

Universidad de Costa Rica
Facultad de Microbiología



Trabajo final de graduación para optar por el grado de
Licenciatura en Microbiología y Química Clínica

**AVANCES EN EL DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE DIABETES MELLITUS
TIPO 2 Y SU POSIBLE APLICACIÓN EN COSTA RICA**

Alumna: Adriana Salas Quesada
Carné 943216

Sede Universitaria Rodrigo Facio
Junio 2007

DEDICATORIA

En primer lugar a Dios, ya que sin Él nada es posible. A mis padres Lidiette Quesada y Vicente Salas. A mis hermanas Carol y Wendy Salas Quesada y mis amigos quienes siempre me motivaron a seguir adelante.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Ileana Holst, al Dr. Manuel Jiménez y al Dr. Max Ruiz por sus atinadas correcciones que fueron de gran ayuda para realizar el presente trabajo. A todos aquellos profesores quienes me supieron estimular y me brindaron sinceramente su confianza.



UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
VICERRECTORÍA DE DOCENCIA

FACULTAD DE MICROBIOLOGÍA
CIUDAD UNIVERSITARIA RODRIGO FACIO

Acta de presentación de Requisito Final de Graduación

Sesión del Tribunal Examinador celebrada el Lunes 25 de junio del año 2007 con el objeto de recibir el informe oral de los estudiantes **ADRIANA SALAS QUESADA** carné 943216, quien se acoge al Reglamento de Trabajos Finales de Graduación bajo la modalidad de **PRACTICA DE GRADUACIÓN**, para optar por el grado académico de **LICENCIADA EN MICROBIOLOGÍA Y QUÍMICA CLÍNICA** y el título profesional de **DOCTORA EN MICROBIOLOGÍA Y QUÍMICA CLÍNICA**.

Están presentes los siguientes miembros del tribunal:

Dra. Eugenia Quintana **PRESIDENTA**
Dra. Ileana Holst
Dr. Manuel Jiménez
Dr. Max Ruiz
Dra. Melissa Carazo

ARTICULO 1

La presidenta informa que el expediente de **ADRIANA SALAS QUESADA**, contiene todos los documentos de rigor, incluyendo el recibo de pago de los derechos de graduación. Declara que la postulante cumplió con todos los demás requisitos del plan de estudios correspondientes, y por lo tanto, se solicita que proceda a hacer la exposición.

ARTICULO 2

La postulante ADRIANA SALAS QUESADA, hacen la exposición oral de su trabajo de graduación título "Avances en el diagnóstico molecular de diabetes Mellitus 2 y su posible aplicación en Costa Rica". "

ARTICULO 3

Terminada la disertación, los miembros del Tribunal Examinador interrogan a la Postulante durante el tiempo reglamentario y, una vez concluido el interrogatorio, el Tribunal se retira a deliberar.

ARTICULO 4

El tribunal considera el trabajo final de graduación satisfactorio y le confiere la calificación de: 9.0 (nueve)

ARTICULO 5

La presidenta del Tribunal comunica a la Postulante el resultado de la deliberación y la declara acreedora al grado de Licenciada en Microbiología y Química Clínica y al título profesional de Doctora en Microbiología y Química Clínica.

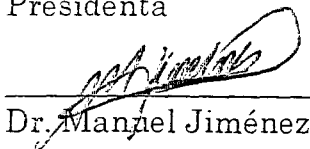
Se le indica la obligación de presentarse al acto público de juramentación al que será oportunamente convocada. Se da lectura al acta que firman los Miembros del Tribunal Examinador y a las Postulantes, a las 10:05 am horas.



Dra. Eugenia Quintana
Presidenta



Dra. Ileana Holst



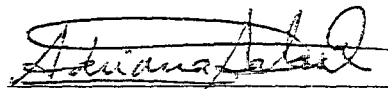
Dr. Manuel Jiménez



Dr. Max Ruiz



Dra. Melissa Carazo



Adriana Salas Quesada
Postulante

INDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
ACTA DE APROBACIÓN	iv
INDICE GENERAL	vi
ABREVIATURAS	vii
RESUMEN	viii
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	9
OBJETIVOS	11
METODOLOGÍA	11
CAPÍTULO I: Mutaciones más importantes asociadas con diabetes mellitus tipo 2	12
A) Asociadas con la obesidad	12
B) Asociadas con resistencia a la insulina	19
C) Asociadas con el Síndrome Metabólico	39
D) Asociadas con resistencia a la insulina indirectamente	40
CAPÍTULO II: Ventajas e inconvenientes del diagnóstico de la diabetes mellitus tipo 2 en Costa Rica	41
CAPÍTULO III: Factibilidad del diagnóstico molecular de la diabetes mellitus tipo 2 en centros de investigación en Costa Rica	44
CAPÍTULO IV: Conclusiones	45
BIBLIOGRAFÍA	48

ABREVIATURAS

Ácido desoxiribonucleico	ADN
AMP cíclico	AMPC
Asociación Americana de Diabetes	ADA
Adenosina trifosfato	ATP
Caja Costarricense de Seguro Social	CCSS
Centro de Investigación en Hematología y Trastornos Afines	CIHATA
Complejo de histocompatibilidad	HLA
Diabetes de comportamiento del adulto	MODY
Diabetes mellitus tipo 2	DM2
Diabetes mellitus gestacional	DMG
Inmunoensayo enzimático	ELISA
Factor nuclear de los hepatocitos	HNF
Factor promotor 1 del gen de la insulina	IPF1
Food and Agricultural Organization	FAO
Glucoquinasa	GK
Hemoglobina glicosilada	HbA1c
Hormona del crecimiento	GH
Hormona estimulante de la melanocortina	MSH
Hormona estimulante de los melanocitos	MCR
Hormona liberadora de la hormona de crecimiento del hipotálamo	GHRH
Índice de cintura/cadera	ICC
Índice de masa corporal	IMC
Instituto de Investigaciones en Salud	INISA
Lipoproteína de alta densidad	HDL
Lipoproteín lipasa	LPL
Diabetes no insulina dependiente	NIDDM
Organización Mundial de la Salud	OMS
Polimorfismo de un solo nucleotido	SNP
Procolágeno	PGC
Reacción en cadena de la polimerasa	PCR
Receptor de la hormona del crecimiento	GHSR
Sistema nervioso simpático	SNS
Tejido adiposo marrón	TAM
Transportador de glucosa	GLUT
Proteína desacoplante	UCP
Wingless	Wnt

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo es realizar una revisión exhaustiva sobre los últimos avances del diagnóstico molecular de la diabetes mellitus tipo 2 y su posible aplicación en Costa Rica. De las mutaciones asociadas con predisposición a la obesidad, las más importantes afectan los genes *db*, *Beta3AR* y los genes *UCP2* y *3*. Además otras mutaciones causantes de resistencia a la insulina unas asociadas con la diabetes tipo MODY fueron vistas en el gen *HNF 4 alfa* y otras en el factor 1 promotor de insulina. En otras mutaciones donde también se observa resistencia a la insulina y se trata de dos variantes del gen *CAPN 10*. De la literatura destacan las mutaciones en los transportadores de glucosa que predisponen la resistencia a la insulina, principalmente el gen *GLUT 4*. En una cuarta categoría están las mutaciones que producen resistencia a la insulina indirectamente y hay estudios realizados sobre el gen del receptor del proglucagón. En conclusión es factible el diagnóstico preventivo de la diabetes mellitus en los diferentes centros de investigación en Costa Rica, estudiando las mutaciones a nivel de los grupos étnicos más afines con la población costarricense, una vez reducidos realmente los costos. Debe valorarse el hecho de que actualmente en nuestro país no se ha realizado ninguna investigación a nivel molecular con respecto a la diabetes mellitus tipo 2 y con la información recopilada en esta revisión bibliográfica se tiene una base para dar inicio a las primeras investigaciones en nuestra población.

INTRODUCCION

La **Diabetes Mellitus** se define como un síndrome caracterizado por hiperglicemia crónica producto de un defecto en la secreción de insulina, en su acción o ambos. Puede suceder que el receptor celular tenga problemas para traducir la señal y no se permita la entrada de glucosa a la célula. También puede suceder que, sobre la superficie celular exista una baja cantidad de receptores celulares (1).

Con respecto a la patogénesis no se conoce con exactitud qué es lo que produce la patología. Se ha planteado que se debe a un factor hereditario; pues tiene un alto contenido genético y hay gran cantidad de mutaciones que afectan los genes relacionados con el funcionamiento de la insulina, causando una producción defectuosa de la insulina o receptores de insulina alterados los cuales no unen la molécula o que no traducen la señal por causa de esas mutaciones. También hay cuadros de autoinmunidad, donde se producen receptores que no son reconocidos como propios y el organismo los ataca, generándose anticuerpos contra la insulina o los Islotes de Langerhans (2).

El páncreas está constituido por los islotes de Langerhans, en donde se encuentran varios tipos celulares. Las células beta se encargan de secretar insulina, una hormona hipoglicemiante. Las células alfa secretan el glucagón, una hormona cuya función es hiperglicemiante. Y por último las células delta productoras de somatostatina, que inhibe la secreción de las hormonas anteriores (3).

La insulina es una hormona anabolizante, interviene en el metabolismo de las proteínas, estimula la producción de lípidos y carbohidratos. Cuando la insulina no actúa o es insuficiente, se altera la síntesis proteica, ocurre lipólisis y por consiguiente acidosis metabólica. Además, por la alteración que aparece en el metabolismo de las proteínas, se corre el riesgo de padecer aterosclerosis (4,5).

Debido al inadecuado funcionamiento o secreción de insulina, se eleva la glicemia y se glicosilan proteínas a todo nivel con graves efectos para el ser humano:

A nivel ocular se observa hipoxia dada la deficiente liberación del oxígeno por la hemoglobina glicosilada, causando ruptura de la pared vascular, con la consecuente formación de microhemorragias y cicatrización. A lo largo de los años deja ceguera. Las alteraciones visuales, a veces incluso la ceguera total, son una de las consecuencias más terribles de la diabetes de larga

evolución (3). La visión borrosa puede desarrollarse de forma aguda debido al aumento de la hiperglicemia (5).

A nivel renal la detección de microalbuminuria nos proporciona una posibilidad única de evitar la progresión de daño a este nivel ya que es una señal clínica temprana de nefropatía diabética. Casi el 50% de los diabéticos tipo 2 desarrollarán microalbuminuria durante los primeros 10 años posteriores al diagnóstico de su enfermedad, y un 20 al 40% de ellos progresarán a nefropatía y enfermedad renal terminal. Además, los factores de riesgo que contribuyen a la progresión de la enfermedad renal son la hiperglucemia, la hipertensión y el tabaquismo (6).

La nefropatía rara vez aparece antes de la edad de 25 años y es independiente del tipo de diabetes, pero la posibilidad de padecerla aumenta con la antigüedad de la enfermedad. En general están asociadas a otras microangiopatías, en especial la retinopatía. La infección urinaria es cuatro veces más frecuente en el diabético que en el no diabético de igual edad. Cuando se obstruye el árbol urinario se produce papilitis necrosante, pero no es específica de la diabetes. En la mayoría de los casos es una lesión aguda de evolución rápida y mortal (5). La principal complicación de la diabetes es la patología vascular, la cual produce lesiones en las arteriolas y en los vasos capilares en órganos y tejidos como el ojo (retinopatía) y el riñón (5,6).

A nivel nervioso las proteínas glicosiladas se acumulan en la lámina basal de los axones de nervios periféricos produciendo parestesia (dedos adormecidos). El paciente se golpea sin notarlo y se le forman úlceras que se infectan fácilmente y esto puede llevar a amputaciones. Los nervios periféricos van a los brazos, manos, piernas y pies. Cuando estos nervios están dañados, los brazos, manos, piernas o pies se sienten dormidos. Además, es posible que deje de sentir dolor, calor o frío cuando debiera sentirlo. Puede sentir dolor que se dispara o tener ardor o cosquilleo que se siente como "alfilerillos" (7).

La neuropatía produce disminución de la sensibilidad, algias localizadas, compresión de las masas musculares, astenia y disminución de la fuerza muscular. Es útil que el paciente diabético mantenga un adecuado control de sus niveles normales de glucosa en sangre. En la mayoría de los casos el paciente requiere un aumento en la dosis de insulina. La triopatía es un síndrome integrado por retinopatía, nefropatía y neuropatía que aparece en diabéticos graves, en general insulino dependientes entre 20 y 50 años (5,8).

A nivel de los grandes vasos la muerte debido a cardiopatías es prácticamente dos veces más frecuente en diabéticos que entre aquellas personas que se encuentran bien de salud. El infarto de miocardio produce hiperglicemia y aumenta el requerimiento de insulina, lo cual hace que los enfermos tratados con hipoglicemiantes orales requieran dosis de insulina. Si el paciente está bien tratado, rara vez llega a presentarse la acidosis (5). Las lesiones se denominan macroangiopatías y se caracterizan por la formación de placas de ateroma, con crecimiento progresivo, lo cual va cerrando la luz del vaso, el endotelio se pierde y se sustituye por tejido graso, calcificado, y eventualmente el organismo lo reconocerá como no propio, activándose la coagulación y formándose un coágulo causante de los infartos al miocardio o accidentes vasculares periféricos como la gangrena. Como consecuencia en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2, la hipertensión aumenta el riesgo de aterosclerosis, si no se trata a tiempo de forma agresiva (5).

Fisiopatología

La Diabetes Mellitus se origina por deficiencia relativa o absoluta de la secreción de insulina por parte de las células beta. La deficiencia de dicha hormona, a su vez, disminuye la utilización de la glucosa, los aminoácidos y de ácidos grasos por los tejidos. La glucosa obtenida a partir de la dieta o por gluconeogénesis hepática, se acumula en la circulación y se produce la hiperglicemia. Conforme aumentan la concentración plasmática de la glucosa, se excede la capacidad de las células de los tubos renales para metabolizarla a partir del ultrafiltrado glomerular lo que ocasiona glucosuria (1,2).

La glucosuria crea una diuresis osmótica y produce poliuria. La polidipsia ayuda a evitar la deshidratación. La menor utilización de la glucosa ingerida por parte de los tejidos periféricos origina la pérdida de peso en el paciente a medida que su organismo intenta compensar la "inanición". La interacción del "centro de saciedad" en la región ventromedial del hipotálamo con el centro de alimentación en la región lateral de dicha estructura controla la cantidad de alimentos ingeridos (3).

El centro de la alimentación, al desencadenar el consumo de los alimentos, funciona de manera crónica, pero puede ser inhibido de manera transitoria por el centro de la saciedad luego de ingerir los alimentos. En el diabético, la falta absoluta o relativa de insulina obstaculiza la absorción de la glucosa, la cual permanece en sangre, haciendo que no se estimule el centro de la saciedad. De este modo, estos individuos presentan polifagia a pesar de la hiperglicemia. Por tanto, los cuatro signos clásicos de la Diabetes Mellitus son poliuria, polidipsia, polifagia y pérdida de peso. Cuando se

presenta la diabetes, la sangre tiene un elevado nivel de glicemia, pero ese azúcar no puede entrar en la célula, por acción de la insulina, entonces el centro de saciedad no recibe la información para detener la ingesta de alimentos. Es por ese mecanismo que los pacientes diabéticos muestran un abundante apetito, pero cuando la diabetes esta bien controlada esa sensación de hambre desaparece (9).

CLASIFICACIÓN

Diabetes Mellitus tipo 1 (DM 1)

La Diabetes Mellitus tipo 1 se caracteriza por la destrucción de células beta y usualmente conduce a una deficiencia absoluta de insulina.

a. Mediada por anticuerpos.

Hay una rápida destrucción de las células beta en el caso de los niños y de los adultos también. Se puede detectar la presencia de autoanticuerpos en el 85-90% de los pacientes en los cuales se detecta la hiperglicemia por primera vez (3). Se pueden detectar anticuerpos contra los Islotes de Langerhans, contra la insulina, contra la descarboxilasa del ácido glutámico o contra la tirosina fosfatasa. (1). Hay predisposición genética debido a que existen ciertos haplotipos del complejo de histocompatibilidad (HLA) que están fuertemente ligados al padecimiento de la enfermedad. Además se tiene el caso de algunos haplotipos como el DR, e igualmente DQA y DQB los cuales también predisponen a este tipo de diabetes (3 - 7).

b. Idiopática (de origen desconocido)

Son pocos los pacientes incluidos en esta categoría. No hay evidencia de autoinmunidad. La cetoacidosis es episódica y el grado de deficiencia de insulina varía entre cada episodio. De base hereditaria principalmente en etnias africanas y asiáticas (4).

Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2)

Surge como resultado de la resistencia a la insulina y debido a un defecto en su secreción, variando el predominio de uno u otro. Los que presentan una alta resistencia son quienes presenten concentraciones altas de insulina, e inclusive normales en aquellos casos donde el problema ocurre a nivel de receptor. Por lo menos al inicio estos pacientes no necesitan de la insulina para sobrevivir. Muchos pacientes son obesos, con predominio de grasa en la región abdominal. La obesidad *per se* produce resistencia a la insulina. Muchos pacientes se controlan con dieta y ejercicio, otros necesitan hipoglicemiantes y otros requieren insulina para el control de la hiperglicemia (3-5).

La cetoacidosis no es espontánea, generalmente se asocia a infecciones o algún estrés. En la Diabetes Mellitus tipo 2, la deficiencia de insulina puede causar una liberación descontrolada de los ácidos grasos de las células adiposas, lo que promueve su aumento en plasma (3,4).

Esta forma de diabetes se mantiene subclínica por años, lo cual favorece el desarrollo de las complicaciones crónicas, como la ceguera por ejemplo. Por esta razón es muy importante establecer un diagnóstico temprano por estar la diabetes asociada también a predisposición genética. Es frecuente además en mujeres con antecedentes de Diabetes Mellitus gestacional (4).

Diabetes Mellitus gestacional (DMG)

Se caracteriza por intolerancia a la glucosa la cual se presenta por primera vez en el embarazo. Las mujeres que quedan embarazadas con diagnóstico previo de diabetes no se incluyen en este grupo. La importancia de su detección radica en que la Diabetes Mellitus gestacional se asocia con morbilidad y mortalidad perinatales. Generalmente nacen niños de alto peso (3,4).

Aumenta el porcentaje de cesáreas y de hipertensión crónica, lo que lleva a preclampsia e incluso eclampsia. Se pueden dar problemas renales debido al aumento en la presión y consecuentemente presentan proteinuria. Las mujeres que son más propensas a sufrir DMG presentan signos y síntomas como la obesidad marcada, tienen antecedentes de DMG producto de un embarazo previo, además de glucosuria o una historia familiar de diabetes. Deben valorarse desde el primer trimestre y si dan un resultado negativo, se reevalúan de las 24 a las 28 semanas de gestación. Estas mujeres cuando han transcurrido 6 semanas normalizan su intolerancia a la glucosa, entonces se les realiza otra prueba para reclasificarlas. La mayoría regresan a glicemias normales, pero luego pueden desarrollar otro tipo de diabetes (2,3).

Otros tipos específicos de diabetes

Existen defectos genéticos en la función de las células beta como cuando hay receptores anormales que no aceptan la insulina. Además, hay defectos genéticos en la acción de la insulina en donde la señal no se traduce al interior de la célula, cuando normalmente debería hacerlo. Ejemplos de esos defectos son los siguientes (3).

1. Enfermedades del páncreas exocrino, como una pancreatitis o un tumor.
2. Las endocrinopatías, porque las hormonas hiperglicemiantes se producen anormalmente, causando hiperglicemia.

3. La inducción por drogas o agentes químicos como los glucocorticoides y algunos venenos para ratas.
4. Ciertos virus destruyen las células beta como el virus de la rubéola congénita, el virus Coxsackie B, entre otros.
5. Hay formas raras de diabetes de origen inmune y síndromes genéticos como el Síndrome de Down.

CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE LA DIABETES

La glicemia al azar se realiza en cualquier momento siempre que se trate de pacientes sintomáticos. Se considera la prueba alterada con valores iguales o mayores a 200 mg/dL (11,1 mmol/L). La glicemia en ayunas se altera si es igual o mayor a 100 mg/dL y menor a 126 mg/dL (7,0 mmol/L). Es considerada la prueba de elección. La prueba de glicemia 2 horas post carga está alterada si el paciente presenta valores iguales o mayores a 126 mg/dL con una dosis de 75 g de glucosa disuelta en agua. Cada prueba debe confirmarse otro día por cualquiera de los otros 3 métodos citados. Si una prueba da positiva y la otra negativa, debe repetirse para darle seguimiento al paciente. Una sola prueba positiva no es suficiente para confirmar el diagnóstico de Diabetes Mellitus. Antes se realizaban curvas de tolerancia a la glucosa para monitorear la glicemia a las 0 horas, 1 hora después y a las 2 horas (2,3).

Prueba de tolerancia disminuida a la glucosa.

Si la glicemia es igual o mayor a 100 mg/dL y menor a 126 mg/dL en ayunas, el paciente tiene una tolerancia disminuida a la glucosa porque la glicemia está alterada en ayunas y se le debe dar seguimiento al paciente. Las concentraciones de glucosa citadas anteriormente son las más actualizadas ya que hace poco la Asociación Americana de Diabetes (ADA) bajó este parámetro a 100 mg/dL. No se puede confirmar la diabetes dada la intolerancia (3).

Si el valor es mayor o igual a 140 mg/dL e inferior a 200 mg/dL en una glicemia 2 horas post carga, la persona también presentaría tolerancia disminuida, sin ser diagnosticado como un paciente diabético. También es necesario darle seguimiento a los pacientes cuando mantienen concentraciones de glucosa en sangre como las mencionadas (2,3).

Diabetes Mellitus Gestacional (DMG)

Se considera DMG cuando se encuentran valores en ayunas ≥ 126 mg/dL o si una prueba al azar tiene valores mayores o iguales a 200 mg/dL. En ambos casos no se realiza la curva de tolerancia a la glucosa, con estos parámetros basta para declarar la diabetes (6).

Si se le aplica una prueba de tolerancia oral a la glucosa, con una dosis de 100 g de glucosa durante tres horas y si iguala o supera 2 ó más de las siguientes concentraciones se le considera diabética: ayunas: 95 mg/dL; 1 hora: 180 mg/dL; 2 horas: 155 mg/dL; 3 horas: 140 mg/dL (3,4).

La prueba es incómoda porque las pacientes deben permanecer toda una mañana en ayunas y deben además someterse a cuatro punciones. Por lo anterior se realiza una prueba presuntiva, la cual incluye una prueba de escrutinio previo a la de tolerancia oral y se administra 50 g de glucosa oral (el ayuno no es necesario), entonces si la glicemia a la hora, es mayor a 140 mg/dL lo cual correlaciona con el 80% de las mujeres con Diabetes Mellitus gestacional, se procede a realizar la prueba de tolerancia oral completa (3,10,11).

SEGUIMIENTO Y CONTROL DEL DIABÉTICO.

En la prueba de **hemoglobina glicosilada (HbA1c)** se determinan los picos de glicemia, lo cual indica que una parte de la hemoglobina se glicosila, y empieza a acumularse en el organismo según la cantidad de picos que muestre el paciente. La vida media de la hemoglobina es de 120 días, por lo tanto la prueba indicará el control de la glicemia de los últimos 3 meses (14,15).

La prueba de la **fructosamina** está basada en la glicosilación de la albúmina, cuya vida media es de 1 mes, permitiendo así controlar los niveles de glucosa de las últimas 3 semanas. Dado que falta una estandarización adecuada de la prueba, no es aún muy usada (16).

La prueba de **microalbuminuria** detecta cantidades muy pequeñas de albúmina en la orina excretadas por el riñón. La prueba se altera cuando la excreción es mayor de 30 mg/día. Es útil para detectar un daño incipiente a nivel renal, estableciendo una detección temprana de la nefropatía diabética y a partir de ahí darle tratamiento al paciente (17).

En cuanto al análisis del **péptido C** hay que recordar que la insulina se secreta como proinsulina, y se hidroliza en circulación, transformándose en insulina, una vez que el péptido C se desprende de la proinsulina. Esta prueba determina la producción de insulina endógena por el páncreas (18).

Con la presente revisión bibliográfica se pretende dar a conocer cuales son los últimos avances en el diagnóstico molecular de la Diabetes Mellitus tipo 2 y su posible aplicación a futuro en Costa Rica, dada la alta incidencia y prevalencia de esta enfermedad en nuestro medio, considerando la obesidad como un factor de riesgo desencadenante del padecimiento.

ANTECEDENTES

Con respecto a la población adulta a nivel mundial, el Informe Conjunto de Expertos de la FAO (Food and Agricultural Organization) junto con la Organización Mundial de la Salud (OMS) sobre Dieta, Nutrición y Prevención de las Enfermedades Crónicas del año 2003, estimó que las enfermedades no transmisibles, como la obesidad, la diabetes, la hipertensión, el infarto y varias formas de cáncer eran responsables del 60% de las 55,7 millones de muertes que se produjeron en el año 2000. Si no se controlan, estas enfermedades no transmisibles van a ser responsables en corto tiempo de más de casi 75 por ciento de todas las muertes en 2020. El aumento en el sobrepeso y la obesidad se produjo tanto en los países industrializados como en los países en desarrollo de todo el mundo (21,24).

Más de mil millones de adultos en todo el mundo tiene sobrepeso y al menos 300 millones de ellos son clínicamente obesos; con un índice de masa corporal (IMC) igual o mayor a 30. La obesidad es el principal factor modificable para desarrollar y padecer diabetes tipo 2 (18).

En el año 2000, la prevalencia de la obesidad fue de 19,8% entre los adultos estadounidenses, lo cual indica un aumento de 61% desde 1991. Aproximadamente el 56,4% de todos los participantes quienes se sometieron a un estudio de asociación entre obesidad y Diabetes Mellitus presentaron sobrepeso, superando los datos del año 1991. Entre quienes afirmaron tener diabetes, se observó un aumento de la prevalencia del 4,9% en 1990 al 7,3% en el año 2000 (17). Entre los años 1997 y 2003, la incidencia de la diabetes en Estados Unidos aumentó en adultos de 45 años en adelante. La prevalencia de la obesidad y de la diabetes continúa en aumento entre los adultos estadounidenses (22).

En Costa Rica la prevalencia de la obesidad en adultos es del 31%. Los últimos estudios sobre nutrición demuestran que el sobrepeso y la obesidad son problemas que se manifiestan desde edades tempranas y aumenta con la edad hasta alcanzar el 75% en la mujer adulta (23).

En la población infantil, a nivel mundial más de 22 millones de niños menores de 5 años de edad tienen obesidad o sobrepeso, de los cuales 17 millones viven en países en desarrollo. Cada uno de estos niños se encuentra en alto riesgo de padecer diabetes tipo 2, según una información difundida con motivo del día mundial de la diabetes. Se cuenta con datos sobre la incidencia del sobrepeso y la obesidad a nivel mundial y se estima que el 10% de los niños en edad escolar padecerán entre 5

y 17 años, tiene sobrepeso y obesidad. En Brasil, esta incidencia pasó de 4% a mediados de los años 70 a 13% en el año 1997. Pero el problema es compartido por los países desarrollados, ya que en Estados Unidos, la incidencia de estas afecciones entre los 6 y 18 años de edad aumentó de 15% en 1970 a 25% en 1990. (25).

En la actualidad la incidencia de Diabetes Mellitus tipo 2 en niños norteamericanos ha pasado del 8 al 45 % y en determinadas etnias llega hasta el 94 % (26).

En Costa Rica durante los años 2000 y 2001, según un estudio realizado con la participación del Instituto de Investigaciones en Salud (INISA), el Ministerio de Salud y la Universidad Nacional, se determinó la prevalencia del sobrepeso y la obesidad entre esolaboradoresares de nivel primario. Los resultados obtenidos revelan una prevalencia del sobrepeso del 34,5%. La prevalencia del sobrepeso y de la obesidad fueron superiores en niños con edades de 7 a 9 años, que son varones de áreas urbanas, y quienes además tienen un mayor nivel socioeconómico. La prevalencia total de la obesidad fue del 26,2% (27).

Debido al incremento en la incidencia y la prevalencia de la obesidad tanto a nivel mundial como en Costa Rica con respecto a las poblaciones adultas e infantiles, se hace necesario rescatar la importancia del diagnóstico temprano de la Diabetes Mellitus tipo 2 que de la misma forma ha ido también en aumento para evitar sus consecuencias y la alta morbilidad y mortalidad asociadas, así como para adquirir medidas preventivas y evitar su desarrollo, considerando que la obesidad es un factor desencadenante del padecimiento.

OBJETIVOS

Objetivo general

Realizar una revisión bibliográfica exhaustiva con los últimos avances en el diagnóstico molecular de Diabetes Mellitus tipo 2 y su posible aplicación en Costa Rica.

Objetivos específicos:

1. Definir las mutaciones más importantes hasta el momento encontradas, asociadas con Diabetes Mellitus tipo 2
2. Establecer las ventajas e inconvenientes del diagnóstico molecular de la Diabetes Mellitus tipo 2 en Costa Rica
3. Determinar la factibilidad del diagnóstico molecular de la Diabetes Mellitus tipo 2 en centros de investigación en Costa Rica.

METODOLOGÍA

El material de apoyo que se utilizó para realizar esta revisión bibliográfica consistió de libros, artículos científicos, revistas y páginas de Internet haciendo uso de la infraestructura que ofrece el Sistema Integrado de Bibliotecas de la Universidad de Costa Rica. Se buscaron las citas más actualizadas, con el fin de dar a conocer cuales son los avances más recientes referentes al tema en estudio. Esta revisión bibliográfica se llevó a cabo entre los meses de enero de 2006 y mayo de 2007.

CAPÍTULO I

MUTACIONES MÁS IMPORTANTES ASOCIADAS CON LA DIABETES MELLITUS TIPO 2

A) Mutaciones asociadas con obesidad

Gen Agouti (Ay)

Dichas mutaciones conducen a un desequilibrio del apetito, del que se deriva una obesidad moderada muy semejante a la más usual en los humanos (26).

Su locus genético sufre mutaciones dominantes, causantes de los siguientes efectos en ratones: obesidad y coloración amarilla, expresión del péptido Agouti en tejidos no usuales (normalmente se da en piel y folículos pilosos). El péptido Agouti es antagonista del receptor de melanocortina (MC4R) y de los receptores MCR 1 del folículo piloso, esto inhibe la síntesis de pigmento, por competencia con la hormona estimulante de los melanocitos (MCR 1), por eso el color amarillo de los ratones mutantes obesos (27). Al antagonizar la acción de la melanocortina debido a un efecto de inhibición crónica, se produce el síndrome de obesidad (27).

Este gen ya se conocía por su participación en el proceso de pigmentación de la piel de los mamíferos. Su fallo conducía, en ratones, al desarrollo de un color amarillo, al bloquear en los melanocitos de la piel el receptor de una hormona relacionada con la pigmentación, la hormona estimulante de la melanocortina (MSH). Ahora se ha descubierto que las mutaciones de este gen, expresadas en las células cerebrales conducen a un desequilibrio del apetito, del que deriva una obesidad moderada muy semejante a la más usual en los humanos (16).

Gen ob: Leptina

El producto génico es la hormona leptina, una proteína de 16 KDa. Es un gen que se ha clonado tanto de ratones como de seres humanos. Su expresión se realiza en los adipocitos. La hormona actúa sobre su receptor en cerebro, indicando el nivel de las reservas grasas en el organismo, lo que causa cambios en el comportamiento alimentario como suprimir el apetito, aumentar el metabolismo y alterar la función hormonal reguladora de la partición de nutrientes y de su metabolismo en los diferentes tejidos (28).

Los hallazgos anteriores concuerdan con la teoría lipostática según la cual los depósitos grasos tienen su propio mecanismo de regulación, cuyo efecto en Sistema Nervioso Central (SNC) permite el control sobre la alimentación (28,29).

El adipocito, además de ser un reservorio de grasa, produce hormonas como la leptina, que regulan el peso corporal, así como la producción de factores como el Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF α) y otros relacionados con la resistencia periférica a la insulina. El TNF α es capaz de alterar la señalización de la insulina a través de la enzima serina quinasa y de la fosfatasa de tirosina (28,30).

En los obesos puede presentarse resistencia a la leptina, cuyos niveles en la mayoría de los casos son altos, haciéndolos insensibles a la leptina endógena. Existen investigaciones que demuestran aumento del ARNm (mensajero) del Gen *ob*, lo que guarda correlación con el grado de expresión en los adipositos, así como con las concentraciones de leptina, lo que guarda una relación positiva con la obesidad (28).

Se quiso demostrar la disminución del peso corporal en ratones genéticamente obesos *ob/ob*, mediante la administración de leptina *in vivo*. Se concluye que la leptina normaliza los principales parámetros metabólicos (glicemia e insulinemia) actuando a nivel del SNC. Se administró leptina recombinante de origen murino y humano; obteniéndose como resultado que se minimizara la ingesta y el peso corporal de los ratones. Queda por investigar cual es el efecto que tendría este mismo experimento pero realizado en humanos, con respecto a la resistencia a la leptina (28,31).

Un inconveniente en el uso de leptina es su acción reguladora sobre otros procesos hormonales, como la hormona liberadora de la hormona del crecimiento y la hormona liberadora de gonadotropina la cual se asocia con procesos de crecimiento y reproducción. Asimismo, la leptina tiene efectos sobre otros órganos endocrinos como la glándula tiroides, el páncreas, la glándula suprarrenal y las gónadas, que explican su diversidad de funciones (28).

La leptina no incrementa el transporte de glucosa en músculo o adipositos directamente sino que lo hace de forma indirecta, incrementando la beta oxidación de los ácidos grasos para mejorar la disposición de glucosa (34).

Gen *db*: receptor de la leptina

Una vez que la leptina es secretada por el tejido adiposo al torrente sanguíneo debe llegar a sus órganos blanco y ser reconocida por los receptores proteicos ubicados en la superficie de la membrana plasmática. El receptor largo ubicado en el hipotálamo, es un polipéptido de alrededor de mil aminoácidos insertado en la membrana plasmática en dominios extracelular, de transmembrana e intracelular, lo que indica una posible función de transducción de la señal al interior de la célula. Este receptor es abundante en el hipotálamo, una región de gran importancia en la regulación del peso corporal. Un receptor de menor talla para la leptina ya que carece del dominio intracelular se localiza en el hipotálamo y en tejidos como pulmones, riñones y cerebro, entre otros. Por último, hay un receptor más pequeño pues carece de los dominios intracelulares y transmembranal y probablemente su función sea transportar la leptina en el plasma (29).

Los estudios de Chen, utilizando ratones *db*, confirmaron la presencia de mutaciones de punto en los receptores hipotalámicos para la leptina y se observó que afectan a todas las isoformas (*Ob-Ra*, *Ob-Rb*, *Ob-Rc*, *Ob-Rd*, *Ob-Re* y *Ob-Rf*) causando una fijación deficiente de la leptina y/o una mala transducción de la señal al interior de la célula (29).

Aunque en seres humanos no se ha logrado encontrar mutaciones en los receptores para la leptina, recientemente se informó de una familia a la que se le detectaron alteraciones en el receptor a la leptina, en donde se vio que todos desarrollaron obesidad y anormalidades en su desarrollo sexual (29).

Variantes de secuencia de la región 3' no inducida del gen receptor de leptina se han relacionado con un incremento en los niveles de insulina de los sujetos obesos; queda por establecerse el papel que esta alteración tiene en el desarrollo de la Diabetes Mellitus tipo 2 (34).

Gen *FAT*

Este gen codifica una carboxipeptidasa E, que participa en la síntesis de biomoléculas como la insulina, la melanocortina, el neuropéptido Y, entre otros. La mutación impide el procesamiento normal de la insulina, originando hiperpro-insulinemia y obesidad (30,35).

Gen *TUBBY*

El gen *Tubby* codifica por una proteína implicada en el control de circuitos neuronales del hipotálamo. Su función proteica no se conoce aún. Es un gen importante en el funcionamiento del cerebro, pulmón y testículos, que son los sitios donde se ha encontrado. Su mutación causa problemas como degeneración retiniana, la pérdida de audición neurosensorial y obesidad (30,35).

Genes *UCP* (Uncoupling protein o proteína desacoplante termogénica)

Es una familia de genes caracterizada por realizar diversas funciones. El Gen *UCP1*, que se encuentra en mamíferos, codifica para una termogenina del tejido adiposo marrón (TAM). Los genes *UCP 2 y 3* se encuentran en seres humanos a nivel del tejido adiposo blanco y en el tejido muscular. Controlan el uso de la energía obtenida mediante la oxidación de nutrientes en la mitocondria (16).

Como resultado de la acción de los genes sobre el organismo ocurre un proceso llamado termogénesis facultativa. El gen *UCP*, codifica por un canal de protones mitocondrial y transporta esos protones hacia su interior. La energía del gradiente de protones se utiliza para disipar el calor, en vez de realizar la síntesis de ATP por la vía de la enzima ATP sintetasa. De esta forma se obtiene una producción regulable del calor en el tejido adiposo marrón, el cual está inervado por el Sistema Nervioso Simpático (SNS) (16).

En el adipocito hay muchas mitocondrias y cada una posee una sola proteína *UCP1*, que bloquea el gradiente de protones generado por oxidación de nutrientes, como sucede con los ácidos grasos, en la cadena respiratoria. (16).

La termogénesis facultativa fue deficiente en todos los modelos animales estudiados utilizando el promotor de la *UCP*, para dirigir la cadena A de la toxina diftérica, los cuales se desarrollaron experimentalmente con un bajo contenido de tejido adiposo marrón. Se observan ratones transgénicos con una marcada obesidad, siendo más propensos a desarrollarla cuando es inducida por la dieta (16).

El funcionamiento de los genes *UCP* solamente es regulado por los ácidos grasos polinsaturados, de cadena media, los cuales activan el gen *UCP1*. Su transcripción es regulada mediante la estimulación simpática y mediada por los receptores beta adrenérgicos (beta 3) así como por el nivel de AMP cíclico (AMPC) (16).

En cuanto al gen *UCP-3*, su expresión se ve aumentada durante el ayuno y es diferente con respecto a los genes *UCP-1* y *2*. Los estudios realizados en el gen *UCP* han permitido identificar los reguladores cis y trans de la transcripción. Se han encontrado regiones que confieren expresión génica específica del adipocito marrón y que también inducen la transcripción del gen *UCP*, mediada por el AMPc, la hormona tiroidea y el ácido retinoico, que son algunos de los posibles agentes reguladores postulados en la literatura (16,17).

Se ha descrito en roedores el efecto positivo del ácido retinoico sobre la termogénesis, así como el efecto de ciertos ácidos grasos y de ciertos nutrientes de carácter termogénico que podrían ser útiles en la elaboración de dietas para mejorar el control del peso corporal (16).

La obesidad puede aparecer debido a alteraciones en la mitocondriogénesis e hiperplasia del tejido adiposo marrón (TAM). Se ha visto como en animales experimentales una vez que son expuestos a una sobrealimentación con alimentos rico-energéticos se produce hiperplasia del TAM y un aumento de los valores de UCP, transformando el exceso de los alimentos ingeridos en tejido adiposo. Pero cuando la sobreingesta se prolonga, viene el sobrepeso y el riesgo de desarrollar obesidad dietética persistente. Con esto se destaca la importancia que implica la regulación de la biogénesis mitocondrial en la obesidad (16,18).

También existen ciertos polimorfismos que están asociados a los genes UCP. En el gen *UCP1* estudiado en humanos se ha visto una mayor tendencia a la ganancia de peso y una menor tasa metabólica, asociados a la presencia de uno de los dos principales alelos. La variante genética de la proteína UCP-1 se relaciona también con la resistencia hacia la pérdida de peso. Las variantes LPL y beta 3 de los polimorfismos del gen *UCP1*, están más relacionadas con las complicaciones médicas de la obesidad (16).

Receptores beta adrenérgicos (BAR)

El receptor beta-3-AR se expresa principalmente en los adipositos marrones maduros y en una menor proporción se encuentran los receptores beta-1 y beta-2. La expresión del receptor beta-3-AR está muy disminuida en los ratones obesos *ob/ob* y en otros modelos de obesidad analizados en roedores. Los agonistas específicos del receptor tienen una fuerte acción contra la obesidad y la diabetes (16).

Existe la hipótesis de que una anomalía en el receptor beta-3 podría estar relacionada con la obesidad abdominal y con la resistencia a la insulina. Es importante la ubicación del receptor en la

grasa visceral, ya que en humanos podría causar lipólisis y la liberación de los ácidos grasos en la vena porta (16,18). En estudios *in vitro*, la presencia de ésta mutación sobre el receptor beta-3 se asocia a una alterada lipólisis que está mediada por catecolaboradoresaminas (34).

Se ha demostrado la existencia de una mutación en el gen del receptor beta-3 adrenérgico, denominada Trp64ArgBeta3AR, cuya incidencia es elevada en Indios Pima, población caracterizada por tener un alto número de personas obesas. En otros grupos humanos también existe esta mutación y se asocia fuertemente con la predisposición a la obesidad o a sus complicaciones. La mutación se asocia en concreto con tasas metabólicas más bajas y con la resistencia a la insulina, porque su presencia aumenta el índice de masa corporal (IMC), la adiposidad abdominal, la hiperinsulinemia eleva además la presión arterial y causa la aparición temprana de la diabetes. Este aumento del IMC se ha observado en familias tanto de México como americanas. Dichas evidencias implican fuertemente al gen del receptor beta-3 adrenérgico en la susceptibilidad a desarrollar el Síndrome Metabólico. Sin embargo estos resultados no se repiten para todas las poblaciones estudiadas y por lo tanto se acepta que dicha alteración no puede ser considerada como un condicionante mayor de la obesidad (16,34).

Recientemente se ha establecido una clara asociación entre las variantes polimórficas del gen del receptor beta-2 adrenérgico y la predisposición a la obesidad, el nivel del gasto energético y la tasa lipolítica, en un estudio que involucra sólo mujeres, pero donde se observan asociaciones estadísticas muy marcadas (16).

Referente al desarrollo de la obesidad, el gen del receptor beta-2 adrenérgico presenta tres variantes de secuencia denominadas R16G, G27Q, R19C. Las variantes mencionadas se relacionan entre sí y por eso son consideradas un haplotipo, es decir, viendo ese conjunto de alteraciones como un todo (34).

Se han realizado investigaciones de la subunidad R2-beta que regula la proteína quinasa A. Dicha regulación tiene lugar en el tejido graso blanco. Su función consiste en regular la transcripción de la proteína UCP mediante el receptor beta 3-adrenérgico (19).

Gen *ABCA 1*

El gen del transportador de colesterol *ABCA 1*, se relacionó por primera vez con la Diabetes Mellitus Tipo 2 en la población japonesa mediante un estudio masivo de asociación en donde se analizó 120 genes que podrían estar relacionados con la patología. En la población

mexicana se identificó una variante particular de este gen, denominada R230C y está vinculada con concentraciones bajas de la lipoproteína de alta densidad (HDL) y de manera independiente con la obesidad, con la Diabetes Mellitus tipo 2 y el Síndrome Metabólico. El papel de este gen está muy bien documentado en el transporte inverso del colesterol, pero su función como gen de susceptibilidad para el desarrollo de la Diabetes Mellitus tipo 2 se empezó a entender recientemente mediante la generación de un modelo de origen animal haciendo uso de la desactivación selectiva del gen *ABCA 1* en la célula beta pancreática (32).

En estos modelos animales, al eliminar el gen se observa la producción de un depósito anormal de los lípidos en la célula beta, lo cual pone en riesgo su capacidad secretora de insulina. Otro mecanismo mediante el cual el gen *ABCA 1* podría representar un riesgo a padecer Diabetes Mellitus tipo 2 es a través de su función en el adiposito, ya que la variante R230C se relaciona también con el riesgo de obesidad en la población mexicana. Vale la pena hacer notar que esta variante se identificó sólo en poblaciones amerindias, como la población Oji-Cree en Ontario, Canadá. Su frecuencia es muy alta en las distintas poblaciones amerindias de México, así como en la población mestiza mexicana. Este es el primer ejemplo de una variante común identificada en la población mexicana caracterizada por tener un papel casi exclusivo como alelo de susceptibilidad para la diabetes, la obesidad y el síndrome metabólico en poblaciones de origen amerindio. Su identificación permitirá estudiar cuales son las vías bioquímicas y metabólicas que vinculan a este gen y esta variante con el riesgo para la Diabetes Mellitus tipo 2 (33).

Gen TCF7L2

La susceptibilidad al desarrollo de la Diabetes Mellitus tipo 2 en el locus 10q está relacionada con las variantes de la secuencia en este gen que le confieren un riesgo de entre 2 y 28% en las distintas poblaciones estudiadas, con el riesgo más alto en tres poblaciones europeas. Más recientemente se demostró su efecto en la población africana. Un único polimorfismo de un solo nucleótido (SNP) (rs7903146) confiere un riesgo relativo de 1.49 (IC95% 1.34-1.66) y un riesgo poblacional atribuible de 21% para la población danesa y de Islandia y de 20% para la población africana. Es interesante destacar que este mismo grupo identificara la variante de riesgo para Diabetes Mellitus tipo 2 relacionada con un menor riesgo de padecer obesidad. Dicho polimorfismo se asocia con más bajos niveles de insulina, ya que afecta la función de las células beta, además se registró una menor circunferencia de la cadera, y un menor riesgo de presentar un perfil lipídico adverso en la población mayor (33,38).

El papel de este gen en la aparición de Diabetes Mellitus tipo 2 y la obesidad no es conocido, pero se relaciona con la vía de señalización Wingless (Wnt) y con la regulación sobre la expresión del pro glucagón. El gen que codifica la molécula del glucagón es llamado gen *glu*. Su promotor está ubicado en las células endocrinas y es estimulado por la beta catenina, que funciona como el principal efector de la vía de señalamiento Wnt mientras la expresión de ARNm para el gen *glu* queda activada cuando se inhibe la quinasa sintasa de glucógeno 3 beta, el principal regulador negativo en la vía Wnt. Los portadores del alelo menor tendrán una menor probabilidad de presentar el síndrome metabólico, aunque las microangiopatías pueden aumentar en pocos casos. Lo anterior tiene sus consecuencias en el abordaje del tratamiento según el genotipo del paciente. La identificación de este gen demuestra la existencia de variantes génicas en distintas poblaciones, ocasionando un efecto importante en la susceptibilidad al desarrollo de la Diabetes Mellitus tipo 2. Una vez que se logre identificar la función metabólica de este gen se podrá comprender cual es la fisiopatología de la enfermedad (32,33,34).

Estudiando los polimorfismos simples en una población de origen francés se identificaron las variantes pertenecientes a cuatro *loci* diferentes las cuales van a tener un riesgo atribuible al desarrollo de la Diabetes Mellitus tipo 2 y se confirmó que tales variantes están asociadas con el gen *TCF7L2*. En este gen, hay un *loci* que contiene un polimorfismo en el transportador de zinc *SLC30A8*, que se expresa solo en células beta, productoras de insulina y estos dos grupos o bloques de genes se han visto potencialmente involucrados en el desarrollo o en el funcionamiento de las células beta. El primero de estos bloques lo forman los genes *IDE*, *KIF11* y *HHEX* y en el segundo grupo están los genes *EXT2* y *ALX4*. El gen *KIF11*, codifica por proteínas tipo quinesina, que pertenecen a una familia de proteínas. Si estas proteínas se bloquean, se previene la migración del centrosoma y se detiene la mitosis. En el grupo de genes *EXT2* y *ALX4*, ubicado sobre el cromosoma 11q, *EXT2* modula una vía que está relacionada con el desarrollo temprano del páncreas, y regula la síntesis de insulina. El gen *ALX 4* codifica por una proteína de homeosecuencia que posiblemente se involucra en la vía Wnt (35,36).

De los genes hasta ahora identificados, el gen *SLC30A8* sigue siendo el más significativo. Solo las vesículas secretoras de las células beta del páncreas expresan el transportador de zinc. El gen ayuda a completar la síntesis de la insulina. En el caso de un insulinoma, que está formado por células cancerosas del páncreas, la insulina responde a los excesos de glucosa lo cual causa problemas de hipoglicemia, debido a una producción excesiva del gen *SLC30A8* (36).

Gen IDE

Este gen codifica por la enzima degradante de insulina y se ha descrito que es un fuerte candidato como factor genético de susceptibilidad en los pacientes afectados con Diabetes Mellitus tipo 2. Este gen se encuentra sobre el cromosoma 10. La predisposición se ha verificado en ratas, que también son portadoras del gen, del cual ya se sabe sobre su importancia en la homeostasis de la glucosa. Ya se conoce cual es la conformación del haplotipo y las variantes genotípicas asociadas. El haplotipo más relacionado con la diabetes es el IDE2, 179T→C; teniendo sin embargo una asociación modesta con el padecimiento, en cuánto a la predisposición se refiere. Un caso diferente ocurre con la variante IDE10, IVS20-405A→G. La variante IDE 2 mostró una mayor relación en los pacientes diagnosticados con diabetes temprana, siendo importante su contribución como la causa de una mayor susceptibilidad en humanos. Las mutaciones rs1111875 y rs7923837, que están ubicadas al final de los telómeros del cromosoma 10, tienen dos genes importantes uno es el gen *IDE*, que codifica por una proteína de homeosecuencia HHEX y la kinesina asociada al factor 11 (KIF11). HHEX se encarga del desarrollo pancreático y hepático, y es un blanco en la vía de señalamiento de Wnt, como lo es el gen TCF7L2 (37).

Grelina

De este gen se han reportado diversos polimorfismos en niños altos y obesos donde las variantes Leu72Met y Arg51Gln se asocian con una baja secreción de insulina inducida por glucosa y un alto índice de masa corporal. La grelina es el ligando endógeno del receptor de la hormona del crecimiento (GHSR) y regula la liberación de la hormona del crecimiento (GH) en la hipófisis y de la hormona liberadora de la hormona de crecimiento del hipotálamo (GHRH) (35).

B) Mutaciones asociadas con la resistencia a la insulina

Mecanismos de resistencia a la insulina

Hasta el momento se han clonado dos familias moleculares distintas de transportadores celulares una de glucosa y otra de hexosas como fructosa y lactosa. Los transportadores de glucosa están acoplados a iones de sodio y se encuentran restringidos al intestino y al riñón, donde transportan la glucosa activamente contra gradiente de concentración por medio del cotransporte de sodio que utilizan como sustrato energético. El otro grupo de transportadores ejerce esa función por difusión facilitada bajo un gradiente de concentración de glucosa. Este grupo se encuentra constituido al menos por siete proteínas de transmembrana homólogas, enumeradas GLUT – 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 las

cuales son codificadas por distintos genes. Las proteínas GLUT utilizan diferentes sustratos, propiedades cinéticas y distribución en los tejidos, lo que explica sus diferentes funciones. El músculo es el sitio principal de utilización de la glucosa estimulada por insulina *in vivo*, una menor cantidad de glucosa es transportada al tejido adiposo. La resonancia magnética se ha usado para demostrar que el transportador de glucosa controla el metabolismo de la glucosa en el músculo esquelético, tanto en sujetos no diabéticos, como en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 (34).

El hecho de que los familiares no diabéticos sujetos a diabetes tipo 2 también tengan resistencia a la insulina, es una evidencia de su base genética. Se ha demostrado un deterioro en el transporte de la glucosa estimulado por insulina y es el responsable de la resistencia a la síntesis de glucógeno mediada por insulina en el músculo de pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2. De esta forma el deterioro en el transporte de glucosa tiene un importante papel en la patogénesis de esta enfermedad (34).

Mecanismos moleculares de la utilización de glucosa estimulada por insulina

El GLUT 4 es el principal transportador de glucosa estimulado por insulina y se encuentra localizado principalmente en las células musculares y los adipositos. La importancia del GLUT 4 en la homeostasis de la glucosa se demuestra por los estudios realizados en ratones con un alelo del gen GLUT 4 sustraído. Estos ratones tienen aproximadamente una reducción del 50% de GLUT en músculo esquelético, en el corazón y los adipositos, con lo que se manifiesta una grave resistencia a la insulina y cerca de la mitad de los machos desarrolla diabetes franca con la edad. En las células musculares y adiposas normales, el GLUT 4 es reciclado entre la membrana plasmática y un sitio destinado como almacén intracelular. El transportador GLUT 4 difiere de otros transportadores de glucosa en que cerca de 90% se encuentra secuestrado en forma intracelular en ausencia de insulina u otros efectos estimulantes como el ejercicio (34).

En presencia de insulina o de otros factores estimulantes, el equilibrio del reciclaje es alterado a favor de la translocación, por medio del movimiento regulado del GLUT 4 desde las vesículas de almacenamiento hacia la membrana plasmática y en el músculo hacia los túbulos transversos. El efecto neto es el incremento de la velocidad máxima del transporte de glucosa hacia el interior de la célula. El movimiento intracelular de GLUT 4 estimulado por insulina es iniciado cuando esta se une a la porción extracelular del receptor transmembrana de insulina. Con dicha unión se activa la tirosín quinasa, que fosforila la porción intracelular del receptor. La actividad de esta enzima depende de los sustratos moleculares del receptor de insulina (IRS 1, 2, 3 y 4), Gab 1 (Grb2 -factor

de crecimiento enlazado a receptor proteína 2- asociado 1) y *SHC* (Src y proteínas homólogas del colágeno) lo que es suficiente para inducir al menos una translocación parcial de GLUT 4 hacia la membrana plasmática (34).

La activación en cascada de la serina- treonina-quinasa podría estar involucrada. La fosfoinositol-3 quinasa también activa otra quinasa al generar los productos lipídicos del fosfatidil inositol en la bicapa lipídica de las membranas celulares. En esta vía una serina-treonina-quinasa (Proteín quinasa B, también conocida como Akt) junto con una quinasa dependiente de fosfoinositol se encuentran unidas, permitiendo que la fosforilación de la última active a la proteín quinasa B. Algunas isoformas de proteín quinasa C también son activadas por insulina y la proteín quinasa 1, dependiente de fosfatidil inositol. La translocación de GLUT 4 hacia la membrana plasmática es estimulada por las formas activas de la proteín quinasa B, o isoformas atípicas de la proteín quinasa C. De lo anterior se desprende que alguna de estas quinasas podría ser la mediadora in vivo de la translocación del GLUT 4 por la insulina (34,37).

Las formas atípicas de proteín quinasa C, llamadas I, μ , I y V son buenas candidatas ya que el bloqueo de su acción atenúa la translocación del GLUT 4 por medio de insulina, mientras el bloqueo de la proteín quinasa B ha mostrado resultados controversiales. Por otro lado, en el músculo de pacientes diabéticos, la estimulación del transporte de glucosa se deteriora a concentraciones fisiológicas de insulina, aun cuando la activación de la proteín quinasa B es normal. Otras proteínas que regulan el acoplamiento de las vesículas que contienen GLUT 4 a la membrana plasmática y su posterior fusión a ésta, podrían ser péptidos dependientes de insulina pero su función es aún desconocida (37).

Se sospecha que los péptidos dependientes de insulina podrían ser los encargados de acoplar el paso del GLUT 4 desde las vesículas hacia la membrana plasmática. Sin embargo no se conoce todavía cual es la función de esos péptidos. Otras proteínas podrían ser las que median este transporte del GLUT 4, como la proteína Rab 4 que está unida al guanósín trifosfato (GTP), capaz de modificar la retención o el movimiento de las vesículas de GLUT 4 y de sinaptobrevina que es otra proteína candidata (vesícula asociada a la proteína 2 de membrana, o v- SNARE) (34).

Resistencia a la insulina asociada con mutaciones en los transportadores de glucosa.

Las mutaciones en el transportador GLUT 1 se han asociado con convulsiones intratables debido a la reducción en el transporte de glucosa a través de la barrera hematoencefálica. Las mutaciones del gen *GLUT 4* pueden, en forma teórica, causar resistencia a la insulina. Sin embargo, el

polimorfismo del gen *GLUT 4* es muy raro en pacientes con diabetes tipo 2 y tiene la misma prevalencia que los sujetos no diabéticos. (34).

Mutaciones gen *GLUT 2* (SLC2A2)

Este gen se ubica en el cromosoma 3 y las mutaciones relacionadas con la translocación de glucosa se encuentran en los segmentos transmembrana del receptor 9, 10 y 11, con lo que se altera el transporte de glucosa (46).

El gen codifica por un transportador de glucosa, que regula el ingreso a la célula beta pancreática, mediante transporte facilitado. Controla además el ingreso y la salida de la glucosa al hígado, donde también hay receptores GLUT 2. El efecto de las variaciones o mutaciones del gen se asocia con la diabetes tipo 2. La afinidad del receptor por la glucosa es baja, por lo cual se requiere de una alta concentración de glucosa para alcanzar la mitad de su índice de transporte máximo, es decir, su constante de Michaelis Menten (K_m) es alta. Como resultado las células beta secretan insulina si hay abundancia de glucosa. Se propone la función del GLUT 2 como un sensor de glucosa con respecto a su ingreso a las células beta (46).

La mutación del gen *GLUT 2* da lugar al síndrome de Fanconi Bickel, una enfermedad metabólica rara, autosómica recesiva, caracterizada por la acumulación de glucógeno hepático y renal, junto con neuropatía y el deterioro en la utilización de glucosa y galactosa. El origen de la mutación se relaciona con un motivo muy conservado, presente además en otras superfamilias de transportadores de azúcares, denominado (R) XGRR (34,36).

Ciertos polimorfismos de un solo nucleótido observados en el receptor pueden causar cambios de aminoácidos en la proteína madura codificada por el gen *GLUT 2*. La variante T110I, ubicada sobre el segundo dominio de membrana se asocia con la diabetes tipo 2 y con otras variantes las cuales están relacionadas con el síndrome de Fanconi (34).

De la literatura se reporta el hallazgo obtenido en un paciente diabético en el cual se encontró una mutación en una valina altamente conservada en el 5to dominio transmembrana del receptor GLUT 2. La valina es cambiada por un residuo de isoleucina en el aminoácido 197 (V197I) (34).

Existen cuatro polimorfismos con genotipo AA, todos asociados con un mayor riesgo de diabetes tipo 2 en una población de finlandeses estudiada, dado que se afecta la tolerancia a la glucosa. Tales polimorfismos predisponen la aparición de la diabetes en pacientes obesos (35).

Alteraciones específicas de los tejidos en la producción de GLUT 4

En varios estudios de resistencia a la insulina, la expresión de los genes GLUT 4 es regulada de forma diferente en los tejidos muscular y adiposo, como es demostrado en varios estudios animales y humanos. La concentración de GLUT 4 se encuentra reducida en los adipositos de los pacientes obesos y en quienes presentan un deterioro de tolerancia a la glucosa o con Diabetes Mellitus tipo 2, pero las concentraciones de GLUT 4 no disminuyen en tejido muscular de los pacientes obesos, con diabetes tipo 1 ó 2, diabetes gestacional o en familiares de pacientes con diabetes tipo 2 resistentes a la insulina. Ya que el músculo es el principal sitio de utilización de glucosa estimulada por insulina, el deterioro en la sensibilidad a la insulina en estos casos no puede ser explicado por una disminución en la producción de GLUT 4. En contraste, la disminución en la producción muscular de GLUT 4 conforme avanza el envejecimiento en el sujeto normal puede desempeñar un papel importante en la declinación de la sensibilidad a la insulina, relacionada con la edad. Aunque la baja producción del GLUT 4 no es la causa directa de resistencia a la insulina en obesidad y diabetes, ésta puede tener un importante abordaje terapéutico, al aumentar la concentración de GLUT 4 en estas condiciones (38).

La tolerancia a la glucosa y la sensibilidad a la insulina son incrementadas por la sobreproducción de GLUT 4 en músculo, tejido adiposo, o en ambos, de ratones obesos normales db/db y diabéticos. De esta forma, un incremento en GLUT 4 reduce la hiperglicemia y aumenta la sensibilidad a la insulina en ratones con diabetes inducida por estreptozocina. La estreptozocina es un agente alquilante, tóxico para los islotes pancreáticos y se utiliza para producir modelos animales en la investigación médica. La diabetes en la rata se provoca mediante una única inyección intraperitoneal de estreptozocina. El ejercicio también aumenta la sensibilidad a la insulina y la concentración de GLUT 4 en músculo de sujetos inicialmente sedentarios, de mediana edad, ancianos y con diabetes tipo 2 (38).

Defectos en la translocación intracelular del GLUT 4

La reducción en el consumo de glucosa estimulado por insulina en el músculo esquelético de personas obesas y con diabetes, se asocia con un deterioro en el movimiento de GLUT 4 de las vesículas intracelulares a la membrana plasmática. De esta forma, las concentraciones de GLUT 4 son normales en el músculo esquelético de estos sujetos y la principal explicación para la resistencia a la insulina es un defecto en la vía de señalización mediada por insulina, que regula la translocación de GLUT 4 o en la maquinaria molecular involucrada con el reclutamiento de

vesículas de GLUT 4 hacia la membrana plasmática, su acoplamiento y posterior fusión a la misma (46,47).

Existen por lo menos dos almacenes de GLUT 4 reclutables en músculo y al menos en uno de éstos, el GLUT 4, puede responder a estímulos diferentes a la insulina en pacientes insulino-resistentes. Estímulos como la contracción muscular y la hipoxia, activan los almacenes en forma distinta con respecto a la insulina; la utilización de glucosa por el músculo, en el ejercicio y en la hipoxia es normal en individuos con obesidad y con diabetes. Las vesículas que contienen GLUT 4 también se observan normales, los transportadores de glucosa en el músculo con resistencia a la insulina se activan normalmente por inhibidores de la serina-treonina-fosfatasa y la tirosin fosfatasa. Estos inhibidores de fosfatasas prolongan la activación de los componentes distales de la cascada de señalización de la insulina (46).

Defectos en la vía de señalización

La atención se ha enfocado en la fosfatidil inositol 3 quinasa por su papel en la translocación intracelular de GLUT 4, la cual es mediada por insulina. La activación de la enzima por medio de insulina en el músculo se encuentra reducida en sujetos con obesidad grave que presentan resistencia a la insulina y en aquellos con diabetes; y la expresión de la subunidad reguladora de la quinasa antes mencionada se reduce en los pacientes que fueron diagnosticados con obesidad grave. De esta forma, el principal defecto en la señalización puede ser proximal en la secuencia de activación de la fosfatidil inositol 3 quinasa, debido a que la concentración del residuo fosforilado de insulina y de IRS1 también disminuye en muchos sujetos con obesidad mórbida y diabetes. El deterioro en la utilización de glucosa estimulada por insulina puede resultar en una regulación alta de las proteínas que inhiben la vía de señalización. La expresión y la actividad de varias proteínas tirosín fosfatasa aumenta en músculo esquelético y a nivel de tejido graso en personas obesas, pero con ausencia de diabetes tipo 2. El bloqueo de los genes para una de estas fosfatasas en ratones transgénicos incrementa la señalización de la insulina y previene la resistencia a la insulina y la obesidad, frecuente en dietas con alto contenido graso (46).

Este efecto concomitante con el aumento de la actividad de la fosfatil-inositol-3-quinasa. Y ha sido está bien relacionado principalmente con niveles de ceramidas (un derivado de esfingomiélin que a su vez forma parte de las membranas celulares. Estas ceramidas pueden alterar la actividad de enzimas como las kinasas, las fosfatasas y la actividad de transcripción. Los niveles elevados de

ceramidas pueden reducir la capacidad de fosforilación del receptor de insulina, como también la de proteín quinasa B constatándose una disminución en la traslocación del receptor GLUT4 (47).

Otros candidatos pueden ser los sustratos de 15-KDa (kilodaltons) de la proteín quinasa C, sobre expresada en los tejidos blanco de la insulina en individuos obesos y diabéticos. Esta misma forma de expresión atenúa la translocación de GLUT 4 inducida por insulina, pero en cultivos celulares. El vanadato inhibido por tirosinfosfatasa, estimula el transporte de glucosa al favorecer la translocación del GLUT 1 y 4 en las células musculares y del tejido graso. Existen compuestos de vanadato capaces de mejorar la sensibilidad a la insulina en músculo e hígado en el caso de los diabéticos tipo 2 y reduce la necesidad de insulina en diabetes tipo1 (34).

Mutaciones en el gen *HNF-4 alfa* (MODY1)

Este gen hace a las personas más propensas al desarrollo de la Diabetes Mellitus tipo 2 debido a la presencia de cuatro mutaciones sobre el factor de transcripción nuclear del hepatocito (HNF-4alfa), cuya función es regular la secreción de insulina en respuesta a las concentraciones de glucosa. Cuando se presenta la mutación, aumenta el riesgo a desarrollar diabetes en un 30%, según un grupo de investigadores de Finlandia y de los Estados Unidos (46).

La diabetes de comportamiento del adulto que se presenta en el joven (denominada como MODY por sus siglas en inglés), es un subtipo heterogéneo de la Diabetes Mellitus tipo 2 que se presenta por una alteración genética caracterizada por ser de tipo autosómica dominante inherente y primario a un defecto en la secreción de insulina. La diabetes MODY1 se caracteriza clínicamente por una deficiencia temprana en la secreción de insulina, hiperglicemia, asociación con complicaciones microvasculares y rara vez obesidad (33,38).

El HNF-4alfa es un miembro de la superfamilia de receptores nucleares huérfanos en las hormonas esteroideas/tiroideas, encargados de la regulación de la expresión de distintos genes en el hígado, riñón, intestino y en islotes pancreáticos, en estos últimos la actividad del gen HNF-4alfa participa en la regulación de la secreción de insulina en respuesta a la glucosa (33).

La frecuencia de MODY1 como causa de diabetes tipo 2 no está establecida con precisión, sin embargo pudiera representar cerca del 0.25% de todos los pacientes con diabetes tipo 2. La actividad de HNF-4alfa es esencial en la regulación de la expresión de varios genes involucrados en el metabolismo de la glucosa, ácidos grasos y colesterol. Estudios clínicos han demostrado que los

sujetos diagnosticados con MODY1 tienen una sensibilidad normal a la insulina en sus tejidos, pero hay un defecto en la estimulación de la secreción de insulina mediada por la glucosa (33,38).

Se han estudiado las propiedades de las distintas formas mutantes del gen *MODY1*, entre ellas se ha demostrado una pérdida en la actividad de transactivación y alteraciones en la dimerización de la proteína (ya que funcionalmente actúa como dímero), así como alteraciones en la unión de esta proteína al ADN. Se han encontrado mutaciones en el gen *HNF-4alfa*, las cuales se asocian con alteraciones en la expresión del transportador de glucosa GLUT2, de la enzima aldolasa B y la gliceraldehído-3 fosfato deshidrogenasa y en el hígado también se observan alteraciones de la piruvato quinasa, esta última disminuye la fase aeróbica de la glucólisis, disminuye así la glucosa y a su vez la fuente de energía (33).

MODY relacionado con mutaciones en el gen de la enzima glucoquinasa GK (MODY2)

La identificación de las mutaciones en el gen de la glucoquinasa, una proteína importante en el metabolismo de la glucosa que se realiza en los hepatocitos y las células beta, indica que MODY2 podría ser principalmente un desorden del metabolismo de los carbohidratos. La existencia de esta segunda forma de MODY se basa en un estudio de ligamiento genético, el cual fue llevado a cabo en 16 familias MODY francesas (33).

En catorce de ellas se demostró ligamiento genético con marcadores cercanos al gen de la glucoquinasa (*GK*) en el locus 7p15-p13. El gen de la glucoquinasa humana comprende una región de más de 20Kb y consta de 12 exones. MODY2 representa la forma más frecuente de MODY en la población francesa. La prueba definitiva del papel de la glucoquinasa en el tipo MODY se obtuvo al demostrar la presencia de una mutación sin sentido que genera un codón de terminación en este gen en una de las familias francesas (33,36).

A la fecha se han descrito más de 80 mutaciones distintas en el gen *GK* en distintas familias que presentan MODY y en todas ellas se encontró un fenotipo discreto. La fosforilación de la glucosa en el carbono 6 es el primer paso para la glucólisis. Las hexoquinasas catalizan esta reacción. En los mamíferos, la glucoquinasa (hexoquinasa IV) es sintetizada en los hepatocitos, así como en células beta pancreáticas y juega un papel importante en la regulación del metabolismo de la glucosa. La glucoquinasa actúa como el sensor de las células beta. De acuerdo con este concepto, el metabolismo de glucosa y la secreción de insulina están estrechamente vinculados, determinados por la concentración de glucosa en el plasma. En las células beta y los hepatocitos, el metabolismo

de la glucosa está determinado por su tasa de fosforilación, la cual es catalizada por la GK. Las células beta y los hepatocitos también expresan el transportador de glucosa GLUT2, una proteína celular independiente de insulina que media el transporte de la glucosa hacia las células. La capacidad del GLUT2 para transportar glucosa es muy alta, facilitando el equilibrio rápido entre la glucosa extracelular e intracelular. Las mutaciones en el gen de la glucoquinasa han sido identificadas en mujeres con diabetes gestacional. Estas mujeres presentaban antecedentes diabéticos en familiares de primer grado. Grupe (1996), generó ratones “knock out” completamente deficientes en GK. La modificación genética que conduce a la pérdida de función de un gen, más comúnmente conocida como gen *knock out*, ha sido utilizada extensivamente en el ratón para obtener un mayor entendimiento de la función génica y como modelo para estudiar ciertas enfermedades y también se ha usado en ratones transgénicos en los cuales la glucoquinasa se expresa únicamente en las células beta. En los ratones con sólo una copia del gen *GK*, la glucosa sanguínea se elevó y la secreción de la insulina disminuyó. Los ratones deficientes en GK murieron perinatalmente con hiperglicemia severa. Se observó también que la expresión de GK en células beta en ausencia de expresión en el hígado es suficiente para la supervivencia (33,36). La GK puede servir como un sensor metabólico en células pancreáticas y mediar un mecanismo para la regular la liberación del glucagón según la concentración de glucosa extracelular (33,36).

La secreción fetal de insulina en respuesta a la glicemia materna es muy importante para el crecimiento del feto. Un defecto en la sensibilidad de la glucosa por el páncreas debido a una mutación heterocigota en el gen *GK*, podría reducir el crecimiento y el peso al nacer, además de causar hiperglicemia después del nacimiento. Los niños con mutaciones en el gen *GK* tienen bajo peso al nacer. La hiperglicemia materna debida a una mutación en el gen *GK* resultó en un incremento significativo del peso al nacer. Se propone que estos cambios de peso al nacer reflejaron las alteraciones en la secreción de insulina por el feto, las cuales son influenciados directamente por el genotipo fetal e indirectamente, a través de la hiperglicemia materna y según el genotipo materno (33).

Recordemos ahora que MODY2 aparece en cada generación, esto significa que los individuos afectados son hijos de padres previamente afectados (excepto en mutaciones *de novo*, que son nuevas mutaciones que ocurren en una célula germinal y entonces se transfieren a uno de los miembros de la progenie) y el descendiente de un padre afectado tiene un 50% de probabilidades de nacer con el defecto. Cuando los dos progenitores son portadores de mutaciones en el gen *GK* la probabilidad se eleva al 75%. Los grupos étnicos más afectados son caucásicos (con una

distribución de 12.5% entre familias las británicas y 63% en familias francesas) y asiáticos, también isleños del Océano Pacífico, siendo poco frecuente el hallazgo de obesidad, así como de complicaciones. MODY2 podría representar alrededor del 12.5% de todos los tipos de MODY. Es importante señalar que los pacientes con mutaciones en el gen *GK* presentan hiperglicemias moderadas, con desarrollo esporádico de las complicaciones y controlan fácilmente la glicemia con dieta, esto hace pensar que este subtipo de diabetes podría ser más frecuente de lo que se diagnostica (36,37).

Los pacientes con MODY2 principalmente son caucásicos y rara vez japoneses, no tiene predominio por sexo, la obesidad es poco frecuente. Estos pacientes tienen una tasa de secreción de insulina deficiente cuando los niveles de glicemia se encuentran entre 126 y 144 mg/dL, pero la concentración de insulina aumenta con glucosas por arriba de 144 mg/dL, en forma más significativa que en los MODY1 y MODY3, aunque menor que los controles. También se encuentra una respuesta normal a secretagogos, lo que permite intentar el tratamiento farmacológico con hipoglicemiantes orales (36).

En el gen de la glucoquinasa (*GK*) se encontró la mutación pAla208Thr, estudiando una familia con Diabetes Mellitus tipo MODY 2 que predomina en Europa, haciendo uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para secuenciar los productos del gen. La misma mutación se observó en un primo de un paciente que a su vez mostró niveles elevados de glucosa (142mg/dL), y además su hemoglobina glicosilada era mayor del 6.0 % y la misma mutación estaba ausente en otro primo quien también participó en la investigación junto con su hermana. Ambos, al momento del estudio gozaban de buena salud. Al buscar esta mutación en personas que no tuvieran ningún tipo de parentesco con el paciente se determinó que todos los integrantes de este grupo carente de lazos sanguíneos carecían de la mutación (52).

MODY relacionado con mutaciones en el gen *HNF-1 alfa* (MODY3)

Esta variedad se asocia a mutaciones en el gen *HNF1 alfa* que codifica el factor nuclear de hepatocitos 1 alfa y se caracteriza por un defecto primario de la secreción de insulina. Se ha estudiado el papel del factor HNF1 alfa en la regulación de la función de la célula beta pancreática. El HNF1 alfa es el factor de transcripción del gen de la insulina. Las formas mutantes de la enzima tienen un efecto dominante negativo sobre la actividad de la copia normal del gen y se asocian con una disminución de la expresión del ARNm de insulina (36).

La expresión de los genes involucrados en el transporte y el metabolismo de la glucosa incluyen el transportador de glucosa número 2, más conocido como GLUT 2 y la piruvato quinasa tipo L, los cuales también son regulados por el factor HNF1 alfa. La pérdida de la función del HNF1 alfa causa defectos severos en las respuestas secretoras de insulina debidas a la presencia de glucosa y de la leucina. El factor HNF1 alfa es una proteína que se expresa en el hígado, el intestino, el estómago, el riñón y el páncreas. Se ha identificado hasta el momento más de 80 mutaciones distintas. La forma funcional del factor HNF1 alfa es un dímero, un homodímero o heterodímero, con la proteína HNF1 beta estructuralmente relacionada que activa la transcripción de los distintos genes. El HNF1 alfa está compuesto de 3 dominios funcionales: uno amino, el dominio de dimerización terminal (que contiene los aminoácidos 1-32), un dominio de unión-ADN (con los aminoácidos 150-280) y un dominio de transactivación carboxilo-terminal (que incluye los aminoácidos 281-631). La mutación P291fsinsC-HNF es la más comúnmente identificada en pacientes con MODY3. La expresión de la mutante P291fsinsC en las células beta de ratón resultó en una inhibición del 40% de la actividad endógena del factor HNF1 alfa. Esto sugiere que la mutación del P291fsinsC-HNF1 alfa funciona como una mutación dominante negativa. Sin embargo, otras mutaciones como las del promotor y del dominio de dimerización, pueden ocasionar la pérdida de la función del factor HNF1 alfa y pueden llevar al trastorno en la síntesis o secreción de insulina por mecanismos diferentes. El gen *HNF1 alfa* está localizado en el cromosoma 12q24.2. Este gen regula, entre otros, la transcripción del gen de la insulina. MODY3 predomina en los grupos étnicos caucásico y japonés, la edad más frecuente del diagnóstico es la pospuberal y la hiperglicemia es progresiva y severa. La obesidad no es común y representa la forma más frecuente de MODY3 con el 65% de todas las formas de MODY descritas hasta el momento. La severidad de la hiperglicemia requiere control con insulina e hipoglicemiantes orales y las complicaciones vasculares y neuropáticas son comunes. El porcentaje de distribución entre las familias MODY británicas es de 65%, mientras el porcentaje de las familias MODY francesas es de 21%. En el año 1990 se tamizó el genoma en familias francesas en las cuales la enfermedad no fue explicada por mutaciones en MODY1 o MODY2. En aproximadamente el 50% de estas familias francesas la diabetes estaba ligada a la presencia de marcadores ubicados en los microsatélites del cromosoma 12q, estableciendo el tercer locus genético de este tercer tipo.

Yamagata y colaboradores (1996) mapearon MODY3 en el cromosoma 12q24.2. Inicialmente fueron descritas nueve mutaciones del factor HNF1 alfa (P291fsinsC, P379fs del CT, T547E48fs del TG, R131Q, P447L, IVS5nt-2AG, y IV59nt+1GA). Con nuevas las nuevas investigaciones realizadas, más de 100 mutaciones del factor HNF1 alfa han sido descritas.

Frayling y colaboradores (1997) encontraron que 70% (11 de 15) de las familias con MODY que viven en el Reino Unido mostraron mutaciones del gen *HNF1alfa*. Además, el 6% (2 de 32) de los pacientes que se diagnosticó con diabetes no insulino dependiente de inicio temprano, tuvieron mutaciones en el gen *HNF1alfa*. Hansen y colaboradores (1997) describieron mutaciones del gen *HNF1alfa* en el 56% (5 de 9) de las familias MODY danesas. En el 26% (9 de 35) de las familias MODY norteamericanas y finlandesas, la herencia fue ligada al gen *HNF1 alfa*. No hay evidencias que sugieran que las mutaciones en el *HNF1alfa* contribuyan al inicio tardío de la Diabetes no insulino dependiente (NIDDM) asociada a obesidad. Existe un bajo umbral renal para la glucosa en pacientes diabéticos con mutaciones del gen *HNF1 alfa*. Las observaciones más tempranas de glucosuria con niveles de glucosa normales en algunas familias MODY hacen pensar en una manifestación renal adicional. Mezel et al (1998) midieron el umbral renal para la glucosa en cinco portadores diabéticos de la mutación (Arg 272 Su) en el gen *HNF1 alfa* y los compararon con aquellos pacientes que eran diabéticos insulino dependientes. Se encontró que el umbral renal para la glucosa bajó en pacientes con mutaciones en el gen *HNF1 alfa*, comparados con aquellos pacientes diagnosticados con Diabetes tipo 1. Este umbral bajo para la glucosa puede ser una indicación de un efecto extra pancreático de las mutaciones en el gen *HNF1 alfa* (36).

Se ha reportado una sensibilidad incrementada a las sulfonilureas en aquellos pacientes con mutaciones en el gen *HNF1 alfa*. Los pacientes con mutaciones en el gen *HNF1 alfa* se ha reportado que son extraordinariamente sensibles a los efectos hipoglicemiantes de las sulfonilureas (33).

Los casos de diabéticos *HNF1 alfa* MODY son más sensibles a las sulfonilureas que los pacientes con diabetes tipo 2 y esto se ve en familias que han sido afectadas con mutaciones diferentes. Éste es un ejemplo de aplicación de la farmacogenética en una patología cuya etiología es subyacente a un defecto genético que altera la respuesta farmacológica al tratamiento (33).

De otro estudio realizado se desprende que la diabetes asociada a la presencia del gen *HNF1 alfa* por medio de una vía de señalización glicolítica que va a ser defectuosa en las células beta, podría corregirse usando los sustratos que corrigen el defecto (44).

Mutaciones en el factor promotor del gen de la insulina 1 (MODY4)

En esta variedad de MODY se describió una mutación en el factor promotor del gen de la insulina (*IPF1*) localizado en el cromosoma 13q12.1. Este gen es importante para la regulación de la transcripción de la insulina y de la organogénesis pancreática. Mutaciones en el gen *IPF1* pueden contribuir también a la susceptibilidad para desarrollar diabetes tipo 2. Los estudios hechos en ratones han mostrado que la mutación del gen *IPF1* produce agenesia del páncreas o retrasos en el desarrollo pancreático del feto. En los estudios realizados en humanos se han identificado las mutaciones en el gen *IPF1* las cuales producen diabetes tipo MODY cuando el gen afectado se encuentra en estado heterocigoto es decir, cuando una sola copia del gen es la afectada y además causan problemas de agenesia pancreática cuando el gen se encuentra en su estado homocigoto ya que ambas copias del gen están mutadas (33).

Se considera que MODY4 tiene un menor riesgo de presentar complicaciones crónicas comparado con los subtipos MODY1, MODY3 y MODY5. La edad del diagnóstico se realiza generalmente en adultos jóvenes y representa por lo menos el 1% de todos los casos MODY. Un nuevo sitio fue localizado en el cromosoma 7, conocido como D7Mit189 mediante estudios realizados con ratones y se observó la aparición temprana de casos de MODY4, la cual fue asociada a una disminución de la secreción insulina por parte los islotes pancreáticos, sin otros cambios relativos en las diferentes áreas de este tejido (33).

Mutaciones del gen que codifica la insulina (INS)

Existen variaciones genéticas en este gen que aparecen como repeticiones en tandem y los SNP pueden jugar un papel importante en la susceptibilidad para el desarrollo de la Diabetes Mellitus tipo 1 y 2. Dicha mutación se ubica en el cromosoma 11. El gen codifica un precursor inactivo llamado pre-proinsulina, el cual se transforma en pre-insulina al eliminarse un péptido señal. La pre-insulina cambia a insulina cuando se remueve el péptido C, encargado de unir dos las cadenas polipeptídicas que conforman la molécula madura y activada de la hormona, denominadas A y B que son codificadas por los exones 3 y 2 respectivamente (63,64).

El número variable de repeticiones en tandem (VNTR) de clase III presentes en éste gen puede tener un impacto sobre el peso al nacer y la susceptibilidad hacia la Diabetes Mellitus tipo 2. Se ha encontrado que existe evidencia de transmisión, exclusivamente por la vía paterna de los alelos que

muestran tales repeticiones. Estos hallazgos involucran a estos genes en la patogénesis de la Diabetes Mellitus tipo 2 (65).

Existen mutaciones de la insulina que afectan la posición del aminoácido fenilalanina en la cadena B de la insulina, específicamente en las posiciones 24 ó 25, que están asociadas con la diabetes. Todos los pacientes mostraron la hiperglicemia típica de la diabetes junto con una hiperinsulinemia marcada, típica de la resistencia a la insulina (66).

Mutaciones en el gen del receptor de la insulina (*INSR*)

Se relacionan con la aparición de formas raras de diabetes y pueden tener un papel importante en la susceptibilidad de padecer Diabetes Mellitus tipo 2. El receptor es un dímero formado por dos subunidades de polipéptidos diferentes. La subunidad alfa es extracelular y la beta es la porción intracelular y de transmembrana, ambas subunidades las codifica el gen *INSR*, ubicado en el cromosoma 19. El receptor tiene además dos variantes o isoformas, que son producto de “splicing alternativo” del cromosoma 11 y se definen como tipo a y b (46).

Ciertas variantes del receptor de la insulina se han asociado con hiperglicemia y Diabetes Mellitus tipo 2. Una mutación heterocigota cambia la valina de la posición 985 por una metionina y fue la variante más común encontrada en diabéticos tipo 2, cuya prevalencia aumentó de forma concomitante con los niveles séricos de glucosa, sugiriendo un papel para esta variante del receptor como un factor de riesgo importante para el desarrollo de la Diabetes Mellitus tipo 2 (49, 50).

Relacionado con mutaciones en el factor nuclear hepatocitos 1 beta (*MODY5*)

La presentación de la enfermedad está determinada por la mutación en el factor nuclear de hepatocitos 1 beta (*HNF1 beta*) que se localiza en el brazo q21.3 del cromosoma 17. Al igual que otras variedades de *MODY*, el diagnóstico se realiza antes de los 25 años, y se caracteriza por un defecto en la secreción de insulina. *MODY5* puede representar alrededor del 1% de todos los casos *MODY*. Nuevamente, los experimentos en ratones han demostrado que el ARNm del factor *HNF-1beta* se expresa en los islotes pancreáticos y se sugiere que funciona junto a *HNF1 alfa* como un heterodímero para regular la expresión de distintos genes en distintos tejidos, particularmente en el páncreas y el riñón. Las mutaciones en el gen *HNF1 beta* se asocian a un mayor riesgo a desarrollar

enfermedad renal severa. El gen *HNF-1beta* se localiza en el cromosoma 17 en el humano y en el cromosoma 11 en el ratón (41).

Además de los efectos sobre la célula beta, la deficiencia de los factores HNF1 alfa y HNF1 beta afectan la función y la organogénesis del riñón. Los pacientes con mutación en HNF 1alfa (es 1alfa o 1beta) parecen tener un umbral más bajo para la eliminación de glucosa (que normalmente se considera de 180 mg/dL), lo cual indica que estos pacientes pueden presentar glucosuria más tempranamente que el resto de los diabéticos y como consecuencia, la presentación de complicaciones de dicha alteración en un tiempo menor. La mutación R177X en el gen *HNF 1beta* se asocia frecuentemente con nefropatía y el eventual requerimiento de insulina para el control de la glicemia, y lo mismo sucede con la retinopatía diabética proliferativa. Se han descrito también otras alteraciones como la aplasia vaginal y la formación de un útero rudimentario en dos mujeres de nacionalidad japonesa (42).

Recientemente se describió una alteración en la génesis de la nefrona en un feto de 18 semanas, donde se identificó una mutación en el gen *HNF 1beta*, otros casos revisados presentaban además una reducción en el número de nefronas, con hipertrofia de las nefronas restantes (43).

En un segundo reporte se describió la mutación A263fsinsGG del gen *HNF1 beta* que se encontró en una familia, la cual fue asociada con la presencia de quistes renales en los miembros portadores de la mutación del gen *HNF1 beta*. El rango de edad de la aparición de la enfermedad fue muy amplio, de los 14 hasta los 61 años. La mayoría de los miembros afectados desarrollaron también hipertensión arterial e insuficiencia renal crónica. Estos dos informes sugieren que el factor HNF1 beta es importante para el desarrollo normal de la nefrona en los fetos de origen humano y cuando se presenta una mutación esta tiene como consecuencia el desarrollo de enfermedad renal progresiva (46).

Mutaciones en el factor de transcripción NEUROD1/Beta2

El gen del factor de transcripción NEUROD1 contiene dos exones y ha sido mapeado en el cromosoma 2q32. El factor de transcripción NEUROD1 es una proteína que regula el desarrollo pancreático. Malecki y colaboradores (1999) describieron dos mutaciones en el factor de transcripción NEUROD1 las cuales están asociadas con el desarrollo de la diabetes tipo 2 y presentan un genotipo heterocigoto (41).

La primera es una mutación sin sentido (R111L) del dominio de unión al ADN y la segunda es la inserción de una citosina en un tracto de poli C en el codón 206 del exón 2 (designada con la nomenclatura 206+C). Cuando la mutación se manifiesta se produce un cambio en el marco de lectura y genera un polipéptido truncado el cual carece del dominio de transactivación carboxilo terminal, que se asocia con los coactivadores CBP y p300. Las mutaciones en el gen *NEURODI* producen una diabetes de moderada a severa y en ésta las edades de aparición son variables (41,44).

De las dos familias con mutaciones en el gen *NEURODI*, una de ellas es portadora de la mutación 206+6 y tiene un fenotipo similar al que se produce por efecto de las alteraciones en el gen *HNF1 alfa* (edad de aparición temprana, ausencia de obesidad y secreción de insulina conservada) y todos los afectados tienen niveles bajos de insulina sérica, dos de ellos además reciben tratamiento con insulina y sus niveles de péptido C son indetectables, lo que indica la ausencia de producción de insulina endógena activa. La segunda familia era portadora de la mutación R111L y se diagnosticó a edades entre los 30 y los 59 años. Todos los portadores de la mutación en esta familia eran obesos (138% en relación al porcentaje ideal) y tenían niveles relativamente altos de insulina sérica en ayunas y altos niveles de la misma dos horas después de haberse sometido a una prueba de glucosa oral (41).

Mutaciones del gen que codifica la Calpaína 10 (CAPN10)

La calpaína es una cisteína proteasa activada por calcio. Una variación de la región no codificante es decir, en el intrón del gen *CAPN10*, se encuentra a nivel del cromosoma 2 y es conocida como NIDDM1, su presencia se asocia con un riesgo tres veces mayor de desarrollar diabetes tipo 2 en dos poblaciones; la primera es México-americana, en Texas y la otra se ubica al norte de Europa, en Finlandia. Se estima que un 14% de los pacientes diabéticos en esta población estarían sanos en ausencia de la variante de alto riesgo ya mencionada. Dicha variante genética tiene la capacidad de alterar la secreción y la acción de la insulina, y también afecta la producción de glucosa por el hígado (47,53,54).

Está documentado en la literatura la existencia de un polimorfismo encontrado en el tercer intrón del gen, clasificado como UCSNP-43, el cual fue asociado con la diabetes tipo 2. Al tratarse de un intrón, no afecta directamente las regiones codificantes de algunas isoformas del gen. El polimorfismo se comporta de forma homocigota y se ha comprobado que reduce los transcritos totales del gen *CAPN10*, y esto coincide con la resistencia a la insulina que se observa en el músculo esquelético (47).

Mutación en gen del receptor de sulfonilurea (*ABCC8* o *SUR 1*)

Las sulfonilureas son medicamentos usados para el tratamiento de la diabetes tipo 2, su receptor se ubica en las células beta del páncreas las cuales se encargan de estimular la liberación de insulina. El receptor es codificado por el gen *ABCC8*, que está ubicado sobre el exón 16 y muestra una variación genética que cuando se hace presente es la encargada de afectar la liberación de insulina, ocasionando una forma extremadamente rara o un subtipo de diabetes, cuya herencia es autosómica dominante y se ha observado en familias finlandesas y es una variante heterocigota (E1506K) (47, 55, 56).

Existen dos genes que codifican el receptor de la sulfonilurea 1, los cuales son denominados *ABCC8* y *KCNJ11*, estos regulan además el canal de potasio sensible al ATP de las células beta, y controlan la secreción de insulina. La hormona se secreta cuando al metabolizarse la glucosa en la célula beta, primero se produce el ATP, luego ingresa el calcio y, seguidamente por despolarización de membrana, es que se libera la insulina. Los polimorfismos de estos genes tienen una relación variable con respecto al desarrollo de Diabetes Mellitus tipo 2. No se obtienen los mismos resultados para los exones 16 y 18 en el gen *ABCC8*. Lo anterior demuestra que los estudios que se realizan a gran escala son importantes para poder identificar cuales alelos definen la susceptibilidad a la diabetes, como se obtuvo en una cohorte realizada en el Reino Unido (55, 56).

El canal de potasio de las células beta está codificado por el gen *KCNJ11*, presente en el cromosoma 11, cuyas mutaciones se relacionan con alta o baja liberación de insulina debida una menor actividad del canal. Dicha alteración está relacionada con la diabetes neonatal permanente en humanos, lo cual es importante pues se sabe que estas mutaciones del gen *KCNJ11* participan en hasta un 50 por ciento de la diabetes neonatal y afecta a la subunidad kir 6.2 del canal de potasio causando una mutación heterocigoto (47, 57). Este polimorfismo es considerado un fuerte candidato para establecer la patogénesis de la Diabetes Mellitus tipo 2 (55, 56).

De los tres polimorfismos encontrados en el gen *KCNJ11*, llamados; L270V, I337V y E23K, se observa que en los pacientes caucásicos solo la variante polimórfica E23K, aumenta el riesgo de padecer Diabetes Mellitus tipo 2. Dicha variante es causada por un cambio de adenina a guanina, ocasionando una sustitución de ácido glutámico (E) por lisina (K) en el codón 23, como resultado el canal de potasio será menos sensible al ATP, inhibiéndose la liberación de insulina, ya que el canal estará abierto y para cerrarse, lo cual permite liberar la insulina, se requieren niveles mayores de ATP. Lo anterior se obtiene de múltiples estudios de las variantes de ADN. El genotipo

homocigoto KK de la variante E23K es el que influyó más en la baja liberación de insulina por las células beta en presencia de glucosa y se le considera un factor de susceptibilidad para el desarrollo de diabetes tipo 2 (42,43). La elevada frecuencia alélica de la variante E23K le confiere un gran efecto sobre el riesgo atribuible a la población bajo estudio. Siguiendo con el gen *KCNJ11*, al analizar la variante E23K, se descubren dos polimorfismos más que también generan riesgo en el desarrollo del tipo de diabetes estudiado, los cuales se denominan SNP 74 y 76. Según los estudios realizados *in vitro* utilizando líneas celulares que sean capaces de expresar la variante E23K, se confirma la importancia que implica esta alteración en el riesgo de Diabetes Mellitus tipo 2, al afectar la secreción de insulina (44,48).

El efecto diabetogénico de tener los polimorfismos I337V y E23K puede causar un efecto estimulante en los canales de potasio polimórficos, en respuesta a los niveles endógenos de las cadenas largas de Acil CoA presentes en los tejidos encargados de controlar la homeostasis de la glucosa, puesto que se inhibe la secreción de insulina debido al acúmulo de dichas cadenas sobre las células beta (55).

Se han encontrado otros polimorfismos que se encuentran muy relacionados con la Diabetes Mellitus tipo 2, los cuales fueron hallados en el gen *ABCC8* y se trata de dos variantes intrónicas denominadas SNP79 y SNP81; más otra mutación sin sentido, la A1369S. En el polimorfismo SNP87 (K649) del gen *ABCC8*, se encuentra un riesgo aumentado de padecer Diabetes Mellitus tipo 2, asociado con reducción en la secreción de insulina (34,46). Hay evidencia de una fuerte asociación alélica entre el polimorfismo E23K y la mutación A1369S, que está ubicada en el gen cercano *SURI*, lo cual complica definir cual gen y cual polimorfismo es el que realmente predispone al desarrollo de la Diabetes Mellitus tipo 2 (56).

Por su parte, la variante SNP84 presenta igualmente un riesgo aumentado con respecto al tipo de diabetes en estudio y está relacionado con un aumento en el índice de masa corporal. De forma semejante, la variante polimórfica E23K fue asociada con una liberación alterada de insulina en respuesta a los niveles de glucosa, así como con un aumento en el índice de masa corporal (34,48).

Gen *IPF1*

Tiene por función codificar el factor de transcripción promotor de la insulina 1 y es capaz de unirse a un promotor del gen de la insulina. Una deleción homocigota en un único par de bases en este gen se observó en un paciente que padecía agenesia pancreática. La misma mutación pero en su

forma homocigota fue encontrada en personas con Diabetes Mellitus de aparición temprana. Al inicio se afirmó que una alteración en el marco de lectura truncaba la proteína en la dirección corriente arriba del dominio. Por otro lado, se descubre la presencia de un sitio alternativo de iniciación de la traducción del gen, dándose un segundo producto sin la región N terminal que sí se encuentra en la proteína salvaje, entonces al faltar la región N Terminal, se afectaría la activación transcripcional (52).

C) Genes candidatos para el desarrollo de síndrome metabólico

Gen *FABP 2* y su efecto protector

Es un gen importante en la regulación del metabolismo de los ácidos grasos y además se le ha implicado en el desarrollo de la diabetes y de resistencia a la insulina en Indios Pima por medio de estudios de mapeo genético. La variante de secuencia T54A se ha relacionado con la resistencia a la insulina, con la obesidad, la hipertrigliceridemia y la hipercolesterolemia en algunas poblaciones estudiadas. En los modelos transgénicos en los que el gen se inactiva, se presenta una protección contra la resistencia debido al acúmulo de grasa y protege también contra la aparición de las placas de ateroma. Otra isoforma de las FABP es la llamada Mal1 (FABP de los queratinocitos o epidídimo) que muestra una función similar a la FABP2. La inactivación simultánea de ambos genes trae varios beneficios; reduce las masas de grasa, causa un aumento notable de la sensibilidad a la insulina, reduce la producción hepática de glucosa, mejora perfil lipídico y baja la presión arterial.

Genes que afectan la sensibilidad a la insulina

Genes *PPAR* (alfa, beta, gamma)

Codifican las tres formas de los receptores activadores de la proliferación peroxisomal y están vinculados al desarrollo de obesidad y de la Diabetes Mellitus tipo 2, mediante estudios de mapeo genético. En especial la variante de secuencia P115G del gen gamma se ha relacionado con el desarrollo de obesidad mórbida y la variante P12A representa un riesgo disminuido a desarrollar Diabetes Mellitus tipo 2 en una población de Bosnia. El polimorfismo Pro12Ala se ha asociado con un mayor riesgo de obesidad y con mayor índice de cintura/cadera (ICC). Varios estudios lo han relacionado con bajo índice de masa corporal, y con una mejor sensibilidad a la insulina. La variante K121G del gen de una glicoproteína de membrana (PC1) está asociada con la resistencia a la insulina y con el síndrome metabólico (34,35,37).

Los sustratos del receptor de la insulina (IRS), numerados del 1-8, transducen la señal de la insulina por medio de cascadas de fosforilación. Los polimorfismos del gen *IRS 1* se han asociado con Diabetes Mellitus tipo 2 (34,36).

El PGC-1 es una proteína nuclear la cual se involucra en el metabolismo oxidativo que tiene lugar en la mitocondria. PGC-1 es coactivadora del factor de transcripción PPAR gamma. Se han identificado dos subtipos el *a* y el *b*. El subtipo *a* se descubrió como un gen termorregulador en el tejido adiposo café y posteriormente se demostró que interviene en múltiples etapas de diversos procesos metabólicos como la biogénesis mitocondrial, la oxidación de los ácidos grasos y de la gluconeogénesis. El PGC-1 participa en la expresión de los transportadores de glucosa (GLUT-4) y en la gluconeogénesis hepática. Recientemente se ha descrito que el polimorfismo Gly482Ser también tiene relación con el riesgo de padecer Diabetes Mellitus tipo 2 (35).

D) Mutaciones que indirectamente producen resistencia a la insulina

Mutación del gen del receptor de glucagón

Además de elevar los niveles de glucosa vía glucogenólisis o gluconeogénesis hepática, el glucagón promueve la liberación de ácidos grasos del tejido adiposo para llevarlos al hígado, donde por medio de beta oxidación se forman los cuerpos cetónicos, que serán usados como fuente alterna de energía en ausencia de glucosa. El receptor del glucagón es parte de una familia de receptores de transmembrana. Recibe el glucagón que está fuera de las células, activándose mediante cambio conformacional para producir AMPc, causando la fosforilación de dos enzimas que degradan el glucógeno por estimulación de la enzima proteínquinasa A e inhibiendo su síntesis (34).

Hay evidencia de una mutación sin sentido en el gen del receptor, mediante la cual se genera una baja sensibilidad de los tejidos en presencia de glucagón y la aparición de la diabetes tipo 2. Específicamente se trata de un cambio de glicina por serina, una mutación de la forma heterocigota, la cual está relacionada con la aparición tardía de Diabetes Mellitus no insulino dependiente, tanto en franceses como en pobladores de la isla de Sardinia, en Italia. La ubicación exacta de la mutación se da en el exón 2 y daña una porción extracelular del receptor, lo cual reduce tres veces más la afinidad del glucagón, comparado con el receptor cuando está inalterado y funciona normalmente. Además se disminuye la producción del AMPc y la secreción de la insulina, en respuesta al estímulo del glucagón (34,43).

CAPÍTULO II

VENTAJAS E INCONVENIENTES DEL DIAGNÓSTICO DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 2 EN COSTA RICA

El Lic. Gerardo Jiménez Arce, quien labora en la sección de Biología Molecular del Centro de Investigación en Hematología y Trastornos Afines (CIHATA), considera como única ventaja el diagnóstico molecular desde el punto de vista de las patologías que se producen como consecuencia de la Diabetes Mellitus tipo 2, ya que conociendo la predisposición a la diabetes, se puede evitar que el paciente evolucione al grado de padecer alguna de las patologías de fondo asociadas. Como desventaja menciona el alto costo que, de realizarse este tipo de diagnóstico, implicaría para la institución.

Se cuenta en el país con el personal debidamente preparado para trabajar con los equipos que para realizar el diagnóstico se requieran, lo cual no hace necesario traer profesionales de otros países para empezar a usarlos una vez adquiridos.

Se puede implementar el diagnóstico a partir de las mutaciones en donde se encuentre semejanza por ejemplo a nivel de grupos étnicos, ya que tendrá más impacto identificar aquellas más frecuentes en poblaciones de raza blanca, predominante en nuestro país, con respecto a las propias de negros, asiáticos, entre otros. De igual forma, se puede investigar según la edad de los pacientes para establecer cual es el patrón de comportamiento en donde se tiene una mayor predisposición de padecer Diabetes Mellitus tipo 2.

En la entrevista realizada a la Dra. Adriana Laclé, funcionaria del Instituto de Investigaciones en Salud (INISA), ella expresó que como todo caso de salud pública, debe orientarse hacia la atención de la población general. El objetivo es básicamente la prevención, realizando estudios en aquellas personas que presenten un alto riesgo o predisposición de padecer diabetes, ya sea en un futuro cercano o a largo plazo.

Según la Dra. Laclé, los inconvenientes para realizar este tipo de diagnóstico molecular son: los elevados costos que implica realizar un tamizaje, haciendo uso de la reacción en cadena de la polimerasa o PCR. Mientras lo anterior se soluciona, por ahora se está realizando un tamizaje preventivo de la población, identificando primero cuales son los grupos de riesgo, para después dar paso a las intervenciones que se requieran. Por ejemplo, se ha logrado obtener una reducción importante con respecto al grupo de riesgo número 1 establecido por la Asociación Americana de

Diabetes, que es la intolerancia a la glucosa, lo cual se ha logrado determinar aplicando pruebas de tolerancia en ayunas y dos horas post carga. Como resultado se redujo la incidencia de la intolerancia a la glucosa entre 40-50%.

Las ventajas a futuro se van a dar si se realiza un trabajo integrado que abarque por un lado el enfoque nutricional relacionado con el estilo de vida y la actividad física ya que estos patrones de comportamiento se traducen en factores predisponentes de obesidad y en consecuencia, conducen también a la posterior aparición de la Diabetes Mellitus tipo 2. De la mano de la nutrición se cuenta con la genética. Según la experiencia de la Dra. Laclé, las mutaciones que se mantienen actualmente bajo investigación, son originadas a raíz de la alimentación excesiva que desde hace varios años se viene dando en Costa Rica, así como en otras latitudes.

Otro obstáculo es el sesgo que se manifiesta a nivel de género en la población costarricense. La causa es el desinterés de los varones por acudir a los centros de salud para someterse al control de la glicemia, puesto que rara vez los hombres participan de estas actividades. Es probable que exista un porcentaje aún mayor de hombres que estén a riesgo de padecer la Diabetes Mellitus tipo 2 con respecto a las estadísticas actuales.

Al estudiar las mutaciones que representen una mayor influencia para el desarrollo de la Diabetes Mellitus tipo 2 podrá asignársele a cada una de esas alteraciones un valor predictivo el cual refleje o indique cual es el riesgo asociado en cada caso particular.

Otra limitante es la ingeniería masificada necesaria para hacer un buen tamizaje a nivel de Diabetes Mellitus tipo 2.

Personalmente considero que existe suficiente información sobre la fisiopatología y la bioquímica relacionadas con el riesgo de padecer Diabetes Mellitus y gracias a que se conoce tan bien el metabolismo de la glucosa se tiene entonces una base para poder investigar cuales son los puntos importantes de su desarrollo capaces de generar las mutaciones asociadas con la aparición de la Diabetes Mellitus tipo 2.

Además, con el avance en las investigaciones sobre el genoma humano, se abre una puerta para que cada vez sea mayor la aplicación de las herramientas genéticas para el diagnóstico molecular.

Si bien es cierto dichas tecnologías van a implicar una inversión inicial, por otro lado los centros de salud y sobre todo la Caja Costarricense de Seguro Social (CCSS) ya no tendrá que dirigir sus

recursos al tratamiento de los casos de ceguera o de las microangiopatías que se presentan como la insuficiencia renal, dado que habrá una menor incidencia de macroangiopatías, como la muerte por cardiopatías, ya que tratando la causa subyacente conociendo de antemano la predisposición de los pacientes hacia el desarrollo de las diversas complicaciones asociadas a la Diabetes Mellitus tipo 2 estas no se van a presentar con la misma magnitud. Lo anterior incide en una mejora en la calidad de vida de una enfermedad que *per se* ya es degenerativa a largo plazo.

Relacionado con lo anterior, si bien las metodologías nuevas de diagnóstico al inicio van a ser más costosas; con el paso del tiempo se empezarán a reducir los gastos destinados a la compra de reactivos y de mantenimiento del equipo, tal como ha sucedido con las técnicas de ELISA, para citar un ejemplo.

CAPÍTULO III

FACTIBILIDAD DEL DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 2 EN CENTROS DE INVESTIGACIÓN EN COSTA RICA

El Lic. Gerardo Jiménez opina al respecto que en nuestro país no es factible el diagnóstico molecular, debido a que la Diabetes Mellitus está bien controlada y se cuenta además con el tratamiento adecuado para los pacientes afectados, otra limitante que se menciona es que la clínica que caracteriza a la Diabetes Mellitus está bien caracterizada.

Para la Dra. Laclé, es perfectamente factible realizar el diagnóstico molecular de la Diabetes Mellitus tipo 2, principalmente una vez lograda una verdadera disminución en los costos, que a su criterio es el obstáculo principal en la actualidad. Considera además la importancia de estudiar las mutaciones a nivel de grupos étnicos que sean más afines con la población costarricense, basándose en poblaciones de hispanos, sobre todo en las etnias México-americanas, siendo característico el caso de los indios Pima que ha sido bastante estudiado hasta el momento.

En mi opinión es importante recordar la información que se registra en Costa Rica, donde la prevalencia de la obesidad en adultos es del 31%. Además de los últimos estudios realizados sobre nutrición los cuales muestran que el sobrepeso y la obesidad se manifiestan desde edades tempranas y que su magnitud aumenta con la edad hasta alcanzar el 75% en la mujer adulta (23). Por otro lado, durante los años 2000 y 2001, según un estudio realizado en con la participación del Instituto de Investigaciones en Salud (INISA), el Ministerio de Salud y la Universidad Nacional, se determinó la prevalencia del sobrepeso y la obesidad en escolares de nivel primario. Los resultados revelan una prevalencia del sobrepeso del 34,5%. Por lo tanto, analizando los antecedentes estadísticos mencionados sobre el aumento de la obesidad y la diabetes, se hace necesario realizar un diagnóstico a nivel molecular, teniendo en cuenta por ejemplo, las consecuencias ocasionadas por causa de este padecimiento, como las retinopatías, la ceguera y el daño renal, que conducen al desarrollo de microangiopatías (27).

Si se compara la calidad del diagnóstico que se obtiene mediante los diferentes exámenes de Química Clínica, las técnicas de diagnóstico molecular van a ser más específicas, ya que distinguiendo dentro de las mutaciones encontradas, aquellas que presenten una mayor frecuencia en nuestro país, se logrará tratar los casos de diabetes con una mayor certeza y, lo que es más importante, se podrá evitar a tiempo el desarrollo de las patologías que la acompañan, como las ya citadas.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES

Las mutaciones asociadas con el desarrollo de la obesidad y la Diabetes Mellitus tipo 2, mencionadas en el Capítulo I, han sido identificadas utilizando en algunos casos ensayos realizados en ratones como se ha visto en el gen *Agouti* y el gen *ob*. Tales estudios, si bien es cierto brindan información importante, tendrían mucho más valor de complementarse con investigaciones en humanos; algo que sí se ha dado por ejemplo en el caso del gen *db* y los genes *UCP*. Los genes que presenten una mayor probabilidad de usarse en el diagnóstico preventivo, como sucede con el gen Beta 3AR, son más factibles por tener mutaciones pertenecientes a grupos étnicos que son sumamente afines con la población costarricense, como en el caso de los indios Pima y en las regiones México-americanas.

Debe existir una semejanza que permita establecer una correlación con nuestra población, ya que si las etnias estudiadas distaran mucho de las características nuestras, cualquier ensayo realizado tendría una menor validez y aplicabilidad. Por lo tanto, desde este punto de vista, las mutaciones como las ya mencionadas junto con otras variantes genéticas como la R230C que se encontró en el gen *ABCA1* tienen una alta probabilidad de ser usadas para llevar a cabo un buen diagnóstico preventivo de la Diabetes Mellitus que es el aspecto de mayor interés en esta revisión bibliográfica.

En el capítulo I se describieron las mutaciones más relacionadas con la resistencia a la insulina. Hasta el momento, en algunos de los estudios, la población investigada corresponde a franceses como sucede con el gen *GK*; también caucásicos y japoneses, poblaciones donde se encontró mutado el gen *HNF1 alfa*, lo cual impide hacer conclusiones con respecto a la población costarricense, dado que si se aplicaran los métodos de diagnóstico molecular para ubicar el defecto, probablemente existirán diferencias en la manifestación de la resistencia a la insulina y por lo tanto de la Diabetes Mellitus tipo 2. Lo más cercano a nuestra realidad proviene de los hallazgos que se encuentran en la literatura sobre estudios en familias estadounidenses, puesto que hay bastante semejanza entre las patologías de ambas regiones. Una mayor similitud se observa en el gen *CAPN 10* en las investigaciones realizadas en la zona México-americana de Texas y también en los indios Pima con respecto a la variante T54A del gen *FABP2*, además se cuenta con las investigaciones que se hicieron en las poblaciones europeas, manteniendo sin embargo una importancia secundaria.

La transmisión comprobada de las mutaciones por la línea paterna o materna es útil para tomar en cuenta esas alteraciones como genes candidatos para diagnosticar cual es el riesgo de padecer Diabetes Mellitus tipo 2 y sus complicaciones.

Las mutaciones observadas en el factor 1 promotor de la insulina son un claro ejemplo de cómo ayuda el encontrar inicialmente la presencia de defectos genéticos en modelos animales que funcionen de guía para posteriormente hallar, en los seres humanos, cuales cromosomas dentro de un mismo gen se ven afectados por mutaciones y que a la vez están cerca uno del otro. Lo anterior es importante porque deben descartarse aquellos polimorfismos que se encuentren muy cercanos dentro de un mismo gen, como sucede también con las mutaciones ubicadas en el gen *SUR1*, lo cual complica saber cual polimorfismo dentro de un mismo gen realmente predispone al desarrollo de la Diabetes Mellitus tipo 2.

Solo en algunas investigaciones como se ha visto en estudios del gen *NEUROD1/ BETA2* se le da importancia a la edad de las personas bajo estudio. Es un factor importante a considerar para asociar la mutación con el riesgo de resistencia a la insulina, estableciendo cuales van a ser los grupos etarios que tengan una mayor probabilidad de padecer en un futuro Diabetes Mellitus tipo 2 debido a la resistencia a la insulina, para seleccionarlos descartando las edades que no concuerdan para ahorrar tiempo, reactivos y resultados irrelevantes.

El tamaño de la muestra seleccionada es importante para que los polimorfismos detectados por PCR sean realmente representativos de la población que se investiga y tengan entonces una fuerte influencia sobre la aparición de la Diabetes Mellitus debido a la resistencia a la insulina; en otras palabras, que tengan potencial como genes candidatos.

Son útiles como genes candidatos aquellos en donde se pueda verificar que las mutaciones se repiten dentro de una misma familia y no solamente en un paciente, puesto que la herencia es un factor a considerar.

De las encuestas realizadas en los diferentes centros de investigación y que se describieron en el Capítulo II, se puede decir que la principal limitante por el momento es el factor económico, dado lo elevado de los costos que en la actualidad implica establecer el diagnóstico de la Diabetes Mellitus a nivel molecular.

A su vez se expresa como ventajoso el hecho de conocer de antemano cual es la predisposición que existe para el desarrollo de la Diabetes Mellitus para poder evitar el padecimiento de las graves complicaciones que esta implica, apoyando la opción de un manejo preventivo, basándose en la genética de las poblaciones. Otra ventaja es la posibilidad de hacer uso de investigaciones que se lleven a cabo bajo un enfoque integral desde dos perspectivas o áreas de trabajo, que son la nutricional y la genética, debido a que ambos factores están íntimamente relacionados, como lo sugiere la Dra. Laclé cuando se le entrevistó.

Sí se apoya la factibilidad de realizar el diagnóstico en los diferentes centros de investigación en Costa Rica, mencionando la importancia de estudiar las mutaciones existentes a nivel de aquellos grupos étnicos que sean más afines con la población costarricense, mediante lo cual es perfectamente posible el establecer el diagnóstico molecular de la Diabetes Mellitus tipo 2, principalmente una vez lograda una reducción real de los costos.

Debe valorarse además el hecho de que por el momento en nuestro país no se realiza todavía ninguna investigación a nivel molecular con respecto a la Diabetes Mellitus tipo 2 y con la información recopilada en esta revisión bibliográfica ya se cuenta con una base para dar inicio a las primeras investigaciones en nuestra población. Falta solamente voluntad en quienes tienen a su cargo el desempeño de las técnicas moleculares de diagnóstico en los centros de investigación aquí en Costa Rica.

BIBLIOGRAFIA

1. Martínez Calatrava, M^a; Martínez Larrad, M; Serrano Ríos, M (2003), Síndrome de resistencia a la insulina y síndrome metabólico: similitudes y diferencias. Disponible en: <http://www.crf.medynet.com/contenido/2003/2/index.htm>. Revisado el: 24/6/07
2. Odontologia-online (2006), Diabetes Mellitus. Revisión de la literatura. Disponible en: <http://www.odontologia-online.com/casos/part/LST/LST14/lst14.htm>. Revisado el: 7/10/07
3. Tietz, Norbert, Química Clínica Moderna, 1979, México, 1^{er} Edición.
4. Índice Diagnóstico y clasificación, (2005). Disponible en: http://www.diabetesjuvenil.com/documentos_html/dj_diagnostico_clasificacion_diabetes_mellitus_1.asp. Revisado el 12/3/05
5. American Diabetes Association (2005), Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. En línea: <http://care.diabetesjournals.org/misc/terms.shtml>. Revisado el 6/04/05
6. American Diabetes Association, Gestational Diabetes Mellitus, Rev. Diabetes Care, 2000, 23 (1).
7. Archivos de Medicina (2007), Microalbuminuria en diabetes tipo 2: signo de riesgo y oportunidad terapéutica. Disponible en: <http://www.archivosdemedicina.com>. Revisado el: 7/10/07
8. GeoSalud (2000), Evite los Problemas de la Diabetes: Mantenga Sano el Sistema Nervioso. Disponible en: <http://geosalud.com/diabetesmellitus/sistemanervioso.htm>. Revisado el: 7/10/07
9. Zonadiet, (2001). Cómo regula el apetito nuestro organismo. Disponible en: Barrueto Acuña, Karin *et al* Tratamiento farmacológico de la Diabetes Mellitus tipo 2. En línea: <http://escuela.med.puc.cl/paginas/publicaciones/TemasMedicinaInterna/ttodiabetes.html>. Revisado el: 14/04/05
10. Morelia Hernández, Dionelis Contreras, Nellys Dávila, *et al*, Nivel de información de la diabetes y complicaciones crónicas en pacientes controlados en el hospital I. Lagunillas, Mérida, Revista de Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes. 2001, 10 (1-4).
11. Rev Med Uruguay (1998). Alelos HLA-DQ y Diabetes Mellitus tipo 1 en Uruguay. En línea: <http://www.smu.org.uy/publicaciones/rmu/1998v3/art4.htm>. Revisado el 21/4/05

12. Doctor Jaime De la Hoz, Diabetes Mellitus y Cirugía. En línea: http://www.encolaboradoresombia.com/cirurgia14399_diabetes12.htm Revisado el: 27/3/05
13. Mora, E; *et al*, Actualización sobre Diabetes Mellitus, CCSS, Mayo 1990.
14. Monografias.com (2005), Diabetes, disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos11/diabe/diabe.shtml#des> Revisado el 30/05/2007
15. Monografias.com (2005), Diabetes, disponible en: www.monografiass.com/Salud/Enfermedades/more4.shtml Revisado el 30/05/2007
16. <http://www.zonadiet.com/alimentacion/regulacion-del-apetito.htm>. Revisado el: 7/10/07
17. eMedicineWorld Medical Library,(2005). Diabetes Mellitus, Type 2 - A Review. Disponible en: <http://www.emedicine.com/EMERG/topic133.htm>
18. Tietz, Fundamentals of Chemical Chemistry, 1976, Estados Unidos, 2da Edición.
19. Asociación para el Cuidado de la Diabetes en Argentina, Hemoglobina glicosilada, Disponible en: http://www.cuidar.org/miWeb11/_derived/hemoglobina_glicosilada.htm. Revisado el 30/05/07
20. Diabetes al día, Acerca de la hemoglobina glicosilada , Disponible en línea. http://www.diabetesaldia.com/todo_sobre_la_diabetes/ Revisado el 30/05/2007
21. Palau, A. Los genes de la obesidad, Rev. Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular. Departamento de Biología Fundamental y Ciencias de la Salud. Universidad de les Illes Balears. Campus UIB. Palma de Mallorca, 1998, 1 (6). 20 – 37.
22. V.M. Rodríguez, M.T. Maraculla, M *et al*. Papel de las proteínas desacoplantes en la obesidad. Disponible en: <http://www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol25/sup1/suple7a.html> Revisado el 6/07/07
23. Cannon B, Jacobsson A, Rehnmark S, Nedergaard J. Signal transduction in brown adipose tissue recruitment: noradrenaline and beyond. Int J Obes Relat Metab Disord (1996); 20: 36-42. Revisado el 6/07/07
24. Unidad de Endocrinología. Facultad de Medicina. U.L.A. (2001), Síndrome plurimetabólico o de resistencia a la insulina. En línea: <http://www.svmi.org.ve/eventos/jornada-oct2001/MED-P.htm>. Revisado el 17/05/05
25. Dra. Florinda Hermoso. Regulación ponderal y obesidad monogénica infanto-juvenil. Disponible en: http://www.aepap.org/apapcyv/derivacion_obesidad.pdf Revisado el: 13/6/07

26. MokDaad, A; Bowman,B; Ford, E; The Continuing Epidemics of Obesity and Diabetes In the United States, Rev JAMA. Vol 12, No 10.
27. Revista Cubana de Medicina Militar, (1997). Utilidad de la fructosamina en pacientes diabéticos.
 Disponible en línea:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S013865571997000100011&script=sci_arttext&tlng=es.
 Revisado el 13/06/07
28. Enciclopedia médica en español, (2005).Examen de microalbuminuria.
 En línea: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/003591.htm>
29. Enciclopedia médica en español (2005), Péptido C de insulina. En línea:
<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/003701.htm> .Revisado el 10/07/05
30. International Food Information Council, (2004). La Obesidad y el Manejo del Peso Corporal. Disponible en: <http://www.ific.org/sp/nutrition/obesity/index.cfm> .Revisado el 14/10/05
31. National Center for Chronic Disease (2003), Incidence Prevention and Health Promotion of Diabetes.Disponible en: <http://www.cdc.gov/diabetes/statistics/incidence/table3.htm>
 Revisado el 2/07/05
32. República de Costa Rica (2003), Política Nacional de Salud 2002 – 2006. Disponible en línea: <http://www.netsalud.sa.cr/poli0206/POLITICA.pdf> Revisado el: 3/07/05
33. Saavedra, Dolores; Orera, María Jiménez, Ana et al; Rev Esp Obes 2004; 2(5)
34. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura (2003), FAO/OMS presentan informe sobre dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas. Disponible en:
<http://www.fao.org/spanish/newsroom/news/2003/16851-es.html> Revisado el 30/10/05
35. Melzer et al; Effects of the diabetes linked *TCF7L2* polymorphism in a representative older population; BMC Med. 2006; 4: 34.
36. Robert Sladek, Ghislain Rocheleau, Johan Rung, *et al*; A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. Disponible en:
www.nature.com/nature/journal/vaop/ncurrent/abs/nature05616.html.Revisado el 12/02/07
37. Christopher J. Groves, Steven Wiltshire, Damian Smedley, *et al*; Association and Haplotype Analysis of the Insulin-Degrading Enzyme (IDE). Gene, a Strong Positional and Biological Candidate for Type 2 Diabetes Susceptibility. Disponible en:
<http://diabetes.diabetesjournals.org/misc/terms.shtml>. Revisado 24/05/2007

38. Organización Panamericana de la Salud (2004), Comunicado de prensa: Luchar contra la obesidad para prevenir la diabetes. Disponible en <http://www.paho.org/Spanish/DD/PIN/ps041112.htm>. Revisado el 14/10/06
39. Valencia Díaz, Ana (2005), Leptinas. Disponible en: http://www.biologiapucv.cl/p4_biol_pucv/site/artic/20050704/asocfile/ASOCFILE120050704011523.ppt. Revisado el: 16/06/07
40. Anales de Pediatría (2005), Diabetes Mellitus tipo 2 en la edad pediátrica. Disponible en línea: <http://db.doyma.es/cgi-bin/wdbcgi.exe/doyma/mrevista.fulltext?pid=13071318>
41. Corte Franco, Georgina (2001), Consideraciones sobre el estado nutricional del adulto mayor. Disponible en: <http://www.geragogia.net/editoriali/estadonutricional.html>. Revisado el: 17/06/07
42. Nuñez, H *et al*, Prevalence of overweight and obesity among Costa Rican elementary school children, Pan Am J Public Health, 2003, 13(1).
43. Gen que hace propensas a las personas al desarrollo de Diabetes Mellitus tipo 2 debido a 4 mutaciones, Rev. Colaboradores de Microbiólogos y Químicos Clínicos de Costa Rica, 2004, 10 (2).
44. Sánchez-Reyes, Leticia; Fanghanel, Guillermo; Márquez-Cid, Miguel *et al*, Actualización en los diferentes subtipos de diabetes tipo “MODY”, Revista de Endocrinología y Nutrición 2001, 9(1).
45. Tusié-Luna, María; Marcadores genéticos para el entendimiento de la fisiopatología de las enfermedades; 2007. Disp en línea <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/106/10649063.pdf>. Revisado el 28/05/07.
46. H.H.S. Drexler; A novel germline mutation of the glucokinase gene (p.Ala208Thr). in a family with Diabetes Mellitus. Disponible en: <http://www.csci.cu.com/2007/120307abstract12.doc>. Revisado el 12/03/07
47. Zacarías Jiménez-Salas, Leptina y Obesidad Revista de la Facultad de Salud Pública y Nutrición, Universidad Autónoma Nuevo León, 2000 1(3).
48. Del Congreso Colombiano de Endocrinología, (s.f.), Genes en la obesidad Disponible en: http://www.encolaboradoresombia.com/adipocito_genes_en_vol2n1.htm Revisado el 17/06/07
49. PHG Foundation (2007), Type II Diabetes. Disponible en: <http://www.phgfoundation.org/pages/info/epidemiology/response12.htm>. Revisado el: 11/07/07

50. Cristina Azcona San Julián, (s.f.), Obesidad infantil. Disponible en:
http://www.unav.es/farmacia/graduados/obesidad_infantil1.htm Revisado el 15/8/05
51. Anne-Paule Gimenez-Roqueplo, Judith Favier, Pierre Rustin, *et al* Mutations in the SDHB Gene Are Associated with Extra-adrenal and/or Malignant Pheochromocytomas. Disponible en: <http://cancerres.aacrjournals.org/cgi/reprint/63/17/5615.pdf>. Revisado el: 6/07/07.
52. Fenghua Yi, Patricia L. Brubaker, and Tianru Jin. TCF-4 Mediates Cell Type-specific Regulation of Proglucagon Gene Expression by beta-Catenin and Glycogen Synthase Kinase-3^{beta} J. Biol. Chem., Vol. 280, Issue 2, 1457-1464, January 14, 2005.
53. Miguel Cruz, Jaime García-Mena, Eduardo López-Orduña, Genes candidatos como posibles marcadores de susceptibilidad a diabetes tipo 2 REB 24(3,4): 81-86, 2005
54. Nishigori H, Yamada S, Kohama T, Tomura H, Shō K, Honikawa Y. Frameshift mutation, A263fsinsGG, in hepatocyte nuclear factor-1beta gene associated with diabetes and renal dysfunction. Diabetes 1998; 47: 1354-1355.
55. Iwasaki N, Ogata M, Tomonaga O, Kuroki H, Kasahara T, Yano N et al. Liver and kidney function in Japanese patients with maturity-onset diabetes of the young. Rev. Diabetes Care 1998
56. Doria A, Plengvidya N. Recent advances in the genetics of maturity-onset diabetes of the young and other forms of autosomal dominant diabetes. Curr Opin Endo Diab, 2000; 7(203).
57. González, A; Lavalle, F; Ríos, J; Síndrome Metabólico y Enfermedad Cardiovascular, 2004, México.
58. Marti, J.A. Martínez. La leptina y la regulación del peso corporal. Disponible en: <http://www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol22/n3/revis2a.html> 1/09/2005
59. Genetic factors in Type 2 Diabetes (2004); Diabetes. Disponible en: <http://www.nlm.nih.gov/>
60. Centro de Estudios del Metabolismo Energético y Departamento de Ciencias del Deporte del Instituto Nacional de Deportes de Chile. Señales Intracelulares en el Metabolismo de la Glucosa y Lípidos. Disponible en: www.biosportmed.cl. Revisado el 6/05/07.
61. Barrio R, Bellane ChantellotC; Moreno, JC, *et al*, Nine novel mutations in maturity onset of the young (MODY). Candidate genes in 22 Spanish families, J clin. Endocrinol Metab, 2002, 87(6).

62. Schwanstecher C, Schwanstecher M. Nucleotide sensitivity of pancreatic ATP-sensitive potassium channels and type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002; 51(Suppl 3):S358–S362. (Pubmed).
63. Gloyn A, Hashim Y, Ashcroft SI, Ashfield R, Wiltshire S, et al. Association studies of variants in promoter and coding regions of beta-cell ATP-sensitive K-channel genes *SUR1* and *Kir6.2* with Type 2 Diabetes Mellitus (UKPDS 53).. *Diabet Med*. 2001; 18:206–212. (Pubmed).
64. Fajans, S. S.; Bell, G. I.; Polonsky, K. S, Molecular mechanisms and clinical pathophysiology of maturity-onset diabetes of the young. *New Eng. J. Med*. 2001, 345: 971-980
65. Horikawa Y *et al*. Genetic variation in the gene encoding calpain 10 is associated with type 2 Diabetes Mellitus. *Nat Genet*.2000, 26:163-175.
66. Baier LJ et al. A calpain-10 gene polymorphism is associated with reduced muscle m RNA levels and insuline resistance. *J Clin Invest*.2000; 106 R79-R73 (Pubmed).
67. Huopio H, Otonkoski T, Vauhkonen I *et al*. A new subtype of autosomal dominant diabetes attributable to a mutation in the gene for sulfonylurea receptor 1. *Lancet*. 2003; 361:301–307; (PubMed)
68. Gloyn AL, Weedon MN, Owen KR *et al*. Large-scale association studies of variants in genes encoding the pancreatic beta-cell KATP channel subunits Kir6.2 (KCNJ11) and SUR1 (ABCC8). Confirm that the KCNJ11 E23K variant is associated with type 2 diabetes. *Hum Genet* 2003.52:568–572; (PubMed).
69. Florez JC, Burtt N, de Bakker PI et al. Haplotype structure and genotype-phenotype correlations of the sulfonylurea receptor and the islet ATP-sensitive potassium channel gene region. *Diabetes* 2004.53:1360–1368; (PubMed).
70. Intramed, Revisión sobre diabetes tipo 2 (2006). Disponible en: http://www.intramed.net/actualidad/art_1.asp?idActualidad=37322&nomCat=Articulos. Revisado el: 15/06/07
71. Dr Matt Wilkinson, Genetic test for Type 2 diabetes moves closer; Disponible en: <http://www.drugresearcher.com/news/listnews.asp?m=2&y=2007>. Revisado el 24/05/2007
72. Nielsen EM, Hansen L, Carstensen B, Echwald SM, Drivsholm T, 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; 52:573–577. (PubMed).

73. Hager J, Hansen L, Vaisse C et al. A missense mutation in the glucagon receptor gene is associated with non-insulin-dependent Diabetes Mellitus. Nat Genet 1995;9:299–304; (PubMed).
74. Dukes I, Screenan S, Rowe M et al. Defective Pancreatic B cell Glycolaboradoresytic Signaling in Hepatocyte Nuclear Factor 1 α Deficient Mice, (1998). disponible en: <http://www.jbc.org/cgi/content/abstract/273/38/24457> Revisado el 13/10/06
75. Laukkanen O, Lindström J, Eriksson J et al; Polymorphisms in the *SLC2A2* (GLUT2). Gene Are Associated With the Conversion From Impaired Glucose Tolerance to Type 2 Diabetes, Diabetes. 2005, 54:2256-2260
76. Barroso I, Luan J, Middelberg R, Candidate Gene Association Study in Type 2 Diabetes Indicates a Role for Genes Involved in β -Cell Function as Well as Insulin Action, PLoS Biol 1:E20–E20; 2003).(PubMed).
77. Hernández, Sergio; Fisiopatología de la obesidad Gac Méd Méx; 2004; 140 (2). Disponible en:http://www.anmm.org.mx/descargas/gaceta/suplementos/Gmm_v140_s2/internet/PDF/2004-140-SUP2-27-32.pdf. Revisado el 12/08/04.
78. Programa de actualización médica continua, Mecanismos fisiopatológicos de la Diabetes Mellitus tipo 2. Disponible en: http://www.medilegis.com/bancoconocimiento/T/Tribuna101n6diabetes_p10-18/diabetes2.htm. Revisado el 6/07/07
79. Huxtable SJ, Saker J, Haddad, L et al. Analysis of parent-offspring trios provides evidence for linkage and association between the insulin gene and type 2 diabetes mediated exclusively through paternally transmitted class 2I variable number tandem repeat alleles. Diabetes. 2000, 49:126–130. (PubMed).
80. Shoelson S, Haneda M, Blix P et al. Three mutant insulins in man. Nature.1983, 302:540–543.
81. Hart LM, Stolk RP, Heine RJ et al. Association of the insulin-receptor variant Met-985 with hyperglycemia and non-insulin-dependent Diabetes Mellitus in the Netherlands: a population-based study. Am J Hum Genet; 1996 59:1119–1125. (PubMed).
82. Hart LM, Stolk RP, Dekker JM et al. Prevalence of variants in candidate genes for type 2 Diabetes Mellitus in The Netherlands: the Rotterdam study and the Hoorn study. J Clin Endocrinol Metab; 1999, 84:1002–1006 (PubMed).
83. Gloyn AL, Pearson ER, Antcliff JF et al. Activating mutations in the gene encoding the ATP-sensitive potassium-channel subunit Kir6.2 and permanent neonatal diabetes. N Engl J Med 2004, 350:1838–1849; (PubMed).

84. 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, 51:875–879. (PubMed).
85. Riedel MJ, Boora P, Steckley D et al. Kir6.2 polymorphisms sensitize beta-cell ATP-sensitive potassium channels to activation by Acyl CoAs: a possible cellular mechanism for increased susceptibility to type 2 diabetes? Diabetes, 2003, 52:2630–2635. (PubMed).21: 2144-2148.