422-8.
38. Hani EH, Boutin P, Durand E, Inoue H, Permutt MA, Velho G, et al. Missense mutations in the pancreatic islet beta cell inwardly rectifying K<sup>+</sup> channel gene (KIR6.2/BIR): a meta-analysis suggests a role in the polygenic basis of Type II diabetes mellitus in Caucasians. *Diabetologia.* 1998;41(12):1511-5.
39. Deeb SS, Fajas L, Nemoto M, Pihlajamaki J, Mykkanen L, Kuusisto J, et al. A Pro12Ala substitution in PPARgamma2 associated with decreased receptor activity, lower body mass index and improved insulin sensitivity. *Nat Genet.* 1998;20(3):284-7.
40. Winckler W, Weedon MN, Graham RR, McCarroll SA, Purcell S, Almgren P, et al. Evaluation of common variants in the six known maturity-onset diabetes of the young (MODY) genes for association with type 2 diabetes. *Diabetes.* 2007;56(3):685-93.
41. Sandhu MS, Weedon MN, Fawcett KA, Wasson J, Debenham SL, Daly A, et al. Common variants in WFS1 confer risk of type 2 diabetes. *Nat Genet.* 2007;39(8):951-3.
42. Silander K, Mohlke KL, Scott LJ, Peck EC, Hollstein P, Skol AD, et al. Genetic variation near the hepatocyte nuclear factor-4 alpha gene predicts susceptibility to type 2 diabetes. *Diabetes.* 2004;53(4):1141-9.
43. Grant SF, Thorleifsson G, Reynisdottir I, Benediktsson R, Manolescu A, Sainz J, et al. Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes. *Nat Genet.* 2006;38(3):320-3.
44. Mohlke KL, Boehnke M. Recent advances in understanding the genetic architecture of type 2 diabetes. *Hum Mol Genet.* 2015;24(R1):R85-92.
45. Kaul N, Ali S. Genes, Genetics, and Environment in Type 2 Diabetes: Implication in Personalized Medicine. *DNA Cell Biol.* 2016;35(1):1-12.
46. Hedrick PW. Genetics of populations. 4th edition ed. United States of America: Jones & Bartlett Learning; 2011.
47. Taillon-Miller P, Piernot EE, Kwok PY. Efficient approach to unique single-nucleotide polymorphism discovery. *Genome Res.* 1999;9(5):499-505.
48. Feero WG, Guttmacher AE, Collins FS. Genomic medicine--an updated primer. *N Engl J Med.* 2010;362(21):2001-11.
49. Waters KM, Stram DO, Hassanein MT, Le Marchand L, Wilkens LR, Maskarinec G, et al. Consistent association of type 2 diabetes risk variants found in europeans in diverse racial and ethnic groups. *PLoS Genet.* 2010;6(8).
50. Cowie CC, Rust KF, Byrd-Holt DD, Eberhardt MS, Flegal KM, Engelgau MM, et al. Prevalence of diabetes and impaired fasting glucose in adults in the U.S. population: National Health And Nutrition Examination Survey 1999-2002. *Diabetes Care.* 2006;29(6):1263-8.

51. Liu S, Song Y. Building genetic scores to predict risk of complex diseases in humans: is it possible? *Diabetes*. 2010;59(11):2729-31.
52. Odom DT, Zizlsperger N, Gordon DB, Bell GW, Rinaldi NJ, Murray HL, et al. Control of pancreas and liver gene expression by HNF transcription factors. *Science*. 2004;303(5662):1378-81.
53. Rhee J, Inoue Y, Yoon JC, Puigserver P, Fan M, Gonzalez FJ, et al. Regulation of hepatic fasting response by PPARgamma coactivator-1alpha (PGC-1): requirement for hepatocyte nuclear factor 4alpha in gluconeogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(7):4012-7.
54. Wang H, Maechler P, Antinozzi PA, Hagenfeldt KA, Wollheim CB. Hepatocyte nuclear factor 4alpha regulates the expression of pancreatic beta -cell genes implicated in glucose metabolism and nutrient-induced insulin secretion. *J Biol Chem*. 2000;275(46):35953-9.
55. Menjivar M, Granados-Silvestre MA, Montufar-Robles I, Herrera M, Tusie-Luna MT, Canizales-Quinteros S, et al. High frequency of T130I mutation of HNF4A gene in Mexican patients with early-onset type 2 diabetes. *Clin Genet*. 2008;73(2):185-7.
56. Zhu Q, Yamagata K, Miura A, Shihara N, Horikawa Y, Takeda J, et al. T130I mutation in HNF-4alpha gene is a loss-of-function mutation in hepatocytes and is associated with late-onset Type 2 diabetes mellitus in Japanese subjects. *Diabetologia*. 2003;46(4):567-73.
57. Love-Gregory LD, Wasson J, Ma J, Jin CH, Glaser B, Suarez BK, et al. A common polymorphism in the upstream promoter region of the hepatocyte nuclear factor-4 alpha gene on chromosome 20q is associated with type 2 diabetes and appears to contribute to the evidence for linkage in an ashkenazi jewish population. *Diabetes*. 2004;53(4):1134-40.
58. Weedon MN, Owen KR, Shields B, Hitman G, Walker M, McCarthy MI, et al. Common variants of the hepatocyte nuclear factor-4alpha P2 promoter are associated with type 2 diabetes in the U.K. population. *Diabetes*. 2004;53(11):3002-6.
59. Monroy VS, Diaz CA, Trenado LM, Peralta JM, Soto SM. Thr130Ile polymorphism of HNF4A gene is associated with gestational diabetes mellitus in Mexican population. *J Investig Med*. 2014;62(3):632-4.
60. Cieza-Borrella C, Diaz-Soto G, Martinez-Pino I, Puig-Domingo M, Gonzalez-Sarmiento R. Early-onset type 2 diabetes mellitus is associated to HNF4A T130I polymorphism in families of central Spain. *J Investig Med*. 2014;62(8):968-74.
61. Soufi A, Jayaraman PS. PRH/Hex: an oligomeric transcription factor and multifunctional regulator of cell fate. *Biochem J*. 2008;412(3):399-413.
62. Bort R, Martinez-Barbera JP, Beddington RS, Zaret KS. Hex homeobox gene-dependent tissue positioning is required for organogenesis of the ventral pancreas. *Development*. 2004;131(4):797-806.
63. Zhang J, McKenna LB, Bogue CW, Kaestner KH. The diabetes gene Hhex maintains delta-cell differentiation and islet function. *Genes Dev*. 2014;28(8):829-34.
64. Li X, Li Y, Song B, Guo S, Chu S, Jia N, et al. Hematopoietically-expressed homeobox gene three widely-evaluated polymorphisms and risk for diabetes: a meta-analysis. *PLoS One*. 2012;7(11):e49917.

65. Horikoshi M, Hara K, Ito C, Shojima N, Nagai R, Ueki K, et al. Variations in the HHEX gene are associated with increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetologia*. 2007;50(12):2461-6.
66. Schulze MB, Al-Hasani H, Boeing H, Fisher E, Doring F, Joost HG. Variation in the HHEX-IDE gene region predisposes to type 2 diabetes in the prospective, population-based EPIC-Potsdam cohort. *Diabetologia*. 2007;50(11):2405-7.
67. Inagaki N, Inazawa J, Seino S. cDNA sequence, gene structure, and chromosomal localization of the human ATP-sensitive potassium channel, uKATP-1, gene (KCNJ8). *Genomics*. 1995;30(1):102-4.
68. Shyng S, Nichols CG. Octameric stoichiometry of the KATP channel complex. *J Gen Physiol*. 1997;110(6):655-64.
69. Sakura H, Wat N, Horton V, Millns H, Turner RC, Ashcroft FM. Sequence variations in the human Kir6.2 gene, a subunit of the beta-cell ATP-sensitive K-channel: no association with NIDDM in white Caucasian subjects or evidence of abnormal function when expressed in vitro. *Diabetologia*. 1996;39(10):1233-6.
70. Schwanstecher C, Meyer U, Schwanstecher M. K(IR)6.2 polymorphism predisposes to type 2 diabetes by inducing overactivity of pancreatic beta-cell ATP-sensitive K(+) channels. *Diabetes*. 2002;51(3):875-9.
71. Nielsen EM, Hansen L, Carstensen B, Echwald SM, Drivsholm T, Glumer C, et al. The E23K variant of Kir6.2 associates with impaired post-OGTT serum insulin response and increased risk of type 2 diabetes. *Diabetes*. 2003;52(2):573-7.
72. Barroso I, Luan J, Middelberg RP, Harding AH, Franks PW, Jakes RW, et al. Candidate gene association study in type 2 diabetes indicates a role for genes involved in beta-cell function as well as insulin action. *PLoS Biol*. 2003;1(1):E20.
73. Qiu L, Na R, Xu R, Wang S, Sheng H, Wu W, et al. Quantitative assessment of the effect of KCNJ11 gene polymorphism on the risk of type 2 diabetes. *PLoS One*. 2014;9(4):e93961.
74. Gribble FM, Ashcroft FM. Differential sensitivity of beta-cell and extrapancreatic K(ATP) channels to gliclazide. *Diabetologia*. 1999;42(7):845-8.
75. Beamer BA, Negri C, Yen CJ, Gavrilova O, Rumberger JM, Durcan MJ, et al. Chromosomal localization and partial genomic structure of the human peroxisome proliferator activated receptor-gamma (hPPAR gamma) gene. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997;233(3):756-9.
76. Fajas L, Auboeuf D, Raspe E, Schoonjans K, Lefebvre AM, Saladin R, et al. The organization, promoter analysis, and expression of the human PPARgamma gene. *J Biol Chem*. 1997;272(30):18779-89.
77. Raman P, Koenig RJ. Pax-8-PPAR-gamma fusion protein in thyroid carcinoma. *Nat Rev Endocrinol*. 2014;10(10):616-23.
78. Gupta D, Kono T, Evans-Molina C. The role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in pancreatic beta cell function and survival: therapeutic implications for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab*. 2010;12(12):1036-47.
79. Ravnskjaer K, Boergesen M, Rubi B, Larsen JK, Nielsen T, Fridriksson J, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) potentiates, whereas PPARgamma attenuates, glucose-stimulated insulin secretion in pancreatic beta-cells. *Endocrinology*. 2005;146(8):3266-76.

80. Tontonoz P, Hu E, Spiegelman BM. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR gamma 2, a lipid-activated transcription factor. *Cell*. 1994;79(7):1147-56.
81. Yen CJ, Beamer BA, Negri C, Silver K, Brown KA, Yarnall DP, et al. Molecular scanning of the human peroxisome proliferator activated receptor gamma (hPPAR gamma) gene in diabetic Caucasians: identification of a Pro12Ala PPAR gamma 2 missense mutation. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997;241(2):270-4.
82. Altshuler D, Hirschhorn JN, Klannemark M, Lindgren CM, Vohl MC, Nemesh J, et al. The common PPARgamma Pro12Ala polymorphism is associated with decreased risk of type 2 diabetes. *Nat Genet*. 2000;26(1):76-80.
83. Gouda HN, Sagoo GS, Harding AH, Yates J, Sandhu MS, Higgins JP. The association between the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 (PPARG2) Pro12Ala gene variant and type 2 diabetes mellitus: a HuGE review and meta-analysis. *Am J Epidemiol*. 2010;171(6):645-55.
84. Morris AP, Voight BF, Teslovich TM, Ferreira T, Segre AV, Steinthorsdottir V, et al. Large-scale association analysis provides insights into the genetic architecture and pathophysiology of type 2 diabetes. *Nat Genet*. 2012;44(9):981-90.
85. Mori H, Ikegami H, Kawaguchi Y, Seino S, Yokoi N, Takeda J, et al. The Pro12 -->Ala substitution in PPAR-gamma is associated with resistance to development of diabetes in the general population: possible involvement in impairment of insulin secretion in individuals with type 2 diabetes. *Diabetes*. 2001;50(4):891-4.
86. Douglas JA, Erdos MR, Watanabe RM, Braun A, Johnston CL, Oeth P, et al. The peroxisome proliferator-activated receptor-gamma2 Pro12A1a variant: association with type 2 diabetes and trait differences. *Diabetes*. 2001;50(4):886-90.
87. Canizales-Quinteros S, Aguilar-Salinas CA, Ortiz-Lopez MG, Rodriguez-Cruz M, Villarreal-Molina MT, Coral-Vazquez R, et al. Association of PPARG2 Pro12Ala variant with larger body mass index in Mestizo and Amerindian populations of Mexico. *Hum Biol*. 2007;79(1):111-9.
88. Kamb A, Gruis NA, Weaver-Feldhaus J, Liu Q, Harshman K, Tavtigian SV, et al. A cell cycle regulator potentially involved in genesis of many tumor types. *Science*. 1994;264(5157):436-40.
89. Pomerantz J, Schreiber-Agus N, Liegeois NJ, Silverman A, Alland L, Chin L, et al. The Ink4a tumor suppressor gene product, p19Arf, interacts with MDM2 and neutralizes MDM2's inhibition of p53. *Cell*. 1998;92(6):713-23.
90. Hannon GJ, Beach D. p15INK4B is a potential effector of TGF-beta-induced cell cycle arrest. *Nature*. 1994;371(6494):257-61.
91. Zheng XL, Yuan SG, Peng DQ. Phenotype-specific inhibition of the vascular smooth muscle cell cycle by high glucose treatment. *Diabetologia*. 2007;50(4):881-90.
92. Hribal ML, Presta I, Procopio T, Marini MA, Stancakova A, Kuusisto J, et al. Glucose tolerance, insulin sensitivity and insulin release in European non-diabetic carriers of a polymorphism upstream of CDKN2A and CDKN2B. *Diabetologia*. 2011;54(4):795-802.
93. Moritani M, Yamasaki S, Kagami M, Suzuki T, Yamaoka T, Sano T, et al. Hypoplasia of endocrine and exocrine pancreas in homozygous transgenic TGF-beta1. *Mol Cell Endocrinol*. 2005;229(1-2):175-84.

94. Rane SG, Dubus P, Mettus RV, Galbreath EJ, Boden G, Reddy EP, et al. Loss of Cdk4 expression causes insulin-deficient diabetes and Cdk4 activation results in beta-islet cell hyperplasia. *Nat Genet.* 1999;22(1):44-52.
95. Tsutsui T, Hesabi B, Moons DS, Pandolfi PP, Hansel KS, Koff A, et al. Targeted disruption of CDK4 delays cell cycle entry with enhanced p27(Kip1) activity. *Mol Cell Biol.* 1999;19(10):7011-9.
96. Grarup N, Rose CS, Andersson EA, Andersen G, Nielsen AL, Albrechtsen A, et al. Studies of association of variants near the HHEX, CDKN2A/B, and IGF2BP2 genes with type 2 diabetes and impaired insulin release in 10,705 Danish subjects: validation and extension of genome-wide association studies. *Diabetes.* 2007;56(12):3105-11.
97. Hertel JK, Johansson S, Raeder H, Midthjell K, Lyssenko V, Groop L, et al. Genetic analysis of recently identified type 2 diabetes loci in 1,638 unselected patients with type 2 diabetes and 1,858 control participants from a Norwegian population-based cohort (the HUNT study). *Diabetologia.* 2008;51(6):971-7.
98. Duesing K, Fatemifar G, Charpentier G, Marre M, Tichet J, Hercberg S, et al. Strong association of common variants in the CDKN2A/CDKN2B region with type 2 diabetes in French Europeans. *Diabetologia.* 2008;51(5):821-6.
99. Tabara Y, Osawa H, Kawamoto R, Onuma H, Shimizu I, Miki T, et al. Replication study of candidate genes associated with type 2 diabetes based on genome-wide screening. *Diabetes.* 2009;58(2):493-8.
100. Wu Y, Li H, Loos RJ, Yu Z, Ye X, Chen L, et al. Common variants in CDKAL1, CDKN2A/B, IGF2BP2, SLC30A8, and HHEX/IDE genes are associated with type 2 diabetes and impaired fasting glucose in a Chinese Han population. *Diabetes.* 2008;57(10):2834-42.
101. Gamboa-Melendez MA, Huerta-Chagoya A, Moreno-Macias H, Vazquez-Cardenas P, Ordonez-Sanchez ML, Rodriguez-Guillen R, et al. Contribution of common genetic variation to the risk of type 2 diabetes in the Mexican Mestizo population. *Diabetes.* 2012;61(12):3314-21.
102. Lara-Riegos JC, Ortiz-Lopez MG, Pena-Espinoza BI, Montufar-Robles I, Pena-Rico MA, Sanchez-Pozos K, et al. Diabetes susceptibility in Mayas: Evidence for the involvement of polymorphisms in HHEX, HNF4alpha, KCNJ11, PPARgamma, CDKN2A/2B, SLC30A8, CDC123/CAMK1D, TCF7L2, ABCA1 and SLC16A11 genes. *Gene.* 2015;565(1):68-75.
103. Scott RA, Lagou V, Welch RP, Wheeler E, Montasser ME, Luan J, et al. Large-scale association analyses identify new loci influencing glycemic traits and provide insight into the underlying biological pathways. *Nat Genet.* 2012;44(9):991-1005.
104. Saxena R, Elbers CC, Guo Y, Peter I, Gaunt TR, Mega JL, et al. Large-scale gene-centric meta-analysis across 39 studies identifies type 2 diabetes loci. *Am J Hum Genet.* 2012;90(3):410-25.
105. Voight BF, Scott LJ, Steinthorsdottir V, Morris AP, Dina C, Welch RP, et al. Twelve type 2 diabetes susceptibility loci identified through large-scale association analysis. *Nat Genet.* 2010;42(7):579-89.
106. Chimienti F, Favier A, Seve M. ZnT-8, a pancreatic beta-cell-specific zinc transporter. *Biometals.* 2005;18(4):313-7.

107. Tamaki M, Fujitani Y, Hara A, Uchida T, Tamura Y, Takeno K, et al. The diabetes-susceptible gene SLC30A8/ZnT8 regulates hepatic insulin clearance. *J Clin Invest.* 2013;123(10):4513-24.
108. Gutierrez-Vidal R, Rodriguez-Trejo A, Canizales-Quinteros S, Herrera-Cornejo M, Granados-Silvestre MA, Montufar-Robles I, et al. LOC387761 polymorphism is associated with type 2 diabetes in the Mexican population. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2011;15(1-2):79-83.
109. DeMenna J, Puppala S, Chittoor G, Schneider J, Kim JY, Shaibi GQ, et al. Association of common genetic variants with diabetes and metabolic syndrome related traits in the Arizona Insulin Resistance registry: a focus on Mexican American families in the Southwest. *Hum Hered.* 2014;78(1):47-58.
110. Replication DIG, Meta-analysis C, Asian Genetic Epidemiology Network Type 2 Diabetes C, South Asian Type 2 Diabetes C, Mexican American Type 2 Diabetes C, Type 2 Diabetes Genetic Exploration by Next-generation sequencing in multi-Ethnic Samples C, et al. Genome-wide trans-ancestry meta-analysis provides insight into the genetic architecture of type 2 diabetes susceptibility. *Nat Genet.* 2014;46(3):234-44.
111. Rutter GA, Chimienti F. SLC30A8 mutations in type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2015;58(1):31-6.
112. Kim I, Kang ES, Yim YS, Ko SJ, Jeong SH, Rim JH, et al. A low-risk ZnT-8 allele (W325) for post-transplantation diabetes mellitus is protective against cyclosporin A-induced impairment of insulin secretion. *Pharmacogenomics J.* 2011;11(3):191-8.
113. Fogarty MP, Cannon ME, Vadlamudi S, Gaulton KJ, Mohlke KL. Identification of a regulatory variant that binds FOXA1 and FOXA2 at the CDC123/CAMK1D type 2 diabetes GWAS locus. *PLoS Genet.* 2014;10(9):e1004633.
114. Zeggini E, Scott LJ, Saxena R, Voight BF, Marchini JL, Hu T, et al. Meta-analysis of genome-wide association data and large-scale replication identifies additional susceptibility loci for type 2 diabetes. *Nat Genet.* 2008;40(5):638-45.
115. Kooner JS, Saleheen D, Sim X, Sehmi J, Zhang W, Frossard P, et al. Genome-wide association study in individuals of South Asian ancestry identifies six new type 2 diabetes susceptibility loci. *Nat Genet.* 2011;43(10):984-9.
116. Ridderstrale M, Groop L. Genetic dissection of type 2 diabetes. *Mol Cell Endocrinol.* 2009;297(1-2):10-7.
117. Clevers H. Wnt/beta-catenin signaling in development and disease. *Cell.* 2006;127(3):469-80.
118. Yi F, Brubaker PL, Jin T. TCF-4 mediates cell type-specific regulation of proglucagon gene expression by beta-catenin and glycogen synthase kinase-3beta. *J Biol Chem.* 2005;280(2):1457-64.
119. Zhou Y, Park SY, Su J, Bailey K, Ottosson-Laakso E, Shcherbina L, et al. TCF7L2 is a master regulator of insulin production and processing. *Hum Mol Genet.* 2014;23(24):6419-31.
120. da Silva Xavier G, Loder MK, McDonald A, Tarasov AI, Carzaniga R, Kronenberger K, et al. TCF7L2 regulates late events in insulin secretion from pancreatic islet beta-cells. *Diabetes.* 2009;58(4):894-905.
121. da Silva Xavier G, Mondragon A, Sun G, Chen L, McGinty JA, French PM, et al. Abnormal glucose tolerance and insulin secretion in pancreas-specific Tcf7l2-null mice. *Diabetologia.* 2012;55(10):2667-76.

122. Cauchi S, El Achhab Y, Choquet H, Dina C, Krempler F, Weitgasser R, et al. TCF7L2 is reproducibly associated with type 2 diabetes in various ethnic groups: a global meta-analysis. *J Mol Med (Berl)*. 2007;85(7):777-82.
123. Florez JC. The genetics of T2D and related traits. Switzerland: Springer; 2016.
124. Parra EJ, Cameron E, Simmonds L, Valladares A, McKeigue P, Shriver M, et al. Association of TCF7L2 polymorphisms with type 2 diabetes in Mexico City. *Clin Genet*. 2007;71(4):359-66.
125. Cruz M, Valladares-Salgado A, Garcia-Mena J, Ross K, Edwards M, Angeles-Martinez J, et al. Candidate gene association study conditioning on individual ancestry in patients with type 2 diabetes and metabolic syndrome from Mexico City. *Diabetes Metab Res Rev*. 2010;26(4):261-70.
126. Duval A, Busson-Leconiat M, Berger R, Hamelin R. Assignment of the TCF-4 gene (TCF7L2) to human chromosome band 10q25.3. *Cytogenet Cell Genet*. 2000;88(3-4):264-5.
127. Schmitz G, Langmann T. Transcriptional regulatory networks in lipid metabolism control ABCA1 expression. *Biochim Biophys Acta*. 2005;1735(1):1-19.
128. Oram JF, Vaughan AM. ATP-Binding cassette cholesterol transporters and cardiovascular disease. *Circ Res*. 2006;99(10):1031-43.
129. Hao M, Head WS, Gunawardana SC, Hasty AH, Piston DW. Direct effect of cholesterol on insulin secretion: a novel mechanism for pancreatic beta-cell dysfunction. *Diabetes*. 2007;56(9):2328-38.
130. Brunham LR, Kruit JK, Pape TD, Timmins JM, Reuwer AQ, Vasanji Z, et al. Beta-cell ABCA1 influences insulin secretion, glucose homeostasis and response to thiazolidinedione treatment. *Nat Med*. 2007;13(3):340-7.
131. Wang J, Burnett JR, Near S, Young K, Zinman B, Hanley AJ, et al. Common and rare ABCA1 variants affecting plasma HDL cholesterol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(8):1983-9.
132. Acuna-Alonzo V, Flores-Dorantes T, Kruit JK, Villarreal-Molina T, Arellano-Campos O, Hunemeier T, et al. A functional ABCA1 gene variant is associated with low HDL-cholesterol levels and shows evidence of positive selection in Native Americans. *Hum Mol Genet*. 2010;19(14):2877-85.
133. Villarreal-Molina MT, Flores-Dorantes MT, Arellano-Campos O, Villalobos-Comparan M, Rodriguez-Cruz M, Miliar-Garcia A, et al. Association of the ATP-binding cassette transporter A1 R230C variant with early-onset type 2 diabetes in a Mexican population. *Diabetes*. 2008;57(2):509-13.
134. Haghvirdizadeh P, Ramachandran V, Etemad A, Heidari F, Ghodsian N, Bin Ismail N, et al. Association of ATP-Binding Cassette Transporter A1 Gene Polymorphisms in Type 2 Diabetes Mellitus among Malaysians. *J Diabetes Res*. 2015;2015:289846.
135. Campbell DD, Parra MV, Duque C, Gallego N, Franco L, Tandon A, et al. Amerind ancestry, socioeconomic status and the genetics of type 2 diabetes in a Colombian population. *PLoS One*. 2012;7(4):e33570.
136. Halestrap AP. The monocarboxylate transporter family--Structure and functional characterization. *IUBMB Life*. 2012;64(1):1-9.

137. Zhao C, Wilson MC, Schuit F, Halestrap AP, Rutter GA. Expression and distribution of lactate/monocarboxylate transporter isoforms in pancreatic islets and the exocrine pancreas. *Diabetes*. 2001;50(2):361-6.
138. Wang D, Wang Q, Yan G, Qiao Y, Sun L, Zhu B, et al. High glucose and interleukin 1beta-induced apoptosis in human umbilical vein endothelial cells involves in down-regulation of monocarboxylate transporter 4. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015;466(4):607-14.
139. Liang D, Zhang Y, Han J, Wang W, Liu Y, Li J, et al. Embryonic stem cell-derived pancreatic endoderm transplant with MCT1-suppressing miR-495 attenuates type II diabetes in mice. *Endocr J*. 2015;62(10):907-20.
140. Science WIo. Gene Cards Human gene database 2016 [Available from: <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=SLC16A11>].
141. Consortium STD, Williams AL, Jacobs SB, Moreno-Macias H, Huerta-Chagoya A, Churchhouse C, et al. Sequence variants in SLC16A11 are a common risk factor for type 2 diabetes in Mexico. *Nature*. 2014;506(7486):97-101.
142. Xu K, Jiang L, Zhang M, Zheng X, Gu Y, Wang Z, et al. Type 2 Diabetes Risk Allele UBE2E2 Is Associated With Decreased Glucose-Stimulated Insulin Release in Elderly Chinese Han Individuals. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(19):e3604.
143. Traurig M, Hanson RL, Marinelarena A, Kobes S, Piaggi P, Cole S, et al. Analysis of SLC16A11 Variants in 12,811 American Indians: Genotype-Obesity Interaction for Type 2 Diabetes and an Association With RNASEK Expression. *Diabetes*. 2016;65(2):510-9.
144. GEM. Estadística Básica Municipal del Estado de México Gobierno del Estado de México. 2011.
145. Moreno-Sánchez EE-M, Jaime. Chimalhuacán en el contexto local, sociourbano y regional. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*. 2013;15; 2013-1:77-99.
146. CONEVAL. Medición de la Pobreza en México: Consejo Nacional de Evaluación de la Política de Desarrollo Social; 2015 [Available from: <http://www.coneval.org.mx/Medicion/Paginas/Pobrezalncio.aspx>].
147. SEDESOL. Informe anual sobre la situación de pobreza y rezago social. 2010.
148. SEDESOL. Informe anual sobre la situación de pobreza y rezago social 2015. Subsecretaría de planeación, evaluación y desarrollo regional. 2015.
149. Alonso Chombo ME. Chimalhuacán Monografía municipal. Toluca, Estado de México 1998.
150. INEGI. Estado de México: Resultados definitivos del XI censo general de población y vivienda. Instituto Nacional de Geografía y Estadística, 1990.
151. Calva JL. Desarrollo regional y urbano, tendencias y alternativas. Mexico, DF: Juan Pablo Editores UNAM/UAG; 1996.
152. Selvin E, Steffes MW, Zhu H, Matsushita K, Wagenknecht L, Pankow J, et al. Glycated hemoglobin, diabetes, and cardiovascular risk in nondiabetic adults. *N Engl J Med*. 2010;362(9):800-11.
153. Frainer DE, Adami F, Vasconcelos Fde A, Assis MA, Calvo MC, Kerpel R. [Standardization and reliability of anthropometric measurements for population surveys]. *Arch Latinoam Nutr*. 2007;57(4):335-42.
154. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*. 1988;16(3):1215.

155. Templeton G. A Two-Step Approach for Transforming Continuous Variables to Normal: Implications and Recommendations for IS Research. *Communications of the Association for Information Systems*. 2011;28.
156. Rosenberg NA, Huang L, Jewett EM, Szpiech ZA, Jankovic I, Boehnke M. Genome-wide association studies in diverse populations. *Nat Rev Genet*. 2010;11(5):356-66.
157. Moreno-Estrada A, Gignoux CR, Fernandez-Lopez JC, Zakharia F, Sikora M, Contreras AV, et al. Human genetics. The genetics of Mexico recapitulates Native American substructure and affects biomedical traits. *Science*. 2014;344(6189):1280-5.
158. Hirschhorn JN, Lohmueller K, Byrne E, Hirschhorn K. A comprehensive review of genetic association studies. *Genet Med*. 2002;4(2):45-61.
159. Pirinen M, Donnelly P, Spencer CC. Including known covariates can reduce power to detect genetic effects in case-control studies. *Nat Genet*. 2012;44(8):848-51.
160. Martinez-Gomez LE, Cruz M, Martinez-Nava GA, Madrid-Marina V, Parra E, Garcia-Mena J, et al. A replication study of the IRS1, CAPN10, TCF7L2, and PPARG gene polymorphisms associated with type 2 diabetes in two different populations of Mexico. *Ann Hum Genet*. 2011;75(5):612-20.
161. Beaufriere B, Morio B. Fat and protein redistribution with aging: metabolic considerations. *Eur J Clin Nutr*. 2000;54 Suppl 3:S48-53.
162. Borkan GA, Hulth DE, Gerzof SG, Robbins AH, Silbert CK. Age changes in body composition revealed by computed tomography. *J Gerontol*. 1983;38(6):673-7.
163. Gallagher D, Visser M, De Meersman RE, Sepulveda D, Baumgartner RN, Pierson RN, et al. Appendicular skeletal muscle mass: effects of age, gender, and ethnicity. *J Appl Physiol* (1985). 1997;83(1):229-39.
164. SEGG. Valoración nutricional en el anciano. *Sociedad Española de Geriatría y Gerontología*. 2007.
165. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 2000;894:i-xii, 1-253.
166. Barzilai N, Huffman DM, Muzumdar RH, Bartke A. The critical role of metabolic pathways in aging. *Diabetes*. 2012;61(6):1315-22.
167. Cree MG, Newcomer BR, Katsanos CS, Sheffield-Moore M, Chinkes D, Aarsland A, et al. Intramuscular and liver triglycerides are increased in the elderly. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(8):3864-71.
168. American Diabetes A. Control riguroso de la diabetes: ADA; 2015 [Available from: <http://www.diabetes.org/es/vivir-con-diabetes/tratamiento-y-cuidado/el-control-de-la-glucosa-en-la-sangre/control-riguroso-de-la-diabetes.html>].
169. Salud Sd. NORMA Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus. *Diario Oficial de la Federación*. 2010.
170. Aguilar-Salinas CA, Velazquez Monroy O, Gomez-Perez FJ, Gonzalez Chavez A, Esqueda AL, Molina Cuevas V, et al. Characteristics of patients with type 2 diabetes in Mexico: Results from a large population-based nationwide survey. *Diabetes Care*. 2003;26(7):2021-6.
171. Garcia-Garcia E, Aguilar-Salinas CA, Tusie-Luna T, Rull-Rodrigo JA. Early-onset type 2 diabetes in Mexico. *Isr Med Assoc J*. 2002;4(6):444-8.
172. Xu HE, Lambert MH, Montana VG, Parks DJ, Blanchard SG, Brown PJ, et al. Molecular recognition of fatty acids by peroxisome proliferator-activated receptors. *Mol Cell*. 1999;3(3):397-403.

173. Gervois P, Fruchart JC, Staels B. Drug Insight: mechanisms of action and therapeutic applications for agonists of peroxisome proliferator-activated receptors. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2007;3(2):145-56.
174. Ye J. Mechanisms of insulin resistance in obesity. *Front Med.* 2013;7(1):14-24.
175. Galbete C, Toledo E, Martinez-Gonzalez MA, Martinez JA, Guillen-Grima F, Marti A. Pro12Ala variant of the PPARG2 gene increases body mass index: An updated meta-analysis encompassing 49,092 subjects. *Obesity (Silver Spring).* 2013;21(7):1486-95.
176. Hsiao TJ, Lin E. The Pro12Ala polymorphism in the peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARG) gene in relation to obesity and metabolic phenotypes in a Taiwanese population. *Endocrine.* 2015;48(3):786-93.
177. Cauchi S, Neale KT, Choquet H, Horber F, Potoczna N, Balkau B, et al. The genetic susceptibility to type 2 diabetes may be modulated by obesity status: implications for association studies. *BMC Med Genet.* 2008;9:45.
178. Qi Q, Hu FB. Genetics of type 2 diabetes in European populations. *J Diabetes.* 2012;4(3):203-12.
179. Kasim NB, Huri HZ, Vethakkan SR, Ibrahim L, Abdullah BM. Genetic polymorphisms associated with overweight and obesity in uncontrolled Type 2 diabetes mellitus. *Biomark Med.* 2016;10(4):403-15.
180. Ghousaini M, Meyre D, Lobbens S, Charpentier G, Clement K, Charles MA, et al. Implication of the Pro12Ala polymorphism of the PPAR-gamma 2 gene in type 2 diabetes and obesity in the French population. *BMC Med Genet.* 2005;6:11.
181. Tong Y, Lin Y, Zhang Y, Yang J, Zhang Y, Liu H, et al. Association between TCF7L2 gene polymorphisms and susceptibility to type 2 diabetes mellitus: a large Human Genome Epidemiology (HuGE) review and meta-analysis. *BMC Med Genet.* 2009;10:15.
182. Saxena R, Gianniny L, Burt NP, Lyssenko V, Giuducci C, Sjogren M, et al. Common single nucleotide polymorphisms in TCF7L2 are reproducibly associated with type 2 diabetes and reduce the insulin response to glucose in nondiabetic individuals. *Diabetes.* 2006;55(10):2890-5.
183. Migliorini A, Lickert H. Beyond association: A functional role for Tcf7l2 in beta-cell development. *Mol Metab.* 2015;4(5):365-6.
184. Svensson PA, Wahlstrand B, Olsson M, Froguel P, Falchi M, Bergman RN, et al. CDKN2B expression and subcutaneous adipose tissue expandability: possible influence of the 9p21 atherosclerosis locus. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014;446(4):1126-31.
185. Omori S, Tanaka Y, Horikoshi M, Takahashi A, Hara K, Hirose H, et al. Replication study for the association of new meta-analysis-derived risk loci with susceptibility to type 2 diabetes in 6,244 Japanese individuals. *Diabetologia.* 2009;52(8):1554-60.
186. Scott LJ, Mohlke KL, Bonnycastle LL, Willer CJ, Li Y, Duren WL, et al. A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants. *Science.* 2007;316(5829):1341-5.
187. Zeggini E, Weedon MN, Lindgren CM, Frayling TM, Elliott KS, Lango H, et al. Replication of genome-wide association signals in UK samples reveals risk loci for type 2 diabetes. *Science.* 2007;316(5829):1336-41.
188. Hansen SK, Nielsen EM, Ek J, Andersen G, Glumer C, Carstensen B, et al. Analysis of separate and combined effects of common variation in KCNJ11 and PPARG on risk of type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90(6):3629-37.

189. Schwanstecher C, Neugebauer B, Schulz M, Schwanstecher M. The common single nucleotide polymorphism E23K in K(IR)6.2 sensitizes pancreatic beta-cell ATP-sensitive potassium channels toward activation through nucleoside diphosphates. *Diabetes*. 2002;51 Suppl 3:S363-7.
190. Schwanstecher C, Schwanstecher M. Nucleotide sensitivity of pancreatic ATP-sensitive potassium channels and type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002;51 Suppl 3:S358-62.
191. Oxombre B, Kouach M, Moerman E, Formstecher P, Laine B. The G115S mutation associated with maturity-onset diabetes of the young impairs hepatocyte nuclear factor 4alpha activities and introduces a PKA phosphorylation site in its DNA-binding domain. *Biochem J*. 2004;383(Pt. 3):573-80.
192. Salem SD, Saif-Ali R, Ismail IS, Al-Hamodi Z, Muniandy S. Contribution of SLC30A8 variants to the risk of type 2 diabetes in a multi-ethnic population: a case control study. *BMC Endocr Disord*. 2014;14:2.
193. Diabetes Genetics Initiative of Broad Institute of H, Mit LU, Novartis Institutes of BioMedical R, Saxena R, Voight BF, Lyssenko V, et al. Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels. *Science*. 2007;316(5829):1331-6.

## 10. ANEXOS.

### ANEXO I

#### MÉTODOS A TRAVÉS DE LOS CUALES SE HAN IDENTIFICADO GENES ASOCIADOS AL DESARROLLO DE DT2.

##### *Gen candidato (Candidate gene approach)*

Se selecciona un gen específico de interés con base en el conocimiento biológico o informático (in vivo o in vitro) que se tenga de éste y su relación con la DT2. La variación en el gen de interés es luego investigada a través de un estudio de asociación genética para buscar la evidencia de que una variante en particular o genotipo está sobre representado en los casos comparado con los controles.

##### *Desventajas*

Se necesita un conocimiento detallado del padecimiento para elegir un gen razonable que pueda ser candidato y dado que la patofisiología de la DT2 es extremadamente compleja, cualquier candidato que se elija tendrá una baja probabilidad de afectar la susceptibilidad a la enfermedad. El diseño del estudio en relación al tamaño de muestra y la caracterización fenotípica de las muestras estudiadas es un segundo gran obstáculo debido a que los tamaños de muestra se han incrementado notoriamente al paso de los años para poder reconocer algún modesto efecto implicado con la enfermedad.

En estas condiciones un análisis de poder estadístico es importante para evaluar las limitaciones del estudio. Valores pequeños de efecto (allelic odd ratios de 1.1 a 1.4) requieren miles de muestras para estar seguros de su validez.

Para poder enfrentar estos problemas de falta de poder estadístico, los meta-análisis y replicaciones a gran escala se han incrementado en gran medida para detectar el efecto de variación genética en el riesgo a padecer DT2.

Sin embargo el meta-análisis tiene también algunos problemas. Uno de ellos es la parcialidad de publicaciones, debido a que por lo general los resultados negativos se tienden a no publicar y por tanto el meta-análisis tiende a sobreestimar la asociación.

Otro problema también resulta ser la heterogeneidad de los datos debido a que provienen de un gran número de variables que pueden afectar los resultados por etnicidad, edad, sexo o cualquier otra variable.

#### Escaneo de ligamiento del genoma completo

El análisis de ligamiento busca evidencia de cosegregación entre marcadores genómicos y status de la enfermedad en familias. Es solamente razonable cuando están fuertemente correlacionados la enfermedad y el genotipo.

No requiere hipótesis previas de las regiones genómicas investigadas. Permiten que el genoma completo sea escaneado en búsqueda de loci de susceptibilidad utilizando un número limitado de marcadores microsatelitales altamente polimórficos y han probado ser muy útiles detectando genes de enfermedades mendelianas monogénicas.

#### Estudios de asociación del genoma completo

Este es el método por el cual muchas variantes de baja penetrancia que se pensaba que estaban involucradas con la DT2 han sido identificadas. Este estudio se basa en chips que contienen de 100,000 a 1,000,000 de SNPs para evaluar la asociación de cada variante con el status caso-control. Este método no requiere de una hipótesis biológica previa para cada variante por lo que no es necesario tener un conocimiento profundo de la enfermedad.

Mediante estos métodos se ha podido avanzar en el campo de la genética y ha permitido progresar en el entendimiento de la base genética de numerosas enfermedades complejas. Algunos de sus retos aún por superar son el análisis de una gran cantidad de datos, validar verdaderos positivos encontrados, e identificar variantes genéticas que causan la enfermedad. A este método se le ha otorgado un nivel de significancia de  $p < 5 \times 10^{-8}$ .

## ANEXO II

### CUESTIONARIO APLICADO A INDIVIDUOS DE LA TERCERA EDAD SIN DT2.



#### “ESTUDIO DE LAS VARIANTES POLIMÓRFICAS DE LOS GENES *HNF4A* Y *SLC30A8* COMO POSIBLES FACTORES DE RIESGO PARA DESARROLLAR DIABETES TIPO 2 EN POBLACIÓN MESTIZA E INDÍGENA MEXICANA”

##### Datos personales:

Nombre: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_ Fecha de Nacimiento: \_\_\_\_\_  
 Género: \_\_\_\_\_ Estado Civil: \_\_\_\_\_ Ocupación: \_\_\_\_\_  
 Escolaridad: \_\_\_\_\_ Lugar de nacimiento: \_\_\_\_\_  
 Origen étnico/Lengua indígena: \_\_\_\_\_ Dirección: \_\_\_\_\_  
 Teléfono (opcional): \_\_\_\_\_ C.P.: \_\_\_\_\_  
 Tiempo viviendo en Chimalhuacán: \_\_\_\_\_ Tiempo asistiendo al club INAPAM: \_\_\_\_\_  
 Nombre de la persona que lo contactó para el proyecto: \_\_\_\_\_

##### + Datos antropométricos:

Peso (kg)	Talla (m)	Cintura (m)	Cadera (m)	IMC	ICC

Tensión arterial: \_\_\_\_\_

Dextroxtis: \_\_\_\_\_

##### Enfermedades:

	Si / No	Fecha de diagnóstico	Tratamiento (en caso de ser farmacológico indicar medicamento y dosis)	Fecha de inicio del tratamiento
Diabetes				
Hipertensión				
<u>Dislipidemia</u>				
Otra (especifique)				

##### Antecedentes heredo-familiares:

¿Tiene o tuvo algún familiar directo con alguna de estas enfermedades?

Pacimientos	Si / No	Abuelos		Mamá Origen:	Papá Origen:	Hermanos (Indicar cuántos del total)	Hijos (Indicar cuántos del total)
		Maternos Origen:	Paternos Origen:				
Diabetes						/	/
Obesidad						/	/
Hipertensión						/	/
<u>Dislipidemia</u>						/	/

##### Hábitos de salud

Fuma:	No / Si	Pzas/día: _____	Días a la semana: _____
Ingiere alcohol:	No / Si	Copas/semana: _____	Días al mes: _____
Realiza ejercicio:	No / Si	Actividad: _____	Duración y frecuencia: _____
Toma refresco:	No / Si	Sabor/Marca: _____	Vasos/día: _____ Días a la semana: _____
Jugos/Fruta fresca:	No / Si	Veces/día: _____	Días a la semana: _____
Café/Té/Atole:	No / Si	Veces/día: _____	Días a la semana: _____
Pan/Tortillas/Pan dulce:	No / Si	Pzas/día: _____	Días a la semana: _____
Huevos/Frijoles/Carne:	No / Si	Raciones/día: _____	Días a la semana: _____
Verduras de hoja verde/Zanahoria/Chayote/Papas:	No / Si	Raciones/día: _____	Días a la semana: _____
Lo que comió ayer representa la dieta que consume habitualmente: Si / No ¿Por qué? _____ _____			

### ANEXO III

## PERMISO DEL COMITÉ DE ÉTICA DEL HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO.



### HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO COMISIONES DE INVESTIGACION, ÉTICA Y BIOSEGURIDAD

Agosto 22, 2007.

DRA. GUADALUPE ORTIZ LÓPEZ  
COORDINADORA DEL LAB. DE  
ENDOCRINOLOGIA MOLECULAR  
P R E S E N T E

Muy apreciable Dra. Ortiz:

Muchas gracias por el envío de su protocolo titulado: "ESTUDIO DE LAS VARIANTES POLIMORFICAS DE LOS GENES HNF4A Y SLC30A8 COMO POSIBLES FACTORES DE RIESGO PARA DESARROLLAR DIABETES TIPO 2 EN POBLACIÓN MESTIZA E INDIGENA MEXICANA"

El cual ha sido evaluado por el Comité de Investigación de este Hospital y tengo el gusto de comunicarle que este ha sido aceptado, por lo que podrá Usted contar con todas las facilidades para su desarrollo. Su protocolo ha quedado registrado en la coordinación de protocolos de investigación del Hospital Juárez bajo el folio:

HJM1402/07.08.22

Sin otro en particular, solo quiero aprovechar la ocasión para deseárselo el mayor de los éxitos en esta empresa.

ATENTAMENTE

Dr. Alejandro Treviño Becerra  
Presidente de la Comisión de Investigación

## ANEXO IV

### CONSENTIMIENTO INFORMADO.



Página 1 de 3



#### "Conformación de una cohorte de pacientes con Diabetes tipo 2 en el municipio de Chimalhuacán: Evaluación Bioquímica, Morfométrica y Molecular"

Nombre del participante: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_

#### Unidades Participantes:

Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química.  
Hospital Juárez de México.  
Unidad de Especialidades Médicas UNEME, Chimalhuacán.  
Sistema para el Desarrollo Integral de la Familia DIF, Chimalhuacán.

#### Propósito y antecedentes

Se solicita su participación en este proyecto de investigación, cuyo objetivo principal es profundizar en el conocimiento de factores genéticos que puedan predisponer al desarrollo de la **Diabetes mellitus**, que es una enfermedad que se caracteriza por un aumento de glucosa en sangre y que repercute en una disminución de la calidad de vida de las personas. En este estudio participan la Dra. Marta Menjivar de la **Facultad de Química de la UNAM**, el **Hospital Juárez de México** y la **Unidad de Especialidades Médicas UNEME**, de Chimalhuacán. Es posible que de su participación en este estudio no obtenga un beneficio directo. Sin embargo la identificación de posibles factores genéticos relacionados con la diabetes podría beneficiar en un futuro a otros pacientes que la padecen y contribuir a un mejor conocimiento y tratamiento de esta enfermedad.

Su participación en el estudio es totalmente voluntaria, y si usted decide no participar recibirá todos los cuidados médicos que usted precise y la relación con el equipo médico que le atiende no va a verse afectada.

Se le pedirá su consentimiento para que con su sangre se hagan 3 cosas:

1. Que acepte que en el ADN de su sangre se estudien los genes especificados en el estudio "Evaluación de marcadores genéticos de riesgo para desarrollar diabetes tipo 2 en población del municipio de Chimalhuacán", que pueden estar involucrados en la enfermedad que usted padece.

2. Es probable que en un futuro se descubran nuevos genes relacionados con la "Diabetes", por ello se le solicita que autorice al investigador a almacenar su muestra para el estudio de otros genes que se puedan descubrir en el futuro. Si usted acepta autorizar este almacenamiento, se eliminarán de la muestra todos los vínculos con su identidad, antes de guardarla, y no será posible llegar a conocer su identidad a partir de ella. Esta muestra sólo se utilizará para estudiar genes importantes implicados en la Diabetes y no se realizarán otros estudios con ella.

3. Usted puede también aceptar que en dicha muestra descodificada se realicen otros estudios genéticos de otras patologías diferentes.

Usted puede aceptar que sólo se estudien en su muestra de sangre los genes expresados en el punto 1.

Usted puede aceptar las propuestas de los puntos 1 y 2.

Usted puede aceptar todas las propuestas.

Usted puede decidir no aceptar ninguna de ellas.

Si usted acepta sólo los estudios genéticos descritos en el punto 1, su muestra se destruirá después de completar la prueba. Si usted acepta que se guarde esa muestra para futuros estudios como se describe

Fecha \_\_\_\_\_  
Iniciales del participante \_\_\_\_\_





**Punto 1.** Yo DOY / No DOY mi consentimiento voluntariamente para que se pueda realizar el estudio genético referente a la "Diabetes" en mi muestra de ADN.

**Punto 2.** Yo DOY / No DOY mi consentimiento voluntariamente para que se guarde mi muestra de ADN, con desvinculación de la identidad. Esto permitirá la realización de nuevas pruebas en el futuro cuando se tengan más conocimientos sobre los genes relacionados con la "Diabetes".

**Punto 3.** Yo DOY / No DOY mi consentimiento voluntariamente para que en mi muestra de ADN desvinculada se puedan realizar futuros estudios en otras enfermedades.

Si deseo participar debo firmar a continuación.

\_\_\_\_\_  
**Nombre del participante**

\_\_\_\_\_  
**Firma del participante**

\_\_\_\_\_  
dd-mmm-aaaa

**Fecha**

Nombre del testigo:	
Firma:	Fecha: _____ dd-mmm-aaaa
Dirección:	Relación con el participante:

Nombre del testigo:	
Firma:	Fecha: _____ dd-mmm-aaaa
Dirección:	Relación con el participante:

\_\_\_\_\_  
**Nombre escrito de la persona que explica el consentimiento**

\_\_\_\_\_  
**Firma de la persona que explica el consentimiento**

\_\_\_\_\_  
dd-mmm-aaaa

**Fecha**

\_\_\_\_\_  
Fecha \_\_\_\_\_  
Iniciales del participante \_\_\_\_\_

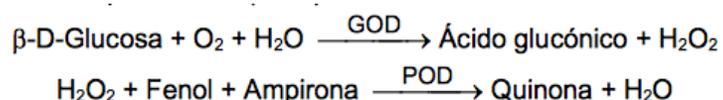


**ANEXO V**  
**DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS EN SANGRE.**

**i. Determinación de glucosa por el método enzimático**

La enzima glucooxidasa (GOD) cataliza la oxidación de glucosa a gluconato y peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). El peróxido de hidrógeno producido se detecta mediante un aceptor cromogénico de oxígeno fenol-ampirona en presencia de peroxidasa (POD).

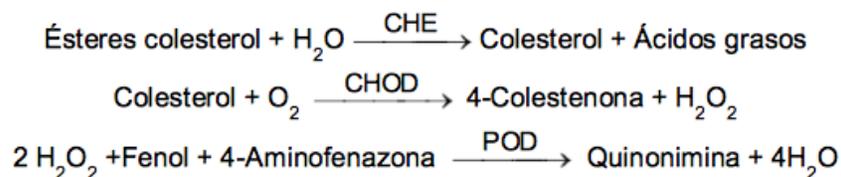
Las reacciones necesarias son:



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra ensayada.

**ii. Determinación de colesterol por el método enzimático**

La enzima colesterol esterasa (CHE) hidroliza los ésteres de colesterol presentes en la muestra dando colesterol libre y ácidos grasos. En una posterior oxidación enzimática mediante la colesterol oxidasa (CHOD) se forma peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y colesteno. El H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> se valora por la reacción Trinder mediante un cromógeno, fenol y 4-aminofenazona, en presencia de peroxidasa (POD) formando una quinonimina cuya coloración roja es proporcional a la concentración de colesterol presente en la muestra:

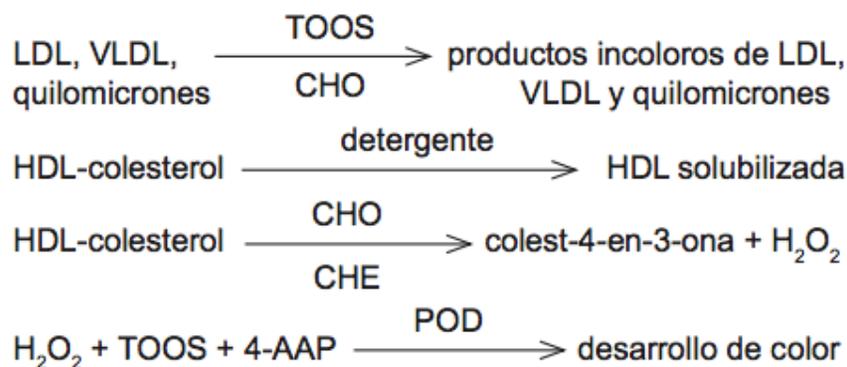


### iii. Determinación de colesterol LDL

El colesterol LDL es obtenido precipitándolo selectivamente mediante el uso de heparina, en una solución con el punto isoeléctrico adecuado, quedando en solución los colesteroles HDL y VLDL. El colesterol LDL precipitado se determina obteniendo el diferencial entre el colesterol total y los colesteroles HDL y VLDL que permanecen en solución por acción de las enzimas colesterol ester hidrolasa y colesterol oxidasa que actúan sobre estos últimos. Así, la reacción se lleva a cabo al igual que la descrita para determinar colesterol total.

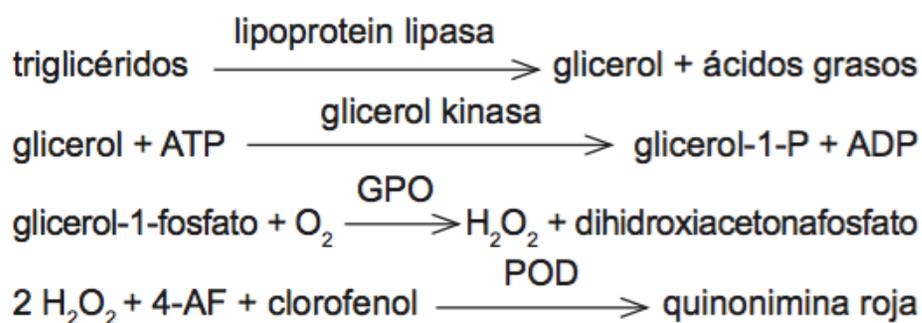
### iv. Determinación de colesterol HDL.

Es una determinación que se realiza en dos etapas. En la primera se solubiliza y consume el colesterol libre o unido a proteínas distintas de la HDL en una reacción que involucra a colesterol oxidasa (CHO) y N-etil-N-(2-hidroxi-3-sul-fopropil)-3-toluidina disódica (TOOS) dando lugar a un producto no coloreado. En una segunda etapa, un detergente solubiliza específicamente las HDL. El HDL-colesterol es liberado para reaccionar con colesterol esterasa (CHE), colesterol oxidasa (CHO) lo cual genera H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> quien a su vez reacciona con TOOS y 4-aminoantipirina (4-AAP) quienes en presencia de peroxidasa (POD) genera un compuesto coloreado.



**v. Determinación de triglicéridos por el método enzimático.**

Los triglicéridos incubados con una lipoproteínlipasa (LPL) son hidrolizados a glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol es fosforilado por una glicerol cinasa generando glicerol-1-fosfato (glicerol-1-P) y ADP. La glicerolfosfato deshidrogenasa (GPO) reacciona con el glicerol-1-fosfato y O<sub>2</sub> para producir dihidroxiacetona fosfato (DAP) y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Éste último reacciona con 4-aminofenazona (4-AF) y clorofenol en presencia de la peroxidasa (POD) dando una coloración roja cuya intensidad es proporcional a la concentración de colesterol presente en la muestra.



## ANEXO VI

### MÉTODO DE EXTRACCIÓN DE ADN POR SALTING OUT (154).

1. Colocar en un tubo de 15 ml, 2.5 ml de sangre (EDTA) agregar 6.25 ml de una solución Sacarosa-tritón 2X frío, llevar a un volumen final de 12.5 ml con agua desionizada estéril, mezclar suavemente por inversión e incubar en hielo por 10 min (mezclar de vez en cuando suavemente).
2. Centrifugar a 2000 rpm durante 15 min a 4 °C.
3. Decantar el sobrenadante y desechar.
4. Lavar el botón con 2 ml de solución de sacarosa 1X (frío).
5. Centrifugar a 2000 rpm por 15 min a 4 °C.
6. Tirar el sobrenadante (con gasa limpiar la boca del tubo), el pellet debe verse color rosado, sino, lavar nuevamente con sacarosa Tritón 1X.
7. Agregar 0.8 ml de buffer de lisis nuclear al pellet y re-suspender con pipeta pasteur.
8. Agregar 55 µl de dodecil sulfato de sodio (SDS) al 10% y mezclar suavemente.
9. Agregar 25 µl de proteinasa K (5 mg/ml) e incubar a 37 °C con agitación suave toda la noche.

Pasada la incubación:

10. Agregar 600 µl de cloruro de sodio saturado y agitar vigorosamente.
11. Centrifugar a 2000 rpm por 15 min a 4 °C.
12. Transferir el sobrenadante a otro tubo cónico estéril.

13. Agregar 2 volúmenes de etanol al 100% frío.
14. Mezclar suavemente por inversión y sacar el DNA con una pipeta Pasteur sellada de la punta.
15. Lavar el DNA con etanol al 70% dentro de un tubo eppendorf.
16. Dejar secar y depositar en 200  $\mu$ l de buffer TE dejando la pipeta en el tubo eppendorf por 20 min a 37 °C.
17. Cuantificar DNA (lectura de 280/260 entre 1.7-2.0) Asimismo, se realizó una dilución de cada uno de los DNA (20 ng/ $\mu$ L) que se mantuvo a -20 °C hasta que se realizó la genotipificación.

## ANEXO VII

### FUNDAMENTO DE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR).

Cada ciclo de amplificación está formado por 4 etapas principales:

Tabla 16. Proceso realizado por el equipo ViiA™ 7 Real-Time PCR System.

Paso	SNP prediseñados		
	Temp.	Duración	Ciclos
Activación de la enzima AmpliTaq Gold® , UP	95°C	10 minutos	
Desnaturalización	95°C	15 segundos	40
Reconocimiento/ Extensión	60°C	1 minuto	

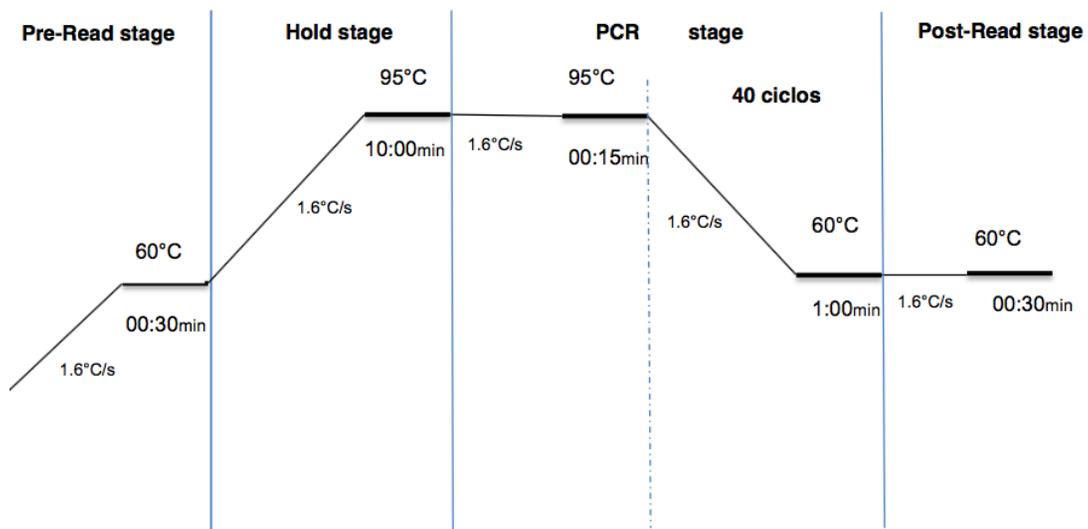


Fig. 15. Condiciones de PCR para los SNPs de HHEX, HNF4 $\alpha$ , CDKN2A/2B, SLC30A8, CDC123/CAMK1D, TCF7L2, ABCA1, SLC16A11 y AIM's.

## ANEXO VIII

### SONDAS TAQMAN UTILIZADAS EN ESTE ESTUDIO.

Tabla 17. Sondas Taqman utilizadas para genotipificación de los SNP's de riesgo a DT2.

Gen	Cromosoma	SNP	No. catálogo Applied Biosystems	Cambio de aminoácido	Secuencia [VIC/FAM]
HHEX	10q	rs1111875	C_11214581_10	Región intrónica	GACCTGAGTGCAGGTTTCAGACGTC[C/T] AGAGGAAATGACTTGATGGTACGGA
HNF4A	20q	rs1800961	C_7591528_10	Thr130Ile T130I	CAGAATGAGCGGGACCGGATCAGCA[C/T] TCGAAGGTCAAGCTATGAGGACAGC
ABCA1	9q	rs9282541	C_11720861_10	Arg230Cys R230C	GGCTTCAGGATGTCCATGTTGGAAC[A/G] AAGTACTCGCTCTGCTGCAGCCAGT
KCNJ11	11p	rs5219	C_11654065_10	Glu23Lys E23K	CGCTGGCGGGCACGGTACCTGGGCT[C/T] GGCAGGGTCTCTGCCAGGCGTGT
PPAR $\gamma$	3p25	rs1801282	C_1129864_10	Pro12Ala P12A	AACTCTGGGAGATTCTCCTATTGAC[C/G] CAGAAAGCGATTCTTCACTGATAC
CDKN2A/C DKN2B	9p21	rs10811661	C_31288917	Región intergénica	CAGCTCACCTCCAGCTTTAGTTTTTC[C/T] CATGACAGTAAGTCTATTACCCTCC
SLC30A8	8q24	rs13266634	C_35788_10	Región intrónica	TGCTTCTTTATCAACAGCAGCCAGC[C/T] GGGACAGCCAAGTGGTTCGGAGAGA
CDC123/CAMK1D	10p13	rs12779790	C_26360618_10	Región intergénica	CCCGGACAATGTTGGGAATTTTTTC[A/G] TATTTCTTGGCCATTTATATATCTT
TCF7L2	10q25	rs7903146	29347801_10		TAGAGAGCTAAGCACTTTTTTAGATA[C/T] TATATAATTTAATTGCCGTATGAGG
SLC16A11		rs13342692	C_25760519_10	Asp127Gly D127G	CAGGCCGAGGTAGAGATGCAGCAGA[C/T] CGCTGGCGAAAGCCGAGAAGACGA

ABCA1, cassette transportador de unión a ATP tipo A1; PPAR $\gamma$ , receptor activado por proliferador de peroxisoma gamma; HNF4 $\alpha$ , factor nuclear del hepatocito 4 $\alpha$ ; CDKN2A, inhibidor de cinasas dependiente de ciclina 2A/B; SLC30A8, transportador de solutos integrante de la familia 30 miembro 8; TCF7L2, factor 7 de células T similar al 2; KCNJ11, canal de potasio, subfamilia J, miembro 11; HHEX, gen homeótico hematopoiéticamente expresado; SLC16A11, transportador de solutos familia 16 miembro 11; CDC123, proteína de división del ciclo celular 123; CAMK1D, proteína cinasa 1D dependiente de calcio/calmodulina.

## ANEXO IX

### FUNDAMENTO DE LA TÉCNICA DE GENOTIPIFICACIÓN CON SONIDAS TAQMAN A TRAVÉS DE PCR EN TIEMPO REAL.

#### *Equipo*

ViiA™ 7 Real-Time PCR System Applied Biosystems

#### *Reactivos*

- DNA genómico (muestra)
- Master Mix (Contenido: AmpliTaq Gold® DNA Polymerase UP (Ultra Pure), dNTPs (sin dUTP), mezcla de componentes optimizada, solución amortiguadora.
- Sonda Taqman validada específica para cada gen (Anexo VIII)

#### *Fundamento*

El fundamento de la genotipificación se puede resumir en tres etapas (Fig. 16):

- 1.- La Sonda Taqman hibridiza al genoma en la secuencia objetivo que se encuentra entre dos primers no etiquetados. La señal de una tinta fluorescente en el extremo 5' de la sonda TaqMan está inactivada por un ligando no fluorescente (Non fluorescent quencher, NFQ) unido al extremo 3'. Esta inactivación se lleva a cabo a través de un fluorescence resonance energy transfer (FRET).
- 2.- Durante la Reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la Taq polimerasa extiende los primers no etiquetados usando la hebra de ADN de la muestra como plantilla.
- 3.- Cuando la polimerasa llega al lugar donde se encuentra unida la sonda Taqman escinde la molécula separando la tinta fluorescente del inactivador. El instrumento de qPCR detecta la fluorescencia de las moléculas fluorescentes VIC® y FAM®.

Con cada ciclo del PCR, más moléculas de tinta fluorescente son liberadas generando un incremento de intensidad proporcional a la cantidad de

amplicones sintetizados de manera que el equipo puede discriminar entre alelos con el fluoróforo VIC, FAM o una mezcla de ellos (Fig. 17).

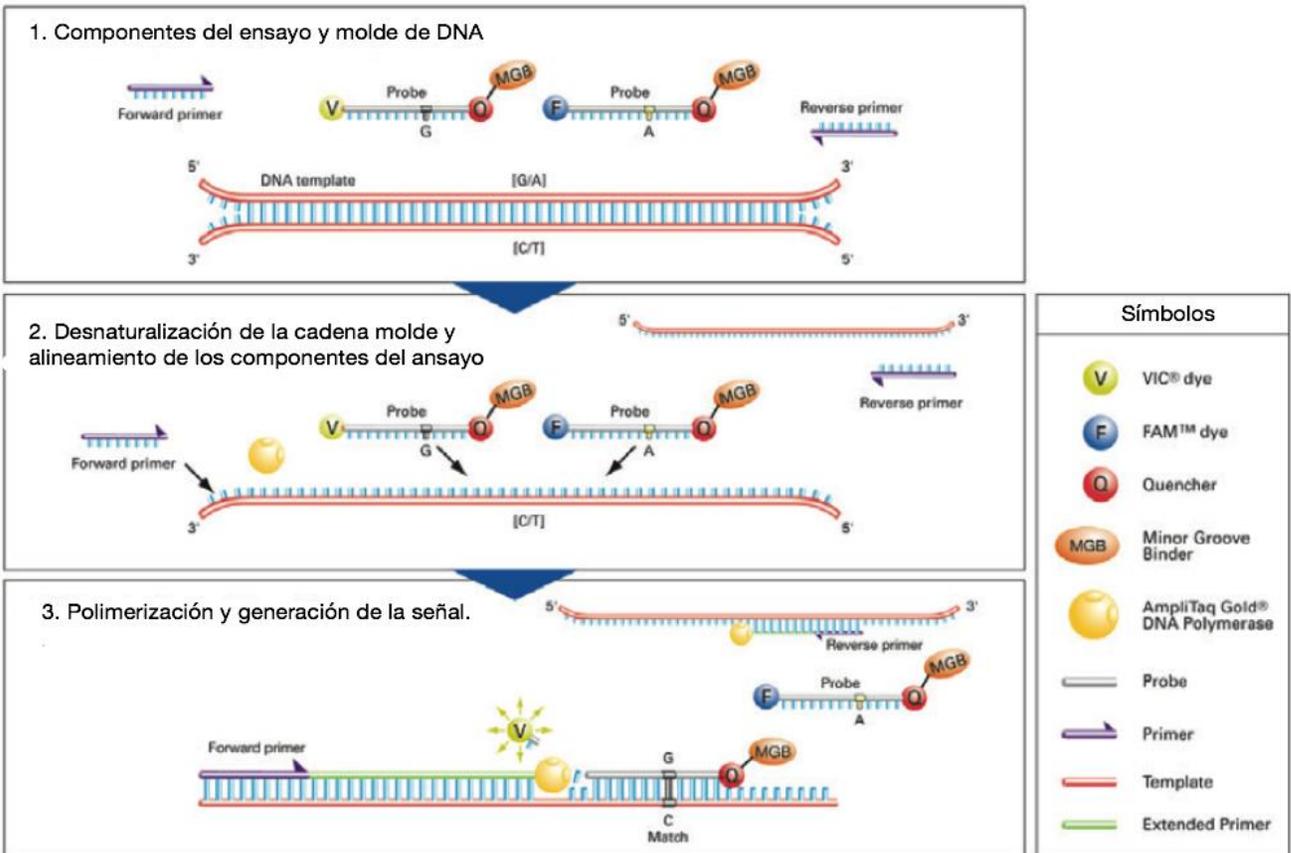


Fig. 16. Fundamento del ensayo de genotipificación de SNP con sondas TaqMan®.

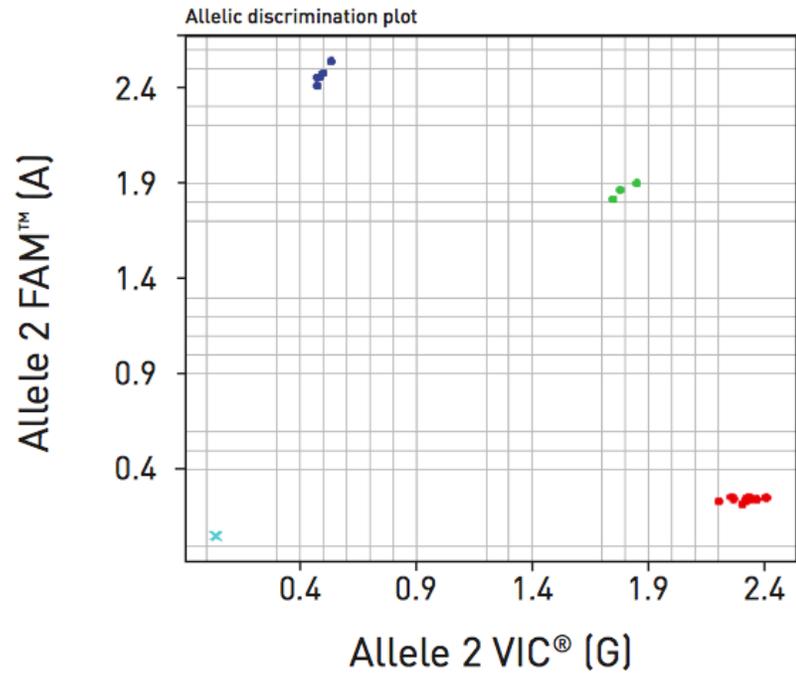


Fig. 17. Diagrama de discriminación alélica con tres grupos generados por medio de un ensayo de genotipificación de SNP con sondas TaqMan®.

## ANEXO X

### GENES UTILIZADOS COMO MARCADORES DE ANCESTRÍA.

Tabla 18. Sondas Taqman utilizadas para genotipificación de los SNP's para determinación de ancestría (AIM's).

Gen	Cromosoma	SNP	No. catálogo Applied Biosystems	Cambio de aminoácido	Secuencia [VIC/FAM]
CKM	Chr.19:4	rs4884	C__958443_10	I373I	ACTTCTGGGCGGGGATCATGTCGTC[A/G] ATGGACTGGCCTTTCTCCAATTCT
WI-11909	Chr.9:8	rs2695	C__678525_10	Intergénica	TCCTCCTCTGAGATTTTCTGAATAG[C/T] CTTGACCACCCAACACAAATAGCCA
WI-14319	Chr.15:3	rs2862	C__1357573_1_	Intergénica	TAGCAATTCAAGGCACAAAGCTAAG[C/T] ACATGCAACAATATAGATGATTTGG
WI-17163	Chr.5:1	rs3340	C__1992472_10	Intrónica	GTTTACAGAATCTTGCTTTTGCCTT[C/T] AACGTTATTGTTATTTTACAAAGAA
TSC0745571	Chr.17:5	rs203096	C__2303227_20	Intrónica	AGGCTCTATACATGAGCAGATCATT[G/T] TAGGAAATTTAGTAAATTGCTGCC
Rs223830	Chr.16:5	rs223830	C__2392389_10	Intergénica	GGTGGATCCAGGACTGGCAACAAAA[C/T] GCAGGATTCAGAATCCAAGTATTCA
DRD2-Taq	Chr.11:1	rs1800498	C__2601166_10	Intrónica	AGGAGTGGCCCCAGGTTCCCTAGTC[A/G] AACCCAAGGCTCTTTTCTTCACACC
Intergénico	Chr.2: 4	rs2814778	C__603808_10	Intrónica	ACACAGCCACCGTCATTCATTTACA[C/G] AAGTTCATGCTGCTTTTGGGCTACA
WI-11153		rs17203			
TSC0050288	Chr.21:1	rs722098	C__2349786_10	Intergénica	TGTTGACAGTAATGAAATATCCTTG[A/G] TAAGGATTTAAATTTGGATGTGCT

**ANEXO XI**  
**CARACTERÍSTICAS DE LOS MARCADORES INFORMATIVOS DE ANCESTRÍA**  
**UTILIZADOS.**

Tabla 19. Características de los AIM's utilizados.

Gen	dbSNP rs	Ubicación	Frecuencias alélicas			$\Delta$ (Eur/NA)	$\Delta$ (Afr/NA)
			Europeos	Nativos americanos	Africanos		
CKM	rs4884	19q13.32	0.29	0.86	0.15	0.57	0.71
WI-11909	rs2695	9q21.31	0.86	0.22	0.81	0.64	0.59
WI-14319	rs2862	15Q14	0.17	0.69	0.38	0.51	0.30
WI-17163	rs3340	5q33.2	0.19	0.65	0.06	0.47	0.59
TSC0745571	rs203096	17q21.33	0.72	0.28	0.65	0.44	0.37
Rs223830	rs223830	16q13	0.19	0.64	0.03	0.45	0.62
DRD2-Taq	rs1800498	11q23.1	0.65	0.09	0.14	0.56	0.05
Intergénico	rs2814778	10q11.2	0.993	0.99	0.002	0.00	0.99
WI-11153	rs17203	3p12.3	0.15	0.76	0.81	0.61	0.05
TSC0050288	rs722098	21q21.1	0.18	0.72	0.9	0.54	0.19

## ANEXO XII

### NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-015-SSA2-2010 PARA LA PREVENCIÓN, TRATAMIENTO Y CONTROL DE LA DIABETES MELLITUS.

Las metas básicas del tratamiento y criterios para evaluar el grado de control del paciente a continuación se enumeran:

Tabla 20. Metas del tratamiento para un individuo con DT2 controlado.

Rasgo	Valor
Glucemia en ayuno (mg/dl)	70 -130
Glucemia postprandial de 2 h (mg/dl)	<140
HbA1c (%)*	<7
Colesterol total (mg/dl)	<200
Colesterol LDL (mg/dl)	<100
Triglicéridos en ayuno (mg/dl)	<150
Colesterol HDL (mg/dl) hombres	>40
Colesterol HDL (md/dl) mujeres	>50
Microalbuminuria (mg/día)	<30
Presión arterial (mm de Hg)	<130/80
IMC	<24.9
Circunferencia abdominal (cm) hombres	<90
Circunferencia abdominal (cm) mujeres	<80

\*En los casos en que sea posible efectuar esta prueba. Hb1Ac, hemoglobina glicosilada; LDL, lipoproteínas de baja densidad; HDL, liporoteínas de alta densidad; IMC, índice de masa corporal.